

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA



EVALUACIÓN DEL TRATAMIENTO DE LA PARVOVIROSIS
CANINA CON INMUNOSUERO Y FITOTERAPIA

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. RAUL BEJAR QUISANA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

PUNO – PERÚ

2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO - PUNO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TESIS

EVALUACIÓN DEL TRATAMIENTO DE LA PARVOVIROSIS CANINA CON
INMUNOSUERO Y FITOTERAPIA

PRESENTADA POR:

Bach. RAUL BEJAR QUISANA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA



APROBADA POR:

PRESIDENTE:

Dr. DOMINGO ALBERTO RUELAS CALLOAPAZA

PRIMER MIEMBRO:

MVZ. FELICIANA VILCA DE DIAZ

SEGUNDO MIEMBRO:

MVZ. HARNOLD SEGUNDO PORTOCARRERO PRADO

DIRECTOR / ASESOR:

Dr. ALBERTO CCAMA SULLCA

Área: Salud animal

Tema: Evaluación del tratamiento de la parvovirus canina

Fecha de sustentación: 28 /12/2017

DEDICATORIA

A Dios.

Por haberme permitido llegar hasta este punto con buena salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad.

A mis familiares.

A mis queridos Padres, Odeón Bejar Aguilar y Alejandrina Quisana Nina, por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me han permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su paciencia.

A mi hermano César Augusto por ser el ejemplo de un hermano mayor y del cual aprendí muchos aciertos.

A mis amigos.

Que nos apoyamos mutuamente en nuestra formación profesional: Elard Elvis Esteba, Rolando Condori y Juan Cesar Quispe y a todos aquellos que participaron directa o indirectamente en la elaboración de esta tesis.

Raul Bejar Quisana.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional del Altiplano de Puno, mi alma mater.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, en la que me forme como profesional.

A los docentes de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por transmitirme sus conocimientos y experiencias.

Al laboratorio de Microbiología Veterinaria II, a cargo del Dr. Alberto Ccama Sullca, mi director de Tesis, quien me brindó facilidades y tuvo la confianza y paciencia para poder realizar mi proyecto de investigación.

A mis jurados Dr. Domingo Alberto Ruelas Calloapaza, MVZ. Feliciano Vilca De Diaz, MVZ. Harnold Segundo Portocarrero Prado; Gracias por el tiempo prestado para la revisión del presente trabajo de investigación.

A mis verdaderos amigos: Elard Elvis Esteba, quien me apoyó incondicionalmente durante la ejecución de mi proyecto; Rolando Condori y Juan Cesar Quispe, por ser siempre mis amigos.

GRACIAS A USTEDES

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	7
ÍNDICE DE TABLAS	8
INDICE DE ACRÓNIMOS	9
RESUMEN	10
ABSTRACT	11
I. INTRODUCCIÓN	12
1.1 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.....	13
1.1.1 Objetivo General.....	13
1.1.2 Objetivos específicos	13
II. REVISIÓN DE LITERATURA	14
2.1. PARVOVIRUS CANINO	14
2.1.1. Etiología.....	14
2.1.2. Patogenia y Patología.....	15
2.1.3. Presentación Clínica.	18
2.1.4. Diagnóstico.....	19
2.1.4.1. <i>Inmunocromatografía (Anigen Rapid CPV Ag Test Kit)</i>	20
2.1.5. Tratamiento convencional.	21
2.2. SISTEMA INMUNE.....	23
2.2.1. Tipos de inmunidad.....	23
2.2.1.1 <i>Inmunidad innata o natural</i>	24
2.2.1.2 <i>Inmunidad adaptativa, específica o adquirida</i>	24
2.2.1.3 <i>Inmunidad activa</i>	25
2.2.1.4 <i>Inmunidad pasiva</i>	27
2.3. TRATAMIENTO ALTERNATIVO	27
2.3.1. Suero policlonal.	27
2.3.2. Fitoterapia.....	29
III. MATERIALES Y METODOS	34
3.1 ÁMBITO DE ESTUDIO	34
3.2 DISTRIBUCIÓN DE LOS ANIMALES EN EL ESTUDIO.....	34
3.3 MATERIALES.	34
3.3.1 Material de identificación.....	34
3.4 MÉTODOS.	36
3.4.1 Exploración física y registro de ficha clínica.....	36
3.4.2 Inmunización de cachorros para obtención de Inmunosuero.....	36
3.4.3 Obtención del Inmunosuero.....	37

3.4.4	Obtención de Fitoterapia.	37
3.4.5	Obtención de cachorros positivos a CPV.....	37
3.4.6	Tratamiento con Inmunosuero y Fitoterapia, de cachorros positivos a CPV. 38	
3.4.7	Seguimiento de los cachorros positivos a CPV durante el tratamiento. 39	
3.4.8	Análisis estadístico.....	39
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
4.1.	Resultados.....	41
4.2	Análisis estadístico de Efectividad del tratamientos (ji – cuadrado).....	42
4.3	Discusión.	42
V.	CONCLUSIONES	47
VI.	RECOMENDACIONES	48
VII.	REFERENCIAS	49
ANEXOS	54

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1: Tipos de Inmunidad.....	23
FIGURA 2: A 1 Procedimiento (Anigen Rapid CPV Ag Test Kit)	55
FIGURA 3: B 1 Test negativo (Anigen Rapid CPV Ag Test Kit)	56
FIGURA 4: B 2 Test positivo (Anigen Rapid CPV Ag Test Kit).....	56
FIGURA 5: B 3 Test inválidos (Anigen Rapid CPV Ag Test Kit).....	57
FIGURA 6: C 1 Ficha clínica.....	57

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1: Terapia para Parvovirus canina.....	22
TABLA 2: Grupos de tratamiento con sus respectivas repeticiones	34
TABLA 3: Días y distribución de Tratamiento de cachorros positivos a CPV ..	38
TABLA 4: Cuadro resumen de resultados obtenidos.....	41
TABLA 5: Análisis estadístico de efectividades de tratamiento (χ^2 – cuadrado)	58

INDICE DE ACRÓNIMOS

DIRESA: Dirección regional de salud	°C: grados centígrados
SENAMHI: Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología	IS: Inmunosuero
OMS: Organización Mundial de la Salud	FT: Fitoterapia
UNA: Universidad Nacional del Altiplano	T: Tratamiento
CPV: Parvovirus Canino	C: control
PCR : Reacción En Cadena De La Polimerasa	pH: Potencial de Hidrógeno
ELISA: Ensayo de Inmuno absorbancia ligada a Enzimas	mg: Miligramos
SCID: Síndrome de Coagulación Intravascular Diseminada	Kg: kilogramos
SIRS: Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica	h: horas
DNA: Acido desoxirribonucleico	msnm: Metros sobre el nivel del mar
LT: Linfocito T	T1: Tratamiento uno
LB: Linfocito B	T2: Tratamiento dos
TH: Celula Helpper (Cooperadora)	T3: Tratamiento tres
TC: Celula T citotóxica	T4: Tratamiento cuatro
IV: Intravenosa	Ac: Anticuerpo
IM: Intramuscular	Ag: Antígeno
SC: Sub cutáneo	Ig: Inmunoglobulina
VO: Via oral	IgG: Inmunoglobulina G
	IgA: Inmunoglobulina A
	IgM: Inmunoglobulina M
	IgE: Inmunoglobulina E
	FC : Frecuencia Cardíaca
	FR : Ferecuencia Respiratoria
	%: Porcentaje
	p: Probabilidad de error
	p.ej.: por ejemplo

RESUMEN

El presente estudio se realizó en la ciudad de Juliaca y en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNA, de la Región Puno, entre los meses de Julio y noviembre del 2017. Se planteó evaluar la efectividad del tratamiento alternativo de esta enfermedad, en cachorros infectados con CPV, usando Inmunosuero (Suero policlonal homólogo, obtenido de cachorros inmunizados por vacunación) y Fitoterapia (Destilado de la planta Comfrey). Se instauró una terapia convencional (hidratación, antibiótico y antiemético), de manera homogénea a todos los cachorros con CPV. Se emplearon 28 cachorros hembra, de entre 2.5 y 3.5 meses de edad, distribuidos en 4 grupos de tratamiento: T1 (Inmunosuero) con 8 repeticiones; T2 (Fitoterapia) con 8 repeticiones; T3 (Inmunosuero + Fitoterapia) con 8 repeticiones y T4 (Testigo) con 4 repeticiones; una vez presentados los primeros signos y/o síntomas se confirmó la infección mediante el kit de diagnóstico (Anigen Rapid CPV Ag Test Kit – Bionote). Los resultados obtenidos fueron: T1, 50% de efectividad, con 4 cachorros recuperados de 8 en un promedio de 5.25 ± 0.5 días; T2, 37.5% de efectividad, con 3 cachorros recuperados de 8 en un promedio de 6.67 ± 0.58 días; T3, 75% de efectividad con 6 cachorros recuperados de 8 en un promedio de 4.33 ± 0.52 días y para T4, no hubo recuperados. Para analizar los datos se empleó el estadístico de ji-cuadrado. Se concluye que el T3 fue superior al resto de tratamientos con un alto valor de significancia. ($p \leq 0.01$).

Palabras Clave: Parvovirus canino, Inmunosuero, Fitoterapia.

ABSTRACT

Due to the fact that in our environment there are no studies on the use of alternative therapy for canine Parvovirus, the present study was conducted in the city of Juliaca and in the Microbiology Laboratory of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechnics of UNA, both of the Puno Region, between the months of July and November 2017. It was proposed to evaluate the effectiveness of the alternative treatment of this disease, in puppies infected with CPV, using Immunoserum (homologous polyclonal serum, obtained from puppies immunized by vaccination), and Phytotherapy (Distilled from the Comfrey plant). A conventional therapy (hydration, antibiotic and antiemetic) was established, in a homogeneous way for the 4 groups. Twenty-eight female puppies, between 2.5 and 3.5 months of age, were employed, distributed in 4 treatment groups: T1 (Immunoserous) with 8 repetitions; T2 (Phytotherapy) with 8 repetitions; T3 (Immunoserum + Phytotherapy) with 8 repetitions and T4 (Control) with 4 repetitions; Once the first signs and / or symptoms were presented, the infection was confirmed by the diagnostic kit (Anigen Rapid CPV Ag Test Kit - Bionote). The results obtained were: T1, 50% effectiveness, with 4 puppies recovered from 8 in an average of 5.25 ± 0.5 days; T2, 37.5% effectiveness, with 3 puppies recovered from 8 in an average of 6.67 ± 0.58 days; T3, 75% of effectiveness with 6 puppies recovered of 8 in an average of 4.33 ± 0.52 days and for T4, there were no recovered. To analyze the data, the chi-square statistic was used. It is concluded that T3 was superior to the rest of treatments with a high value of significance. ($p \leq 0.01$).

Key Words: Canine parvovirus, Immunoser, Phytotherapy.

I. INTRODUCCIÓN

En el Distrito de Juliaca, de la provincia de San Román, de la Región Puno, según (Fernández, 2017), responsable del área de zoonosis de la Dirección Regional de Salud (DIRESA) de Puno, la población canina aproximadamente es de 40 mil canes. Hoy en día el tener un canino en el hogar, lo convierte en un miembro más de la familia, que necesita cuidados afectivos y médicos, ya que éstos son susceptibles a múltiples agentes que afectan su estado de salud.

Entre las enfermedades más comunes que les afectan, se tienen las enfermedades gastrointestinales, causados por agentes virales, bacterianos y parasitarios (Sosa, 2009). La Parvovirus canina, que es una enfermedad viral que afecta a perros de cualquier raza, edad o sexo, y es altamente contagiosa, cuya prevalencia, según Mamani (2014) en estudios realizados en la ciudad de Juliaca, fue de 56.25 %, la mayoría de los casos ocurre en cachorros de 6 y 20 semanas de vida (Hurtado & Báez, 2012).

El Parvovirus canino, es uno de los principales agentes virales que afectan a los caninos sin importar la edad, siendo los cachorros los más propensos a sufrirla. Actualmente la situación epidemiológica mundial de la enfermedad es de tipo enzoótico, a pesar de que existe vacunación, y es preocupante, porque su difusión va en aumento en la población canina (Hernandez, 2012)

El tratamiento es sintomático, por lo que éste gira entorno a corregir un volumen circulatorio eficaz, controlar las infecciones bacterianas secundarias y proporcionar descanso al sistema digestivo (Castro et al, 2011). Este tratamiento se efectúa en la mayoría de clínicas de animales menores, en la ciudad de Juliaca, así como en otros lugares. Aparte de ello, existe una terapia alternativa, mediante el uso de Suero Policlonal anti parvovirus canino, pero éste es difícil

de obtener. Por otro lado la (Organización Mundial de la Salud OMS, 2001) menciona que existen pruebas empíricas y científicas que avalan los beneficios de diversas plantas medicinales en diversas afecciones crónicas o leves. La terapia con plantas medicinales, es la forma más popular de medicina tradicional en el hombre y en animales de las zonas aisladas de los centros urbanos. En las dos últimas décadas, en particular, ha resurgido un renovado interés, sobre todo en lo concerniente al aprovechamiento de las propiedades terapéuticas, las cuales han aportado un gran valor en la etnomedicina porque han permitido evitar y controlar la proliferación de muchas enfermedades en humanos, especialmente en aquellas comunidades ubicadas en regiones aisladas de los centros urbanos (Mejía, Montoya & Echeverry, 2012).

1.1 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.1.1 Objetivo General.

Evaluar la efectividad del tratamiento de la Parvovirus canina empleando Inmunosuero y Fitoterapia

1.1.2 Objetivos Específicos.

Determinar la efectividad del tratamiento de Parvovirus Canina empleando Inmunosuero.

Determinar la efectividad del tratamiento de Parvovirus Canina empleando Fitoterapia.

Determinar la efectividad del tratamiento de Parvovirus Canina empleando la combinación de Inmunosuero con Fitoterapia; en cachorros de la ciudad de Juliaca.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. PARVOVIRUS CANINO

Es una enfermedad viral que según Sharp (citado en Añasco, 2017), afecta a perros domésticos y callejeros, tanto de razas como mestizos, el parvovirus puede atacar a todas las razas sin distinguirlas, sin embargo las razas más susceptibles son el Doberman y Rottweiler.

En un estudio retrospectivo en México, mediante la prueba de ELISA se encontró que un 92.9% de los perros afectados fueron menores de 6 meses y mayores de 6 semanas de edad, correlacionándose con lo descrito anteriormente, sólo un caso se presentó en un perro de 9 meses que representa un (7.1%), en el cual no se conoció la historia clínica o la falta de vacunación, por lo que se desconoce si hay factores predisponentes. También se determinó que el mayor porcentaje de perros afectados fueron hembras con un 57% y en menor proporción los machos con un 43%, no encontrando predisposición por hembras o machos en la literatura (Juarez, 2011).

2.1.1. Etiología.

Murphy (Citado en Hurtado & Báez, 2012), la parvo virosis canina, es una enfermedad viral provocada por el parvovirus canino (CPV), es un virus pequeño, de 20 nanómetros de diámetro, sin envoltura, con cápside icosaédrica, posee un DNA mono catenario, pertenece al Grupo: II (Virus DNA mono catenario) Familia: Parvoviridae Subfamilia: Parvovirinae, Género: Parvovirus, este virus requiere células en división rápida o en mitosis activa para su replicación.

El virus reside en prendas de vestir, suelo, utensilios contaminados, por periodos de 5 meses o más tiempo; es resistente a detergentes, desinfectantes, pH de 3 a 9. Los parvovirus son estables en el ambiente, soportan una temperatura de 56° grados centígrados, durante más de 60 minutos. Son inactivados por la formalina, la Beta propiolactona, el hipoclorito sódico y los agentes oxidantes (DiBartola, 2007).

2.1.2. Patogenia y Patología.

Después de la exposición oro nasal, el virus se replica en los tejidos linfoides de la oro faringe y alcanza el torrente sanguíneo. Del primero al quinto día hay marcada viremia plasmática, donde el virus se disemina a los tejidos de rápida división celular (Morais & Costa, 2007).

Tras penetrar la célula, el virón pierde sus cubiertas y su genoma compuesto por DNA mono catenario, se convierte en DNA bi catenario; gracias a las DNA polimerasas del núcleo, después de replicarse los nuevos virones son liberados por ruptura de la célula, la patogenia del parvovirus canino viene determinada por la necesidad de células en división para llevar a cabo la replicación viral, tras la infección de cachorros (1 a 6 meses de vida), el virus puede ser pan trópico, infectando una amplia gama de células de diferentes tejidos y órganos (Greene, 2008).

El virus se replica inicialmente en el tejido linfoide de la faringe y las placas de peyer, luego se produce una viremia en los principales tejidos donde las células se replican fácilmente. Después de un periodo de incubación que dura 4 a 6 días, en la fase aguda de la enfermedad se comienza con depresión, vómitos y diarreas, el sitio primario de

replicación viral es el tejido linfoide oro faríngeo en el primer día post infección, nódulos linfáticos mesentéricos de 1-2 días post infección y timo de 3-4 días post infección (Ettinger & Feldman, 2007).

Sin embargo, el período de incubación es dependiente de otros factores como el grado de viremia y el índice de mitosis de la cripta intestinal (Mccandlish, 2001).

Posteriormente, el virus se disemina e infecta el epitelio germinal de las criptas del intestino delgado causando destrucción del epitelio, así como de leucocitos y algunas otras células linfoides (en infecciones severas aparece neutropenia y linfopenia), es común observar vellosidades acortadas, fusión de las mismas, necrosis de las criptas y células de regeneración o proclásticas en las criptas, acompañadas de infiltrado inflamatorio compuesto por linfocitos y células plasmáticas, en la forma entérica, la manifestación de signos clínicos puede ocurrir a partir del cuarto día post infección, como refieren Jubb, Palmer, & Maxie (Citados en Añasco, 2017).

La excreción activa del PVC- 2 comienza el tercer o cuarto día después de la exposición, en general antes de que se manifiesten signos clínicos, el virus se libera ampliamente en la materia fecal por un máximo de 7 a 10 días (Hurtado & Báez, 2012).

En la forma miocárdica de la enfermedad, que en la actualidad es rara, los cachorros afectados suelen presentar síntomas de fallo cardiaco agudo antes de las 6 semanas de edad, algunos cachorros pueden sufrir un fallo cardiaco congestivo meses después de la miocárdica (Hoskins, 2009).

Secundariamente, pueden producirse infecciones bacterianas por organismos del tipo Gram negativo y micro flora anaeróbica, con la consiguiente translocación bacteriana, bacteriemia, endotoxemia y un posible Síndrome de Coagulación Intravascular Diseminada (SCID), además de un Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SIRS), que se asocian con altas tasas de mortalidad (McCaw & Hoskins, 2006) (Crawford & Sellon, 2010).

Como lesiones macroscópicas se observan, el íleo y yeyuno flácidos, congestionados y con hemorragias sub serosas, el lumen del intestino suele estar vacío o contener exudado; los nódulos linfáticos mesentéricos y sub mandibulares están aumentados de tamaño, con petequias y edematosas (Paredes, 2006).

A nivel histológico, las vellosidades y la lámina propia se ven afectadas como consecuencia de la descamación del epitelio y la incapacidad de reemplazar las células epiteliales. Las deficiencias de absorción del epitelio intestinal debido a la descamación, propicia cambios de permeabilidad y favorece a la aparición de la diarrea, la deshidratación que ocurre a consecuencia de las alteraciones causadas por el CPV, ocasiona un desbalance electrolítico, el cual repercute desfavorablemente en la relación de los iones de sodio y potasio causando shock cardiovascular en el animal (Betancur & Correa, 2012). En los cachorros, el virus invade las células epiteliales en división activa de las criptas del intestino delgado (Mitosis celular), la pérdida de células en este tejido conduce a un acortamiento de las vellosidades y la reducción de la capacidad de absorción y digestión; que da paso a la

diarrea, lo cual produce una intensa hemorragia en la luz intestinal en los cachorros gravemente afectados (Flores, 1987).

Probablemente los factores más importantes que determinan la susceptibilidad al virus son: el grado de división celular en un determinado órgano o tejido y la presencia de receptores víricos adecuados sobre las células, por esto en animales recién nacidos, el miocardio resulta altamente susceptible, la continua división de células linfoides y del epitelio intestinal en cualquier edad, hace que ambos sean afectados; por lo que la inmunosupresión y la enteritis son de presentación frecuente (Minakshi & Prasad, 2008).

Por esto, el epitelio intestinal con una alta tasa de división celular en cualquier edad hace que sea afectado por el PVC-2, que tiene predilección por células jóvenes y en ellas puede replicarse más eficientemente y causar daños severos. Además, los animales parasitados poseen un peor estado físico, con lo cual son más susceptibles a enfermedades infecciosas como la PVC (Eizeibe & Nwaogu, 2007).

2.1.3. Presentación Clínica.

Los signos clínicos pueden ir desde una infección asintomática hasta enfermedad fulminante y muerte súbita. Generalmente los signos más severos se observan en perros menores de doce semanas o en aquellos con baja protección inmune (Crawford & Sellon, 2010). Estos, inician con letargia, anorexia con o sin pirexia; lo cual progresa en 1 a 2 días con vómitos (productivos e improductivos) y diarreas que a menudo son hemorrágicas y con moco, dolor abdominal y deshidratación (Pintos et

al, 2011). Las deposiciones pueden partir de color amarillo pálido a gris, posteriormente se oscurecen o manchan con sangre, para luego tornarse hemorrágicas. La muerte puede ocurrir por sepsis asociada a bacterias Gram negativo y/o SCID (McCaw & Hoskins, 2006).

Además de lo anterior, la enfermedad progresa, asociada a una pérdida de proteínas plasmáticas por intestino, a una deshidratación severa asociada al vómito y diarrea persistente, lo que mantenido en el tiempo produce entre otros signos: taquicardia, hipotensión, finalmente signos de shock e hipo perfusión. La enteritis y las alteraciones en la motilidad intestinal pueden llevar a una de las consecuencias secundarias más comunes de esta enfermedad, como es la intususcepción (Crawford & Sellon, 2010).

Otra presentación de la enfermedad es la miocárdica, producto de la replicación viral en éste tejido, que presenta un alto índice mitótico. El cuadro se desarrolla ante una exposición viral “in útero” o en cachorros contagiados antes de las 8 semanas. Generalmente toda la camada se ve afectada y los cachorros mueren súbitamente o después de un corto episodio de disnea (McCaw & Hoskins, 2006) (Crawford & Sellon, 2010).

2.1.4. Diagnóstico.

La sola presentación del cuadro asociado a los factores epidemiológicos entregan un diagnóstico presuntivo de la enfermedad (Goddard & Leisewitz, 2010). Depende de las pruebas de laboratorio que se realizan para confirmar dicho diagnóstico, dentro de los exámenes de laboratorio utilizados se encuentran: Microscopia electrónica directa, Prueba de ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay), Prueba de reacción de la

polimerasa (PCR), Inmunocromatografía, etc. (Latimer, Mahaffey, & Prasse, 2005).

2.1.4.1. Inmunocromatografía (Anigen Rapid CPV Ag Test Kit).

Anigen Rapid CPV Ag Test Kit es un inmunoensayo cromatográfico para la detección cualitativa del antígeno del CPV en las heces caninas, presenta las letras “T” y “C” como línea del test y línea de control, respectivamente, en la superficie del dispositivo, la línea del test y la línea de control no aparecen en la ventana de resultados antes de aplicar las muestras, la línea de control se usa para procedimiento de control y debe aparecer en todo momento si el procedimiento del test se está realizando correctamente y los reactivos de control del test están funcionando bien. En la ventana de resultados aparece una línea del test de color púrpura si existe suficiente antígeno de Parvovirus en la muestra; en la banda del test se utilizan anticuerpos de Parvovirus Canino especialmente seleccionados como materiales de captura y como materiales de detección, ello permite al Kit del Test Rápido Anigen para CPV Ag identificar con un alto grado de exactitud el antígeno de CPV en heces caninas, tiene Sensibilidad del 99% y Especificidad del 100% (Bionote, Inc, 2009).

Dos anticuerpos monoclonales del kit se adhieren específicamente a distintos epítopes de los antígenos. Después de absorberse en la esponja de celulosa, los antígenos del parvovirus canino se desplazan y se unen al complejo de oro-coloide del anticuerpo del virus del parvovirus canino monoclonal de la esponja compuesta,

formando un complejo Antígeno- Anticuerpo (Ag-Ac). Este complejo se distribuye en tres capas Ac-Ag-Ac con el anticuerpo de otro parvovirus anti-canino monoclonal en la membrana de nitrocelulosa, haciendo contacto directo. Los resultados de la prueba aparecen en líneas de control y prueba, que usan principios de inmunocromatografía (Meterlab, 2013).

Se debe tener presente que cualquier prueba que detecta virus en las heces está limitada por el tiempo en que el virus es eliminado. Parvovirus canino es detectado aproximadamente sólo hasta los 10 a 12 días post infección, ó 5 a 7 días desde la aparición de los signos clínicos de la enfermedad. Además, pueden detectarse casos de falsos positivos inducidos por vacunas a virus vivo atenuado. No obstante, constituye una prueba simple que puede realizarse en las clínicas veterinarias (McCaw y Hoskins, 2006).

El PCR, por su parte es una prueba altamente sensible ya que requiere unas pocas moléculas de la secuencia de DNA, para una amplificación, se utiliza muestra de materia fecal o suero. No obstante, el alto costo del equipo y reactivos necesarios hacen que muchos laboratorios no disponga de dicha técnica. (Anza et al. 2005).

2.1.5. Tratamiento convencional.

El tratamiento de la infección por CPV puede ser bastante costoso. Por lo tanto, uno de los protocolos de tratamiento es la administración de antisuero homólogo de perros inmunes (Meunier et al., 1985).

Este gira entorno a corregir un volumen circulatorio eficaz, controlar las infecciones bacterianas secundarias y proporcionar descanso al sistema digestivo (Castro et al, 2011). Si el animal sobrevive los primeros 3 o 4 días de la enfermedad, la recuperación por lo general ocurre rápidamente. Sin embargo cuando más joven sea el animal, mayor el porcentaje de mortalidad (Juarez, 2011).

Para la severa deshidratación se recomienda el uso de líquido balanceado intravenoso, como por ejemplo, una solución de lactato de Ringer o una solución de cloruro de sodio al 0,9 % con dextrosa y potasio agregados (Hoskins, 2009).

Los agentes antieméticos son útiles para reducir la pérdida de líquidos, disminuir el estrés del paciente y permitir la nutrición entérica. Algunos autores recomiendan suprimir el alimento y agua en el transcurso del tratamiento del paciente, otros autores discuten que no es necesario, ya que pacientes con CPV han sido alimentados vía entérica, desarrollando un menor tiempo de recuperación e incremento del peso corporal (Craig, 2008).

Tabla 1

Terapia para Parvovirus canina

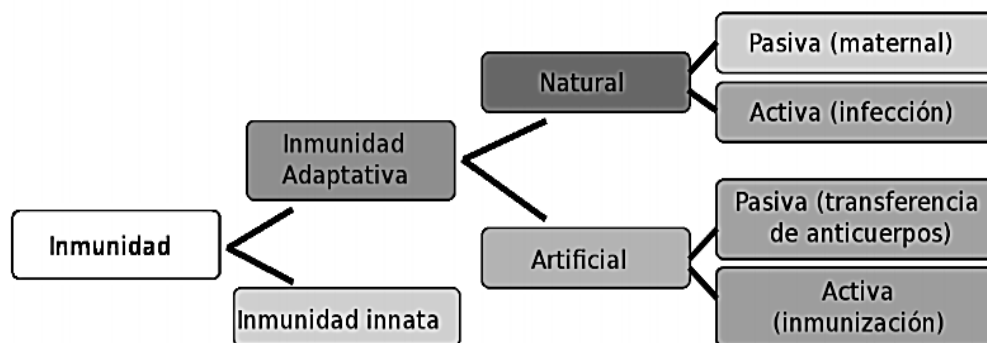
FARMACOTERAPIA	DOSIS (mg/kg)	VIA DE ADMINISTRACION	INTERVARLO (h)
Metoclopramida	1.0	IV	24
Ondasetron	0.1 – 0.15	IV	6-12
Clorpromacina	0.05	IV	8
Ampicilina + sulbactam	10- 20	IV, IM, SC	6-8
Ceftiofur	2.2 – 4.4	SC	12
Gentamicina	2	IM, SC	8
Ranitidina	1-4	SC, IV	6-8

Fuente: (Ettinger & Feldman, 2007)

2.2. SISTEMA INMUNE

El sistema inmune puede considerarse como un sistema homeostático fisiológico, que dentro de ciertos límites contribuye a la integridad del organismo con neutralización del peligro y preservación de lo propio. La respuesta inmune adecuadamente regulada protege al huésped de patógenos y otros agresores ambientales. Frecuentemente es imposible erradicar a un organismo patógeno sin destruir células infectadas. El mecanismo de apoptosis minimiza el daño a células cercanas, sin embargo la inflamación local es parte importante de una respuesta efectiva. Habitualmente el daño es controlado y tolerado; sin embargo, si la inflamación es intensa o crónica y la respuesta inmune mal regulada, se produce daño tisular y disfunción orgánica. Lo anterior, puede originar enfermedades autoinmunes o por hipersensibilidad como la alergia (Alberts et al. 2002).

2.2.1. Tipos de inmunidad.



La inmunidad adaptativa se caracteriza por las células involucradas; la inmunidad humoral es el aspecto de la inmunidad que es mediado por anticuerpos secretados, mientras que la protección proporcionada por inmunidad celular involucra sólo linfocitos T. La inmunidad humoral es activa cuando el organismo genera sus propios anticuerpos, y pasiva cuando los anticuerpos son transferidos entre individuos. Asimismo, la inmunidad celular es activa cuando las células T propias del organismo son estimuladas y pasiva cuando las células T vienen de otro organismo.

FIGURA 1: Tipos de Inmunidad

Fuente: <http://www.uaz.edu.mx/histo/Biologia/Wiki/Inmunidad.pdf>

2.2.1.1 Inmunidad innata o natural.

Es la resistencia que existe en un individuo al nacimiento y es de carácter genético. Se pone de manifiesto desde la primera vez que se enfrenta a cualquier patógeno; por ello no requiere de sensibilización y es inespecífica, no se modifica con exposiciones repetidas al mismo agresor. Reconoce a los patógenos principalmente por los grupos o patrones moleculares que comparten, p.ej. lipopolisacáridos, ácido teicoico, etc. En la inmunidad natural participan barreras de naturaleza anatómica, como la piel, mucosas y células o de naturaleza fisiológica o bioquímica como reflejos, temperatura pH, proteínas, enzimas, complemento, etcétera (Tizard, 2009).

2.2.1.2 Inmunidad adaptativa, específica o adquirida.

Está mediada por la inmunidad celular, donde la célula responsable es el linfocito T (LT), el cual al ser estimulado responde con la producción de citocinas, que se denomina de ayuda o cooperador (TH), mientras que si responde con la secreción de citotoxinas y la inducción de apoptosis, se denomina: citotóxico. Por otro lado; también esta mediada por la inmunidad humoral, donde el responsable es el linfocito B, que al ser estimulado, se transforma en célula plasmática que es la célula efectora que produce anticuerpos o inmunoglobulinas (Ig) (Hedrick, 2004).

a) La respuesta primaria se da en la primera exposición a un agente extraño (sensibilización), ésta es débil o ausente y declina con rapidez. Esta respuesta no es inmediata y requiere expansión

clonal, lo que dará origen a dos tipos de células: células efectoras y células de memoria. El responsable de esta respuesta es el linfocito virgen T o B, que al ser estimulado específicamente por primera vez, forma a partir de una clona más o menos mil células. Estas células se multiplican de dos a cuatro veces cada 24 horas durante 3 a 5 días. Al desaparecer el antígeno, las células efectoras mueren por apoptosis y sobreviven únicamente las células de memoria. En la respuesta primaria las células efectoras (plasmáticas) derivadas del linfocito B estimulado, secretan anticuerpos o inmunoglobulinas inicial, y principalmente, de la clase M (IgM). Más tarde, se puede iniciar la producción de pequeñas cantidades de alguna otra de sus clases. Las células efectoras derivadas del linfocito T estimulado secretan citocinas (TH) o citotoxinas (TC).

- b) La respuesta secundaria, que es la segunda exposición al mismo agente, genera una respuesta intensa, más rápida, específica y duradera, lo que pone de manifiesto la existencia de una memoria inmunológica. En esta repuesta el anticuerpo que se produce principalmente es G (IgG), pero también pueden aparecer IgA o IgE. Las exposiciones subsecuentes sólo producen un pequeño incremento en la respuesta, la cual llega a un límite (Vega & Gloria, 2008).

2.2.1.3 Inmunidad activa.

El sistema inmune trabaja activamente para montar y consolidar una respuesta contra un agresor. Esta inmunidad se establece

cuando el sistema inmune toma contacto con el antígeno, lo cual puede darse de manera natural, a través de una infección, o artificial, por medio de la administración de vacunas (Villegas, 1999).

Las vacunas de virus inactivado proveen inmunidad suficiente frente al serotipo CPV-2. Los perros inmunizados con este tipo de biológico, pueden cursar con una infección subclínica dos semanas después de su aplicación. Estas vacunas han sido reemplazadas por vacunas atenuadas que producen títulos de anticuerpos más elevados (Tizard, 1998).

Las vacunas de virus atenuado frente a la ausencia de anticuerpos maternos, comienzan a generar una respuesta inmune tres días después de su aplicación. Asimismo, propician una linfopenia transitoria entre cuatro y seis días posteriores a la vacunación. No obstante, son vacunas seguras ya que no se ha probado que el virus presente en ellas, se vuelva activo, por otra parte, un cachorro que se recupera de la enteritis por PVC-2 es inmune a la re-infección por al menos 20 meses y, posiblemente de por vida. Al exponerse nuevamente el animal sobreviviente al CPV-2, no mostrará incremento en los títulos serológicos ni manifestará signología clínica alguna relacionada con el proceso infeccioso (Tizard, 1998).

En general, al establecer un protocolo de inmunización experimental se debe tomar en consideración un conjunto de factores que afectan el tipo y la magnitud de la respuesta humoral

del animal inmunizado. Estos factores son los siguientes: la especie del animal utilizado, la constitución genética del animal, el tipo, la dosis y la ruta de administración del inmunógeno, el número de inmunizaciones (refuerzos) y el uso de adyuvantes (Abbas, 2012)

2.2.1.4 Inmunidad pasiva

Es la transferencia a un individuo de la inmunidad que se desarrolló en otro. Se transfiere de manera natural, cuando los anticuerpos pasan de la madre a la cría a través de la placenta y el calostro, o anticuerpos, células y otros factores por la leche materna. Se transfiere de manera artificial mediante el paso de células a través de una transfusión sanguínea o de anticuerpos preformados contenidos en los llamados “antisueros” o “antitoxinas”. Debido a que el individuo no formó esos anticuerpos a través de su propio sistema inmune, únicamente lo protegerán durante el tiempo en que, de acuerdo a su vida media, estas proteínas desaparezcan al ser metabolizadas (Collado et al. 2008).

2.3. TRATAMIENTO ALTERNATIVO

2.3.1. Suero policlonal.

La producción de anticuerpos es la culminación de una serie de interacciones entre los macrófagos, linfocitos T y linfocitos B, los cuales reaccionan frente a la presencia de un antígeno extraño. El producto final de esta respuesta es la producción de gran cantidad de anticuerpos que se unen específicamente al antígeno, retirándolo inmediatamente de la circulación del animal. Un antisuero policlonal (Anticuerpo policlonal) es el suero producido de manera convencional por un animal inmunizado –

usualmente conejo, oveja o cabra. Se denominaron así porque contienen una mezcla compleja de anticuerpos dirigidos frente a una gama de determinantes antigénicos localizados sobre un determinado antígeno. La mayor ventaja del suero policlonal radica en su capacidad de formar gran cantidad de inmunocomplejos insolubles con el antígeno. Este tipo de antisueros es excelente cuando se estudia el antígeno como un todo, así como proporcionan una amplia barrera de protección del organismo al formarse una gran variedad de anticuerpos. Sin embargo, como el antisuero contiene especificidades no deseadas, resulta pobre cuando se estudian determinantes antigénicos específicos. Por todo esto, el antisuero animal tiene ciertas limitaciones para su aplicación en inmunoensayos. La principal limitación radica en su escasa especificidad (incluso cuando reaccionan con antígenos pequeños) y su variabilidad entre animales y lotes (Suter, 1992).

Los sueros hiperinmune contienen anticuerpos que son productos naturales con toxicidad mínima, siempre que no tengan reactividad con el tejido del huésped (Tizard y Ni 1998).

Otros tratamientos alternativos son las Trasfusiones de plasma sanguíneo canino, que pueden incluir anticuerpos contra parvovirus canino, que ayudan a expandir el volumen sanguíneo en el paciente, este plasma es obtenido en perros donantes o bancos de sangre (Schaer, 2006).

Dichos tratamientos lo han iniciado con la purificación de la Ig G de perros recién recuperados de la infección por parvovirus. En ensayos clínicos, y tras la administración de esta IgG junto con el tratamiento

tradicional (paliativo) se comprobó que los pacientes se recuperaban con mayor rapidez que aquellos que recibieron únicamente el tratamiento convencional. Ninguno de los individuos tratados con IgG necesitó alimentación parenteral ni transfusión sanguínea. Este tratamiento redujo la mortalidad de un 16 a un 10%, el tiempo necesitado para que el perro recuperara el apetito y su estado normal. Todo esto llevó a la reducción de los gastos debidos a hospitalización, tratamiento, cuidados, etc. (Jimenez, 2001).

El uso de Sueros Hiperinmunes es una idea que puede cambiar la historia de la medicina veterinaria. ACTINMUN es suero sanguíneo con niveles adecuados de anticuerpos IgG contra Parvovirus que neutralizan a estos virus promoviendo su fagocitosis de manera que el animal puede recuperarse más rápido que cuando solo se administra tratamiento sintomático. La aplicación del Suero Hiperinmune policlonal junto con el tratamiento sintomático implementado por el Médico Veterinario se convierte en una forma diferente y especial de hacer clínica veterinaria porque es específico, compatible y complementario al tratamiento sintomático que el Médico veterinario aplica a los enfermos (Lopez, 2014).

2.3.2. Fitoterapia.

En las dos últimas décadas, en particular, ha resurgido un renovado interés, sobre todo en lo concerniente al aprovechamiento de sus propiedades terapéuticas, las cuales han aportado un gran valor en la etnomedicina porque han permitido evitar y controlar la proliferación de muchas enfermedades en humanos, especialmente en aquellas

comunidades ubicadas en regiones aisladas de los centros urbanos (Mejía, Montoya & Echeverry, 2012).

Según la OMS, los medicamentos herbarios abarcan las hierbas, material herbario, preparaciones herbarias y productos herbarios acabados, que contienen como principios activos partes de plantas u otros materiales vegetales, o combinaciones de esos elementos, y su uso está bien establecido y ampliamente reconocido como inocuo y eficaz (OMS, 2016).

La medicina herbaria se utiliza desde tiempos remotos para curar o aliviar las enfermedades, dando lugar a los fitofármacos, y es apreciada por su costo bajo y por los reducidos índices de toxicidad, en comparación con los productos de síntesis (Casamayor, 2014).

En la actualidad existe gran interés por la medicina tradicional y, dentro de esta, la medicina herbaria, que ha generado numerosos estudios, divulgados en prestigiosas publicaciones. Pero, hay poco uso de medicamentos de origen vegetal por parte de los profesionales de la salud; sus tratamientos están basados únicamente en fármacos sintéticos, incluso, en el tratamiento de problemas de salud diagnosticados como enfermedad leve (Avila, 2013).

Se identificaron 44 enfermedades más comunes que son tratadas utilizando plantas medicinales, agrupadas de acuerdo al sistema del cuerpo en donde las plantas medicinales hacen efecto (Angulo, 2012).

En el caso las enfermedades del sistema respiratorio, como resfriados, tos, gripe, inflamaciones de la garganta, se calman utilizando plantas tipo eucalipto (*Eucalyptus urograndis*), zaragoza (*Glycyrrhiza glabra*),

llantén (*Plantago major*), ajo (*Allium sativum*), hoja del aire (*Kalanchoe pinnata*), limón (*Citrus limon*), carambola (*Averrhoa carambola*), empleados en forma de infusión y jarabe, siendo la tos, gripe y resfriados las afecciones más frecuentes que son atendidas con extractos de plantas, como lo reportan también otros estudios (Sancrez, 2015).

Estas prácticas tienen un marcado comportamiento cultural, en donde prevalecen las creencias y tradiciones que hacen que las plantas medicinales sean utilizadas de manera permanente y que además se convierten en un punto de partida para la búsqueda de estrategias exitosas en la conservación de la salud de las poblaciones rurales (Torri, 2013).

Comfrey, es una hierba perenne de la familia Boraginaceae, de uso medicinal durante muchos años para tratar dolores de articulaciones, músculos, cicatrización de heridas, dolor menstrual, problemas bronquiales, entre otros. Por otro lado, la presencia de polifenoles, triterpenoides y taninos en *S. officinale* L., permite suponer que la especie bajo estudio puede ser una fuente promisoría de extractos con una alta capacidad antioxidante. Propiedades antioxidantes, permite inferir el uso de los extractos de *S. officinale* como fuente potencial de compuestos antioxidantes y adicionalmente permite explicar de manera parcial su utilidad como medicamento cicatrizante y regenerador de tejidos. Los resultados del presente autor indican, en especial con el extracto etanólico, ratifican las propiedades terapéuticas de la planta, particularmente en la medicina tradicional, porque existen reportes de su aplicación directa sobre la piel afectada y se ha observado una rápida

mejoría. Por último, los extractos evaluados demostraron tener un efecto antioxidante significativo potente comparado con otros extractos de amplio uso en la industria y en la medicina tradicional. Las hojas de la planta *S. officinale* mostraron un efecto antioxidante significativo, lo cual refuerza sus propiedades medicinales en la recuperación de tejidos y dolencias musculares, entre otras afecciones (Puertas & Zuleta, 2012).

Comfrey contiene alantoína que tiene un efecto cicatrizante, reepitelizante; los mucílagos actúan como demulcente (hidratante, antiinflamatorio); los taninos son astringentes (antidiarreico, hemostático local), está indicado para el tratamiento de la gastritis, úlceras gastro duodenales, diarreas y síndrome del intestino irritable. En uso tópico: Escoceduras, eczemas secos, prurito, grietas de los senos, ictiosis, psoriasis, distrofia de la mucosa vulvovaginal, parodontopatías, tendinitis, bursitis, inflamaciones osteoarticulares, contusiones, hematomas. Tradicionalmente se empleó para acelerar la consolidación de fracturas (Zuolaga, 2008).

Comfrey (*Symphytum officinale* L.), se ha empleado tópicamente para el tratamiento de procesos inflamatorios, sanar heridas y úlceras, también para estimular la curación de gastropatías, lo cual se atribuye a su contenido de alantoína (Gómes, 2011).

Puertas et al. (2012), concluyeron, en una investigación hecha en Colombia, in vitro, que las hojas de la planta *S. officinale* mostraron un efecto antioxidante significativo, lo cual refuerza sus propiedades medicinales en la recuperación de tejidos entre otras afecciones; esto realizado en humanos.

La práctica de la medicina herbaria se basa en el uso terapéutico de las plantas medicinales como sustitutas de las medicinas farmacéuticas o en combinación. De las plantas se usa sus extractos en diversas formas de preparación, para mejorar el estado de salud (White, 2004).

III. MATERIALES Y METODOS

3.1 ÁMBITO DE ESTUDIO

El estudio se realizó en la ciudad de Juliaca, provincia de San Román, de la región Puno, con coordenadas de 15°29'24" latitud sur y 70°08'00" longitud oeste del Meridiano de Greenwich. Se encuentra a una altitud de 3824 msnm., presenta un clima frígido y con escasa humedad que varía por estaciones del año; en algunas temporadas como en el mes de agosto, soporta fuertes corrientes de viento y precipitaciones pluviales en verano (SENAMHI, 2016)

3.2 DISTRIBUCIÓN DE LOS ANIMALES EN EL ESTUDIO.

Se usaron 2 cachorros mestizos, de sexo macho, de 4 meses de edad, para obtener el Inmunosuero. Aparte de estos se emplearon 28 cachorros mestizos de sexo hembra, de entre 2.5 y 3.5 meses de edad, a los que se les asignaron los tratamientos como se muestra en la tabla 2.

Tabla 2

Grupos de tratamiento con sus respectivas repeticiones.

Tratamiento	Repeticiones	Total
Inmunosuero	1 2 3 4 5 6 7 8	8
Fitoterapia	1 2 3 4 5 6 7 8	8
Inmunosuero y Fitoterapia	1 2 3 4 5 6 7 8	8
Testigo	1 2 3 4	4
Total de cachorros		28

Nota: A estos animales se les identificó para facilitar el reconocimiento y la toma de datos.

3.3 MATERIALES.

3.3.1 Material de identificación.

- Collares de color amarillo.
- Lapicero indeleble.

- Nailon.

3.3.2 Material De Medida

- Balanza para pesar personas.
- Balanza de laboratorio.
- Cronometro.

3.3.3 Material y equipos de laboratorio

- Mandil blanco.
- Jeringas descartables de todas las medidas.
- Torundas de algodón.
- Guantes de exploración.
- Viales color ámbar para Inmunosuero
- Viales para Fitoterapia
- Gradillas.
- Pipeta de 10 mL.
- Autoclave.
- Centrifuga.
- Congeladora.
- Refrigeradora
- Beaker.
- Tubo de ensayo
- Probeta
- Erlenmeyer

3.3.4 Materiales de escritorio

- Tablero de apuntes.
- Cámara fotográfica.
- Cuaderno.
- Lapicero.
- Cinta más King.
- Resaltadores
- Calculadora

3.3.5 Material De Campo.

- Trapeador
- Bebederos
- Desinfectantes
- Recogedores
- Platos
- Mesas de evaluación y diagnostico
- Estetoscopio
- Termómetro
- Caniles.

- Cubre bocas
- Gorro
- Mameluco
- Botas antideslizantes
- Escobas
- Detergentes
- Baldes

3.3.6 Otros

- Alcohol de 70°.
- Muestra positiva de CPV.
- Destilado de Plantas
- Kit de diagnóstico (Anigen Rapid CPV Ag Test Kit – Bionote)
- Vacuna específica de Parvovirus Canino
- Torundas y alcohol yodado.
- Bata de laboratorio, guantes quirúrgico, cubre pelo y cubre boca.
- Hisopos
- Frascos estériles para coleccionar muestras.
- Antibiótico.
- Antiinflamatorio
- Alimento concentrado.

3.4 MÉTODOS.

3.4.1 Exploración física y registro de ficha clínica.

Se realizó a cada uno de los cachorros empleados en el estudio, mediante un examen físico general, usando medios propedéuticos, y el respectivo registro del historial clínico.

3.4.2 Inmunización de cachorros para obtención de Inmunosuero.

- a) Se tuvo por un tiempo de observación a 2 cachorros macho, de cuatro meses de edad, donde se les realizó la exploración física, para determinar el estado de salud, tiempo en el cual se les hizo la desparasitación.

- b) Pasado el tiempo de observación se les vacunó con (Vacuna de CPV – Hipradrog de laboratorios Hipra), vía SC, en una primera dosis (1ml), que se le tomó como día 0.
- c) Se reforzó al día 15, con una segunda dosis (1ml) de la misma vacuna, por vía SC.

3.4.3 Obtención del Inmunosuero.

- a) El día 30, se obtuvieron las muestras de sangre a través de vena cefálica, de los cachorros inmunizados, mediante el uso de tubos esterilizados sin anticoagulante, previa sujeción, rasurado y antisepsia de la zona con alcohol al 70 %.
- b) Se dejaron las muestras a temperatura ambiente durante 8 a 12 horas para la formación del coágulo y la liberación del suero.
- c) Una vez coaguladas las muestras, se procedió a extraer el suero y transferir a viales estériles, de color ámbar oscuro.
- d) Los viales con suero se mantuvieron en refrigeración entre 2 a 8 °C.

3.4.4 Obtención de Fitoterapia.

Laboratorios FELMAC. S.R.L, proporcionó el destilado de la planta *Symphytum officinale* L.; se trasvasaron a viales estériles, y se conservaron en refrigeración de 2 a 8 °C, en todo el procedimiento se tuvo mucha precaución en cuando a la asepsia.

3.4.5 Obtención de cachorros positivos a CPV.

- a) Se adquirieron un total de 28 cachorros hembra, de entre 2.5 a 3.5 meses de edad, a los que se les realizó la exploración física y el registro de la ficha clínica, los animales se encontraron aparentemente sanos.

- b) Posteriormente se procedió a infectar de forma controlada con muestra de caso positivo a CPV, en forma de aerosol.
- c) Se esperó que los cachorros infectados presenten los primeros signos y/o síntomas para hacer la confirmación mediante el kit de diagnóstico (Anigen Rapid CPV Ag Test Kit – Bionote, cuyo procedimiento e interpretación están ampliados en los anexos A y B), para empezar con los tratamientos respectivos.

3.4.6 Tratamiento con Inmunosuero y Fitoterapia, de cachorros positivos a CPV.

El tratamiento de los cachorros se empezó, cuando fueron confirmados positivos a CPV, mediante el Test de diagnóstico (Anigen Rapid CPV Ag Test Kit), luego de que éstos presentaran los primeros signo días después de la infección experimental. Se aplicó una terapia a los 4 grupos de tratamiento, donde se rehidrató, con solución poli electrolítica; el uso de metoclopramida (1mg/kg/IV), se dirigió especialmente a los cachorros que cursaban con vómitos, pero esta se administró solo en una dosis; finalmente para evitar posibles infecciones oportunistas, debido a la lesión causada por el virus, se administró oxitetraciclina (6mg/kg/24h/3d/IV). No se hizo uso de analgésico, antiinflamatorio, ni antipirético.

Tabla 3

Días y distribución de Tratamiento de cachorros positivos a CPV.

TRATAMIENTO	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Inmunosuero	IS	IS	IS				
Fitoterapia	FT	FT	FT	FT			
Inmunosuero + Fitoterapia	IS+FT	IS+FT	IS+FT	FT			
Testigo	-	-	-	-			

Nota: Inmunosuero (IS); Fitoterapia (FT)

La tabla 3 detalla que, en el tratamiento Inmunosuero, la dosis de suero homólogo empleado fue de 1ml por kilo de peso vivo, cada 24 horas, por vía intramuscular, durante 3 días. En el tratamiento fitoterapia, las dosis empleadas del destilado de *Symphytum officinale* L. fueron de 1ml por cachorro por vía sub cutánea y 5ml por cachorro por vía oral, ambos cada 24h, durante 4 días. En el tratamiento (Inmunosuero + Fitoterapia), se emplearon las mismas dosis mencionadas anteriormente, así como la vía y los días de administración, según corresponda. Mientras que en el tratamiento testigo solo se utilizó la terapia sintomática.

3.4.7 Seguimiento de los cachorros positivos a CPV durante el tratamiento.

Una vez iniciado los tratamientos, se empezó a hacer seguimiento de los casos hasta el día 5, mediante una ficha clínica, tomando las constantes clínicas y observando la respuesta de los cachorros frente a las terapias establecidas. Si el día 5 se determinaba que no había posible mejoría, de acuerdo al historial clínico, se procedía a realizar eutanasia para evitar el prolongado sufrimiento de los cachorros. A los cachorros que al quinto día mostraban posiblemente mejoría, tomando en cuenta el historial, se les continuó haciendo seguimiento hasta la probable recuperación.

3.4.8 Análisis estadístico.

Los datos del presente trabajo de investigación se analizaron a través de un estadístico, como es χ^2 (ji – cuadrado) por que las variables de respuesta se expresaron en porcentaje.

$$\chi^2_c = \sum \frac{(o_i - e_i)^2}{e_i}$$

Dónde:

χ^2_c = Variable de respuesta calculada

O_i = Valores observados

e_i = Valores esperados

α = error experimental que toma valores de 0.05 ó 0.01

CONTRASTE:

$$\text{si: } \chi^2_c > \chi^2_t$$

Se concluye que hay diferencia entre tratamientos con $\alpha = 0.01$ ó 0.05

Para el porcentaje de efectividad se utilizó la siguiente formula

$$E = \frac{\text{Número de cachorros recuperados para el grupo}}{\text{Total de cachorros positivos a CPV para el grupo}} \times 100$$

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados

Tabla 4

Tratamiento de parvovirus canina en Juliaca – 2017.

Tratamiento	N° Total de cachorros	N° cachorros recuperados	Efectividad (%)	Recuperación (Días)
Inmunosuero	8	4	50.0% b	5.25 ± 0.5
Fitoterapia	8	3	37.5% c	6.67 ± 0.58
Inmunosuero y Fitoterapia	8	6	75.0% d	4.33 ± 0.52
Testigo	4	0	- a	-

En la tabla 4 se muestran los resultados del número de cachorros recuperados, la efectividad en porcentaje, el promedio y la desviación estándar de los días de recuperación para los tratamientos.

En el grupo de tratamiento Inmunosuero, se hallaron 4 cachorros recuperados de 8, por consiguiente una efectividad de 50% con un promedio de 5.25 días de recuperación y una desviación estándar de 0.5 días.

Así mismo en el grupo de tratamiento Fitoterapia, se hallaron 3 cachorros recuperados de 8, resultando en un 37.5% de efectividad con un promedio de 6.67 días de recuperación y una desviación estándar de 0.58 días.

Mientras que en el grupo de tratamiento (Inmunosuero y Fitoterapia), se hallaron 6 cachorros recuperados de un total de 8, lo que indica una efectividad del 75%, con un promedio de 4.33 días de recuperación y una desviación estándar de 0.52 días.

Por otro lado, en el grupo de tratamiento Testigo, no se tuvo recuperación alguna, hasta el día de observación establecida.

4.2 Análisis estadístico de Efectividad del tratamientos (ji – cuadrado)

De acuerdo a los datos obtenidos y al análisis de estos, a través del estadístico ji – cuadrado, se encontró que hay una diferencia altamente significativa entre Tratamientos ($p \leq 0.01$), lo que quiere decir que las variables de respuesta son dependientes de cada tratamiento. Los resultados también nos indica que el tratamiento (Inmunosuero + Fitoterapia) es superior en el número de cachorros recuperados después del tratamiento, con un 75% de efectividad, seguido del tratamiento (Inmunosuero) con un 50%, luego el tratamiento (Fitoterapia) con 37.5 % y por último el tratamiento (Testigo) con 0% de recuperación, por lo que se puede concluir que los tratamientos (Inmunosuero + Fitoterapia) e (Inmunosuero), pueden ser considerados como los mejores tratamientos para cachorros afectados con Parvovirus canino, porque avizoran que estos pueden utilizarse para casos de canes con parvo virosis (ANEXO D).

4.3 Discusión.

Los datos obtenidos son alentadores, ya que según Alonzo (1999) quien hizo un trabajo similar usando Suero hiperinmune heterólogo, en la prevención y tratamiento de la parvovirus canina en cachorros de Camagüey – Florida, obtuvo un resultado de 78.5% de efectividad usando dosis de 2ml/kg de peso vivo /24 h de durante dos días. La diferencia de efectividad con este autor podría deberse a que éste usó suero heterólogo (suero obtenido de caballos inmunizados contra CPV), que estos animales responden mucho mejor a inmunizaciones ya que son bastante sensibles. Probablemente también esté relacionado con la dosis empleada, ya que

Alonzo(1999) empleo 2ml/kg/24h/2 días, y en nuestro estudio fue de 1ml/kg/24h/3 días.

Trejo (2010) Menciona que durante la primera fase de la enfermedad la inyección intramuscular de un suero canino hiperinmune (0.2 ml/kg de peso corporal) puede ayudar a reducir la carga viral y a reducir la gravedad de la infección, y se concuerda con lo mencionado por este autor, ya que en el grupo (inmunosuero) redujo la intensidad de algunos síntomas como la diarrea; además, menciona que los sueros hiperinmunes son efectivos, pero son difíciles de obtener, lo cual es cierto en parte, pero si se puede lograr, como se demostró con el presente estudio.

García (2010) Probó otro tratamiento similar, usando interferón ω felino en el tratamiento etiológico de la parvovirus canina que fue demostrada en un estudio en el que se observó una reducción importante de la mortalidad en perros infectados naturalmente y tratados con Fel IFN /24h IV durante 3 días consecutivos, lo cual es similar al presente trabajo porque la terapia fue de tres días con administración de suero homólogo por vía IM. Sin embargo el autor menciona que, este producto está recomendado en las fases tempranas de la enfermedad y los cachorros que van a consulta a las clínicas, generalmente se encuentran en un estado más avanzado.

García (2010) También dice que el elevado coste del producto hace que no se utilice rutinariamente, por lo que con el presente estudio se pretendió demostrar que se puede producir Inmunosuero y así reducir costos de tratamiento.

Attyat & Wafaa (2015) hallaron en su trabajo que los perros infectados de manera natural y experimental no mostraron reacciones locales en el sitio

de la inyección o reacciones sistémicas significativas con el suero anti CPV preparado; confirmando su seguridad para perros. Estos hallazgos son similares a los encontrados en nuestro trabajo, ya que la administración del suero homólogo no tuvo complicaciones.

Las mismas observaciones de seguridad se informaron en gatos tratados naturalmente infectados con FPL, Sin embargo, estos animales exhibieron buenos niveles de títulos de anticuerpos pasivos hasta 3 semanas después de la última inyección de suero hiperinmune anti CPV y luego disminuyeron gradualmente (Attyat & Wafaa, 2015).

En cuanto a la recuperación, obtuvimos un promedio de 5.25 días de recuperación, similar al trabajo de Attyat & Wafaa, (2015), quienes encontraron que los animales tratados mostraron una mejoría en la salud dentro de los cinco días posteriores al tratamiento con el antisuero.

Attyat & Wafaa (2015) sugieren que la inmunización pasiva de cachorros antes de la infección experimental con CPV se asemeja a la inmunidad materna, que podría superar la infección por virus.

En cuanto al tratamiento con Fitoterapia, Comfrey, usado durante muchos años para tratar dolores de articulaciones, músculos, cicatrización de heridas, dolor menstrual, problemas bronquiales, entre otros, cuenta con la presencia de polifenoles, triterpenoides y taninos que permiten suponer que puede ser una fuente promisoriosa de extractos con una alta capacidad antioxidante (Puertas, Zuleta, & Rivera, 2012). El resultado obtenido en el presente trabajo se puede atribuir a las propiedades benéficas que tiene esta planta, como lo determinaron (Puertas, Zuleta, & Rivera, 2012), en una investigación publicada en una revista Cubana, que se hizo en Colombia in

vitro donde concluyeron que las hojas de la planta *S. officinale* L. mostraron un efecto antioxidante significativo, lo cual refuerza sus propiedades medicinales en la recuperación de tejidos entre otras afecciones, realizado en humanos. Por lo tanto suponemos que el efecto logrado en nuestro trabajo, podría ser debido a los componentes mencionados por (Puertas, Zuleta, & Rivera, 2012), ya que con este tratamiento se tuvo un promedio de 6.67 días de recuperación que explicaría su acción.

Existen muchos trabajos del tratamiento de enfermedades con el uso de plantas; Huacuja (2007) menciona que se han demostrado efectos antiviral con diferentes plantas, como los obtenidos de cuatro especies del genero *Phyllanthus*. Estos resultados parecen indicar que cada vez se da mayor importancia al estudio de plantas en la curación de enfermedades, que incluso son de origen viral. No se puede afirmar que *Confrey* tiene propiedades antivirales sin embargo faltan estudios más complejos para determinarlo.

Es la primera vez que se usa esta planta en el tratamiento de la parvovirus canina, pero ya se ha probado en estudios en seres humanos.

En cuanto al grupo de tratamiento en combinación (Inmunosuero y Fitoterapia), éste mostró mejor efectividad en comparación a los otros tratamientos. Este resultado podría atribuirse a la potenciación del tratamiento, ya que estarían actuando en sinergia por adición de efectos de ambos tratamientos.

En Mexico, Lopez (2014), le da una gran importancia al efecto del inmunosuero, ya que este hizo estudios con su Inmunosuero patentado (ACTINMUN) que es un suero sanguíneo con niveles adecuados de

anticuerpos IgG contra Parvovirus canino que neutralizan a estos virus promoviendo su fagocitosis de manera que el animal puede recuperarse más rápido, con lo que se podría afirmar que en Inmunosuero actuó promoviendo la fagocitosis de virus, mientras que la fitoterapia hizo su efecto regenerando tejidos.

En cuanto al grupo Testigo, Juárez (2011), menciona que el tratamiento es en base a los signos clínicos y análisis de laboratorio, basado primeramente en contrarrestar la deshidratación, el desequilibrio electrolítico, la invasión bacteriana, el vómito, la diarrea intensa.

Kalli et al. (2010) Mencionan que el éxito del tratamiento varía según la sintomatología clínica presente con la que llega el animal al consultorio, así cachorros que llegan con evidencia de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, la probabilidad de supervivencia disminuye, en el presente trabajo solo se usó rehidratación, antibiótico y antiemético, en algunos casos, no se usó antiinflamatorio y comparando con estos autores tal vez sea la explicación de que en este grupo testigo no se hayan recuperado ninguno de los cachorros.

Por otro lado el grupo (fitoterapia) que resultó mejor que el del grupo (Testigo) y se podría plantear que la fitoterapia tiene acción no solo de regeneración, si no también efecto antiinflamatorio como lo mencionan (Puertas, Zuleta, & Rivera, 2012).

V. CONCLUSIONES

- El tratamiento de Parvovirus canina en combinación, Inmunosuero y Fitoterapia, resultaron en una mejor respuesta con 75% de efectividad, en cachorros de la ciudad de Juliaca.
- La efectividad del Tratamiento de la Parvovirus canina en cachorros de la ciudad de Juliaca, utilizando Inmunosuero fue del 50 %.
- La efectividad del Tratamiento de la Parvovirus canina en cachorros de la ciudad de Juliaca, utilizando Fitoterapia fue del 37.5 por ciento.

VI. RECOMENDACIONES

- Probar diferentes dosis de Inmunosuero y Fitoterapia.
- Dar mayor énfasis al estudio de plantas para el tratamiento de otras enfermedades.

VII. REFERENCIAS

- Abbas, A. (2012). Inmunología celular y molecular. 7. Barcelona, España: Elsevier.
- Alberts, B., A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts & P. Walter, (2002). Molecular biology of the cell. 4th Ed. Garland Science.
- Alonzo, D. (1999). Suero hiperinmune para la protección y terapia contra la parvovirus canina. Red. Prod. Anim. Obtenido de:
<https://www.researchgate.net/publication/320288555>
- Angulo, A. (2012). Estudio etnobotánico de las plantas medicinales utilizadas por los habitantes del corregimiento de Gernoy. Universal Salud, 168-85.
- Anza, S., V. Vera, L. Villamil & G. Ramirez, (2005). Aglutinación en láte, Elisa y Hemaglutinación (Alternativas para el diagnóstico de PVC en heces. Revista medica, 8(2).
- Añasco, C. (2017). Perfil hematológico en perros a 3,825 metros de altitud con gastroenteritis viral en su fase inicial. Universidad Nacional del Altiplano. Recuperado a partir de <http://tesis.unap.edu.pe/handle/UNAP/4658>
- Attyat, M. & R.A.A. Wafaa (2015). Efficacy of canine parvovirus hyperimmune serum prepared in horses for treatment of canine parvo and feline panleucopenia infections. Benha Veterinary Medical Journal, 28(2), 34-39.
- Avila, M. (2013). Impacto social de una estrategia de intervención sobre prescripción racional de medicina verde en Cesped 18(4):609-18. Plantas medicinales. Cuba.
- Betancur, E. & C. Correa, (2012). Prevalencia de Distemper y Parvovirus caninos de medellin en un grupo de perros que ingresan al Servicio de la Unidad de Diagnóstico de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Antioquía.
- Bionote, Inc. (2009). Kit del Test Rápido Anigen para CPV Ag, (1), 30-31.
- Casamayor, P. (2014). Algunas consideraciones sobre el surgimiento y la evolución de la medicina natural y tradicional. 74. MEDISAN.
- Castro, T., E. Costa, J. Leite, N. Labarthe & R. Cubel (2011). Monitoring of canine parvovirus (CPV) strains detected in Brazil, 90(2), 336-340.
- Collado, V., R. Porras, M. Teresa & E. Gomez (2008). El sistema inmune innato y sus mecanismos. Revista cmlutense de Ciencias Veterinaria , 2(1):1-16.

- Craing, E. G. (2008). Dreaded doggie diarrhea: canine viral enteritis revisited. Obtenido de:
http://www.ivis.org/proceedings/scivac/2008/greene2_en.pdf?LA=1
- Crawford, C. & R. Sellon (2010). Canine viral diseases. En J. Ettinger & E. Feldman, *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. Missouri - USA: 7th. Ed. Saunders Elsevier. St Louis.
- DiBartola, S. P. (2007). *Fluidoterapia, Electrolitos y desequilibrios ácido- básico en pequeños animales*. España: Multimedica - 3ra Edición.
- Eizeibe, M. & I. Nwaogu (2007). Aluminium - magnesium silicate inhibits parvovirus and cures infected dogs. *Scientific Research* Vol. 2 N° 10,10 - 11.
- Ettinger, J., & C. Feldman (2007). *Tratado de medicina Interna veterinaria; enfermedades del perro y del gato*. España: Elsevier.
- Fernández, J.A. (2017). En campaña de vacunación antirrábica solo lograron vacunar el 62% de la población canina | Radio Onda Azul » Noticias Puno Perú. Recuperado 12 de diciembre de 2017, a partir de <http://www.radioondaazul.com/puno-en-campana-de-vacunacion-antirrabica-solo-lograron-vacunar-el-62-de-la-poblacion-canina-69372.html>
- Flores, R. (1987). Parvovirus Canina y Aspectos de inmunización. *Ciencias Veterinarias*, 131-159.
- García, I. (2010). Manejo clínico de la parvovirus canina en urgencias. *RCCV*, 1(2).
- Goddard, A., & A. Leisewitz (2010). Canine Parvovirus. En S. Barr, *Issue of Veterinary Clinics of North America: small Animal Practice. Current Topics in Canine and Feline Infectious Diseases*. California - USA: Elsevier.
- Gómez, U. (2011). *Plantas y medicamentos naturales. Toxicología y Medicamentos*. San Vicente Fundación. Obtenido de http://www.elhospitalblog.com/vida_sana/toxicologia-y-medicamentos/plantas-y-medicamentos-naturales/
- Greene, C. E. (2008). *Enfermedades infecciosas del perro y del gato*. (Intermedica V. 2, Ed.). Buenos Aires.
- Hedrick, S. (2004). *The acquired immune system: A vantage from beneath Immunity*.

- Hernandez, D. H. (2012). Nueva Perspectiva De La Parvovirus Canina En El Sur Del Valle De Aburra.
Obtenido de:
http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/690/1/NUEVA_PERSPECTIVA_PARVOVIRUS_CANINO_SUR_VALLEDEABURRA.pdf
- Hoskins, J. D. (2009). Canine Parvovirus an update on variants. The Newsmagazine of Veterinary Medicine, 40.
- Huacuja, R. (2007). Fitoterapia de la hepatitis viral B crónica.
- Hurtado, D.-H., & P. Báez (2012). Nueva perspectiva del Parvovirus Canino.(Tesis pregrado) Journal of Agriculture and Animal Sciences, 1(2).
Recuperado a partir de:
<http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/1022/1/181.pdf>
- Jimenez, C. A. (junio de 2001). Anticuerpos Monoclonales Específicos de Inmunoglobulina G canina: Caracterizacion y Aplicacion de Inmunoensayos. Cordoba. Obtenido de:
<http://helvia.uco.es/xmlui/bitstream/handle/10396/305/13076334.pdf?sequence=1>
- Juares, A. (2011). Cambios hematológicos en perros positivos a parvovirus canino. Tesis de pregrado - Universidad de microacan de San Nicolas de Hidalgo. Guatemala.
- Kalli, I, L.S. Leontides, M.E. Mylonakis, K. Adamama, T. Rallis, A.F. Koutinas (2010) Factors affecting the occurrence, duration of hospitalization and final outcome in canine parvovirus infection. Res Vet Sci. 89(2):174-8.
- Latimer, K., E. Mahaffey & K. Prasse (2005). Patología Clínica Veterinaria. España, España: Multimedica Ed. Vet.
- Lopez, R.H. (2014). ACTINUM - Hospital de mascotas. mexico. Obtenido de <http://www.hidalgohospitaldemascotas.com/suerohmh.html>
- Mamani, W. J. (2014). Prevalencia de la Parvovirus Canina en la Ciudad de Juliaca (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional del Altiplano de Puno. Puno, Perú.
- Mccandlish, I. (2001). En J. Dunn, Tratado de Medicina de Pequeños Animales (pág. 1075). Sao Paulo: 1.

- McCaw, D. & J. Hoskins (2006). Canine viral enteritis. En C. Greene, Infectious Diseases of dog and cat (págs. 46 - 73). Missouri - USA: 3a Ed. Elsevier St. Louis .
- Mejía, C., F. Montoya & F. Echeverry (2012). Capacidad antioxidante in vitro de Comfrey (*Symphytum officinale* L.) - In vitro antioxidant capacity of comfrey (*Symphytum officinale* L.). Revista Cubana de Plantas Medicinales.
- Meterlab. (2013). Distribuidora de productos de laboratorio clinica S.I. Obtenido de:
[Http://Www.Materlab.Com/Documentacion/Vetall/Test%20parvovirus%20c-pv%20ag%20muestras%20fecales%20kit.Pdf](http://Www.Materlab.Com/Documentacion/Vetall/Test%20parvovirus%20c-pv%20ag%20muestras%20fecales%20kit.Pdf)
- Meunier , P., B. Cooper & M. Appel (1985). Pathogenesis of canine parvovirus enteritis: sequential virus distribution and passive immunization studies. Vet Path.
- Minakshi, S. & G. Prasad (2008). Rapid, sensitive and cost effective method for isolation. Veterinary World Vol.3(3):105-106 , 2.
- Morais, M. & P. Costa (2007). Parvoviridae. En E. Flores, Virología Veterinaria (págs. 388-392). Santa María: da UFSM.
- OMS (2001). Organización Mundial de la Salud. Estrategia mundial de la OMS para contener la resistencia a los antimicrobianos. Oms, 2, 104. <https://doi.org/10.1590/S1020-49892001001000014>
- OMS (2016). Medicina Tardicional. (WHO, Editor) Obtenido de Definiciones: http://www.who.int/topics/traditional_medicine/definiciones/es/
- Paredes, A. (2006). Hallazgos Histopatológicos en duodenos de caninos con parvovirus. Univesidad Austral . Chile.
- Pintos, A., E. Larrama, E. Baratta, M. Barthe & J. Rondonz (2011). Aislamiento y caracterizacion de la cepa 2c del Parvovirus canino circulante en Uruguay - Cienc. Rural, 41(8), 1436-1440. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782011005000098>
- Puertas, M.,M. Zuleta, & E. Rivera (2012). Capacidad antioxidante in vitro de Comfrey (*SymPhytum officinale* L) - universidad de antioquía. Revista cubana de plantas medicinales, 17 (1) 30 - 36.
- Sancrez, A. (2015). Las plantas empleadas para el tratamiento de las infecciones respiratorias. Etnobiología, 11-30. Chiapas, Mexico.
- Schaer, M. (2006). Medicina Clinica del perro y el Gato. Barcelona: Masson.

- SENAMHI (2016). Servicio nacional de Metereología e Hidrología del Perú. Obtenido de <http://puno.senamhi.gob.pe/web/>
- Sosa, A.S. (2009). Estudio de la diversidad del Parvovirus canino tipo 2 (CPV-2) mediante el análisis de repetidos en el genoma viral . *Genetica Evolutiva*, Montevideo, Uruguay. 2(3), 1-51. Recuperado a partir de <http://www.bib.fcien.edu.uy/files/etd/pasan/uy24-14204.pdf>
- Suter, M. (1992). The potential of monoclonal antibodies derived from outbred veterinary animals. *Veterinary Immunology and Inmunopathology*, 33, 285-300. NY, EE.UU.
- Tizard, I. R. (2009). *Introducción a la inmunología veterinaria*. Elsevier Health Sciences Spain.
- Tizard, I. & Y. Ni (1998). Use of serologic testing to assess immune status of companion animals. *J Am Vet Med Assoc*.
- Torri, M. (2013). Perceptions and uses of plants for reproductive health among traditional midwives. Obtenido de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pub-med/22877763>.
- Trejo, D. (2010). Parvovirus, Pesadilla de los cachorros. Obtenido de <http://parvovirus3mvzuaa.blogspot.pe/2010/11/tratamiento-y-control.html>
- Villegas, P. (1999). *Enfermedades del Virus*. Seminario Internacional de Patología. Giorgia, USA.
- White, L. (2004). *Las mejores alternativas naturales a los medicamentos*. El recetario Herbario, 672pp. (R. Books, Ed.)
- Zuloaga, F. O., O. N. Morrone, M. J. Belgrano, C. Marticorena & E. Marchesi. (2008). *Catálogo de las plantas vasculares del Cono Sur*. *Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard.* 107: 3 Vols., 3348 p.

ANEXOS

ANEXO A

Procedimiento del test de diagnóstico (Anigen Rapid CPV Ag Test Kit).

- Se recolectan muestras de heces del recto y secreciones de la conjuntiva y nariz, usando un hisopo.
- Se Inserta el hisopo en el tubo para muestras que contiene 1 ml de diluyente de la prueba.
- Se Mezcla las muestras del hisopo con el diluyente de la prueba en el pozo de extracción.
- Se Extrae el dispositivo del test de las bolsas de papel aluminio y se coloca en superficie plana y seca.
- Usando el gotero desechable provisto, se recoge una cantidad de la muestras del tubo de muestras donde mezclaron.
- Se agregan cuatro (4) gotas exactas de forma lenta en el orificio de la muestra usando el gotero desechable.
- Se observa que al inicio del funcionamiento el test, el color púrpura se mueve en la ventana del kit.
- Para hacer la lectura de resultados se espera de 5 a 10 minutos.

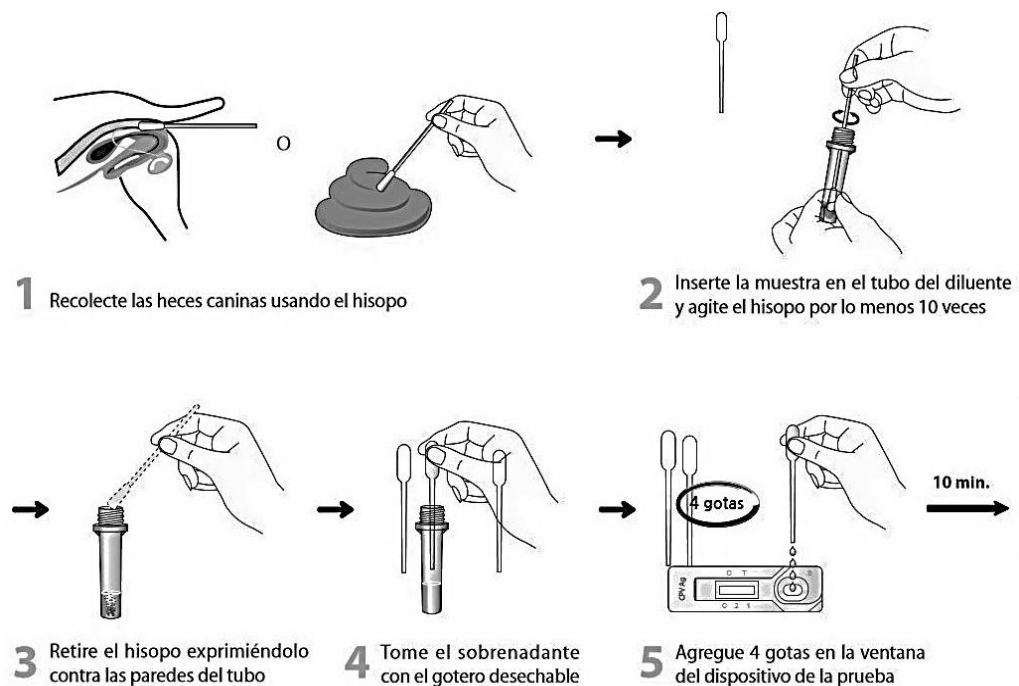


FIGURA 2: A 1 Procedimiento (Anigen Rapid CPV Ag Test Kit)

ANEXO B

Interpretación del test (Anigen Rapid CPV Ag Test Kit)

En la sección izquierda de la ventana de resultados aparecerá una banda de color para indicar que el test está funcionando correctamente; es la banda de control. La sección derecha de la ventana de resultados indica el resultado del test. Si aparece una banda de color diferente en la sección derecha de la ventana de resultados, es la banda del test.

- i. **Resultado negativo:** Presencia de una sola banda en la ventana de resultados.

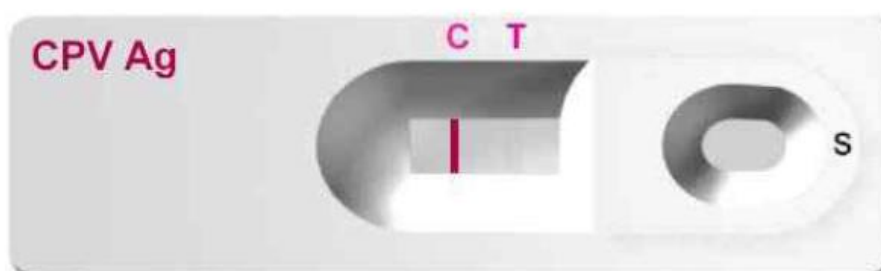


FIGURA 3: B 1 Test negativo (Anigen Rapid CPV Ag Test Kit)

- ii. **Resultado positivo:** Presencia de dos bandas a color ("T" y "C") en la ventana de resultados, sin importar cuál aparezca primero, indica un resultado positivo.

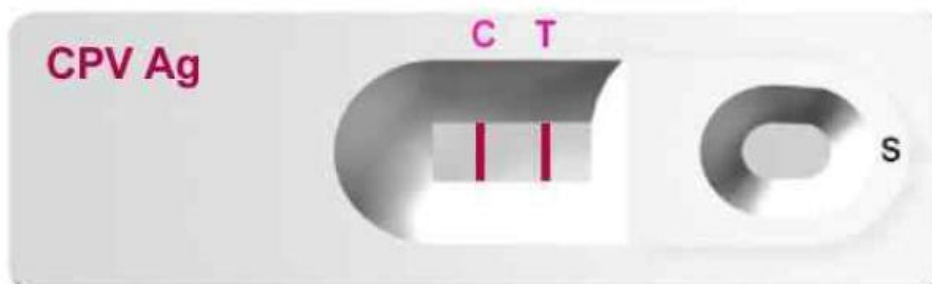


FIGURA 4: B 2 Test positivo (Anigen Rapid CPV Ag Test Kit)

ANEXO D

Tabla 5

Análisis estadístico de efectividades de tratamiento (ji – cuadrado)

TRATAMIENTO	o_i	e_i	$\frac{(o_i - e_i)^2}{e_i}$	**
Inmunosuero	50.00	40.625	2.1634	b
Fitoterapia	37.50	40.625	0.2404	c
Inmunosuero + Fitoterapia	75.00	40.625	29.9388	a
Testigo	0.00	40.625	40.6250	d
	Σ 162.50	$\chi^2_c =$	72.9676	

Nota:

X^2_c : Variable de respuesta calculada

O_i : Valores observados

e_i : Valores esperados

($P \leq 0.01$); **: Diferencia entre tratamientos altamente significativa

$$\chi^2_c \text{ fue mayor a } \chi^2_{t 0.01,3}$$

$$72.9679 > 11.345$$