

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIAS

AGROPECUARIAS



CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

TÍTULO DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Determinación de niveles de anticuerpos antirrábicos post-vacunales en caninos de diferentes edades.

AUTOR:

Micaela Elizabeth Arcos Cuamacas

TUTOR:

MVZ. Blanca Jeaneth Villavicencio. Mg

Cevallos, 2024

Determinación de los niveles de anticuerpos post-vacunales contra el virus del distemper canino en perros (*Canis lupus familiaris*) en la Clínica Veterinaria Dr. Pets.

REVISADO POR:

.....

MVZ. Blanca Jeaneth Villavicencio. Mg

TUTOR

APROBADO POR LOS MIEMBROS DE CALIFICACIÓN

Fecha

..... 12/02/2025

Ing. Pedro Pablo Pomboza, PhD

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

..... 12/02/2025

Dr. Mg. Lozada Salcedo Euclides Efraín

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

..... 12/02/2025

Méd. Mg. Mora Tola Miguel Andrés

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

AUTORIA DE LA INVESTIGACIÓN

El suscrito, **Micaela Elizabeth Arcos Cuamacas,** portador de cédula de ciudadanía número: **1050162351**, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de investigación titulado: "**Determinación de los niveles de anticuerpos post-vacunales contra el Virus del distemper canino en perros (*Canis lupus familiaris*) en la Clínica Veterinaria Dr. Pets**." es original, auténtico y personal. En tal virtud, declaro que el contenido es de mi sola responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas.



Micaela Elizabeth Arcos Cuamacas

DERECHO DE AUTOR

Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación "**Determinación de los niveles de anticuerpos post-vacunales contra el Virus del distemper canino en perros (*Canis lupus familiaris*) en la Clínica Veterinaria Dr. Pets**." como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Médico Veterinario, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que este documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.

Estoy de acuerdo en que se realice cualquier copia de este Informe Final, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica potencial.

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la publicación de este Informe Final, o de parte de él.



Micaela Elizabeth Arcos Cuamacas

DEDICARTORIA

Con profundo amor y gratitud, dedico este logro a mis amados padres Sandra y Marco, quienes con su apoyo incondicional han sido el pilar fundamental en mi camino; a mi querida hermana Seylin, por ser mi confidente y apoyo inquebrantable en cada paso que doy; a mis inolvidables gatitas Tomi y Bola de Nieve, quien aunque ya no están físicamente presente, fueron las primeras en acompañarme en este proceso; y a mis fieles compañeros Niky, Rufo, Nina y Leo, quienes con su amor puro y sincero han sido mi mayor inspiración para seguir mi vocación.

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento al Dr. Tito Mendoza y a la Ing. Estefania Tates por abrirme las puertas de la Clínica Veterinaria Dr Pets y brindarme su invaluable apoyo durante el desarrollo de este proyecto de investigación. A todo el equipo que conforma la clínica, les agradezco profundamente por compartir sus conocimientos, ser un apoyo constante y ofrecerme su valiosa amistad.

A mis padres Sandra y Marco y mi hermana Seylin, gracias por su apoyo incondicional y sus palabras de aliento que siempre llegaron en el momento preciso. A aquellas personas especiales que, a pesar de la distancia, nunca dejaron de preocuparse por mi bienestar y me brindaron palabras de ánimo cuando más difícil se hacía estar lejos de casa.

A mi abuelita Yolanda, mi querida Bubu, por su amor incondicional y sus muestras de afecto que llenaron mi corazón, haciéndome sentir que todo estaría bien. Sus abrazos y palabras fueron un apoyo fundamental.

Quiero dedicar el agradecimiento más especial a mí misma, por no rendirme, por encontrar la fuerza y la valentía para seguir adelante a pesar de estar lejos de mi hogar. Este logro es testimonio de mi perseverancia y dedicación.

Finalmente, agradezco profundamente a mi tutora, la Dra. Blanca Jeaneth Villavicencio, por su guía y apoyo constante en el desarrollo de este proyecto de investigación. Su orientación fue fundamental para alcanzar esta meta.

ÍNDICE GENERAL

AUTORIA DE LA INVESTIGACIÓN 3
DERECHO DE AUTOR 4
DEDICARTORIA 5
AGRADECIMIENTO 6
RESUMEN 12
ABSTRACT 13
CAPITULO 1 14
INTRODUCCIÓN 14
MARCO TEÓRICO 16
1.1. Antecedentes investigativos 16
1.2. Marco conceptual 18
1.2.1. Distemper canino 18
1.2.2. Etiología 18
1.2.3. Cepas del virus de Distemper Canino 20
1.2.4. Patogenia 20
1.2.5. Respuesta inmune ante la infección 22
1.2.6. Epidemiologia 23
1.2.7. Manifestaciones clínicas 24
1.2.7.1. Manifestaciones agudas 25
1.2.7.2. Manifestaciones subagudas y neurológicas 25
1.2.7.3. Manifestaciones crónicas y especiales 25
1.2.7.4. Manifestaciones sistémicas y complicaciones 26
1.2.8. Diagnóstico 26
1.2.8.1. Técnicas de diagnóstico avanzadas 27
1.2.8.2. Pruebas serológicas y aislamiento viral 28
1.2.8.3. Hallazgos patológicos 29
1.2.9. Lineamientos de Vacunación 29
1.2.9.1. Evaluación serológica 30
1.2.10. Vacunas 31
1.2.11. Sistema inmune 33
1.2.12. Inmunidad innata 33
1.2.13. Sistema de complemento 33
1.2.14. Inmunidad adaptativa 34

1.3. Objetivos 35
1.3.1. Objetivo general 35
1.3.2. Objetivos específicos 35
1.4. Hipótesis 35
CAPITULO II 36
METODOLOGÍA 36
2.1 Ubicación del experimento 36
2.2 Características del lugar 36
2.3 Materiales y equipos 36
2.3.1 Material biológico experimental 36
2.3.2 Equipos 37
2.3.3 Materiales de campo 37
2.3.4 Materiales de laboratorio 37
2.4 Análisis estadístico 38
2.5 Manejo del experimento 38
2.5.1 Examen clínico 39
2.6 Variable Respuesta 39
2.6.1 Vacunación 39
2.6.2 Recolección muestra de sangre 40
2.6.3 Proceso de conservación de la muestra 41
2.6.4 Envío de muestras a laboratorio 41
2.6.5 Medición de anticuerpos 41
2.6.6 Puntos de corte para interpretación de resultados 42
CAPITULO III 43
RESULTADOS Y DISCUSIÓN 43
2. 43
3. Análisis de resultados 43
3.1.1. Titulación de anticuerpos IgG ante y post vacunales del virus del Distemper canino. 43
3.1.2 Titulación de anticuerpos IgM ante y post vacunales del virus del Distemper canino. 46
3.2 Nivel de variación de titulación de anticuerpos ante y post vacunación 48
3.2.1 Nivel de variación de titulación de anticuerpos IgG ante y post vacunación 48

3.2.2 Nivel de variación de titulación de anticuerpos IgM ante y post vacunación 49
3.3 Verificación de la hipótesis 53
4.1 Conclusiones 54
4.2 Recomendaciones: 55
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 56
ANEXOS 61

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. *Resultados de anticuerpos IgG ante y post vacunales del virus del Distemper canino a través de Inmunofluoresencia indirecta.* 44

Tabla 2. *Resultados de anticuerpos IgM ante y post vacunales del virus del Distemper canino a través de Inmunofluoresencia indirecta por dilución.*..... 46

Tabla 3. *Nivel de variación de resultados de titulación de anticuerpos IgG ante y post vacunal utilizando la prueba T student (muestras apareadas)* 48

Tabla 4. Nivel de variación de resultados de titulación de anticuerpos IgM ante y post vacunal utilizando la prueba T student (muestras apareadas) 49

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. *Estructura del Virus de Distemper canino.* 19

Figura 2. *Resultados ante vacunales de los caninos muestreados para diferenciar muestreos con nivel de titulación de anticuerpos IgG negativo, bajo, medios, altos*.50

Figura 3. *Resultados post vacunales de los caninos muestreados para diferenciar muestreos con nivel de titulación de anticuerpos IgG negativo, bajo, medios, altos*.51

Figura 4. *Resultados ante vacunales de los caninos muestreados para diferenciar muestreos con nivel de titulación de anticuerpos IgM negativo, bajo, medios, altos.* 52

Figura 5. *Resultados post vacunales de los caninos muestreados para diferenciar muestreos con nivel de titulación de anticuerpos IgM negativo, bajo, medios, altos.* 53

RESUMEN

El Moquillo canino es una enfermedad viral altamente contagiosa que afecta principalmente a carnívoros. Para una mejor comprensión de la respuesta inmunológica y la efectividad de la vacunación contra esta enfermedad, se realizó una investigación detallada en la Clínica Veterinaria Dr. Pets durante un período de dos meses. El estudio se centró en evaluar los niveles de anticuerpos post-vacunales en cachorros de 2 a 3 meses de edad, los cuales fueron seleccionados bajo criterios específicos: buen estado de salud confirmado mediante examen clínico, constantes fisiológicas normales y ausencia de vacunaciones previas. La metodología empleada incluyó pruebas de inmunofluorescencia para medir la respuesta inmunológica generada tras la vacunación.

Los hallazgos de la investigación fueron significativos y reveladores. Se observó un incremento notable en los títulos de anticuerpos IgG, que pasaron de una media de 1:10 en la medición ante-vacunal a 1:120 en la post-vacunal, lo cual evidencia una respuesta inmunitaria efectiva. En contraste, los anticuerpos IgM mostraron un comportamiento diferente, con una leve reducción de 1:38.5 a 1:32. Esta disminución es consistente con la dinámica normal de la respuesta inmune, donde las IgM, si bien son los primeros anticuerpos en aparecer, se caracterizan por tener una vida media corta.

Palabras clave: Distemper canino, anticuerpos post-vacunales, inmunofluorescencia, IgG e IgM , vacunación.

ABSTRACT

Canine distemper is a highly contagious viral disease that mainly affects carnivores. For a better understanding of the immune response and the effectiveness of vaccination against this disease, a detailed investigation was conducted at Dr. Pets Veterinary Clinic over a period of two months. The study focused on evaluating post-vaccinal antibody levels in puppies from 2 to 3 months of age, which were selected under specific criteria: good health status confirmed by clinical examination, normal physiological constants, and absence of previous vaccinations. The methodology employed included immunofluorescence tests to measure the immune response generated after vaccination.

The findings of the investigation were significant and revealing. A remarkable increase in IgG antibody titers was observed, from a mean of 1:10 in the ante-vaccination measurement to 1:120 in the post-vaccination measurement, evidencing an effective immune response. In contrast, IgM antibodies showed a different behavior, with a slight reduction from 1:38.5 to 1:32. This decrease is consistent with the normal dynamics of the immune response, where IgM, although the first antibodies to appear, are characterized by a short half-life.

Key words: Canine distemper, post-vaccinal antibodies, immunofluorescence, IgG and IgM, vaccination.

CAPITULO 1
INTRODUCCIÓN

El distemper canino, también conocido como moquillo canino, representa una de las enfermedades virales más significativas que afectan a los cánidos, tanto domésticos como silvestres, esta enfermedad es causada por un virus del género Morbillivirus, el cual se caracteriza por una morbilidad y una alta mortalidad que puede alcanzar hasta el 90%, dependiendo de la cepa viral involucrada. Su importancia en la medicina veterinaria se encuentra en que no solo en su alta prevalencia, sino también en la gravedad de sus manifestaciones clínicas y su impacto en la salud pública veterinaria **(Jóźwik y Frymus, 2005)**.

El distemper canino se transmite principalmente a través de exudados respiratorios en forma de microgotas o aerosol, aunque también puede propagarse mediante diversos tejidos y secreciones corporales como orina, heces y secreciones oculares. El virus tiene una alta capacidad para infectar múltiples tipos celulares como células epiteliales, mesenquimatosas, linfocíticas y neuroendocrinas estableciendo una mayor variacion de manifestaciones clínicas que pueden presentarse **(Cárdenas, L y Moncada, D, 2017)**.

La prevención mediante los protocolos de vacunación forma una de las herramientas más efectiva para el control de esta enfermedad, sin embargo, la eficacia de la inmunización puede verse afectada por diversos factores, incluyendo la interferencia de anticuerpos maternos en cachorros y la variabilidad genética de las cepas circulantes **(Squires, R et al., 2024)**. Actualmente se ha considerado que la evaluación de la respuesta inmunológica post-vacunal mediante la medición de anticuerpos resulta fundamental para determinar la efectividad de los protocolos de inmunización y garantizar una protección adecuada.

Desde este punto de vista, la investigación sobre los niveles de anticuerpos post-vacunales contra el virus del distemper canino toma una mayor relevancia, ya que permite evaluar la eficacia de los protocolos de vacunación actuales y es de gran beneficio para al desarrollo de estrategias más efectivas para el control de la enfermedad. La determinación de los títulos de anticuerpos, tanto IgG como IgM, brinda información valiosa sobre la respuesta inmunológica y la protección obtenida por la vacunación, información importante a la hora del manejo clínico y la prevención de esta enfermedad.

MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes investigativos

Anteriormente se han realizado investigaciones sobre la determinación de anticuerpos en el virus de distemper canino, se realizó un estudio con 92 caninos mediante prueba ELISA indirecta para IgG e IgM. El 53% de la población estudiada contaba con refuerzo vacunal anual. La determinación de anticuerpos mostró que la mayoría de los caninos presentaba títulos medios de IgG (60%) y títulos altos de IgM (86%). El análisis estadístico reveló que solo las variables de edad (en caninos mayores a 1 año y mayores a 7 años) y el refuerzo vacunal anual mostraron asociación significativa con niveles altos de IgG, mientras que ninguna variable mostró asociación estadística significativa con los niveles de IgM **(Cruz, M, 2022).**

El primer estudio realizado en Perú se enfocó en la detección de anticuerpos contra el virus del distemper canino (VDC) en felinos silvestres, en dos áreas protegidas del departamento de Madre de Dios. Donde **Atauje, José et al. (2019)** analizó un total de 19 muestras mediante la prueba de Inmunofluorescencia indirecta, siendo dos muestras procedentes de Río Los Amigos y diecisiete de Tambopata/Bahuaja Sonene. Los resultados indicaron que ninguno de los felinos silvestres muestreados presentó anticuerpos contra el VDC, indicándonos que lo más probable fue que durante el período de estudio estas poblaciones no estuvieron expuestas al virus.

Por otro lado, existe un estudio en el que se centró en evaluar la respuesta inmunológica post-vacunal contra el distemper canino, la investigación se realizó con una muestra de siete cachorros, a los cuales se les aplicaron tres dosis de vacuna contra distemper, realizando análisis serológicos mediante ELISA indirecto 21 días después de cada aplicación para medir los niveles de anticuerpos IgM e IgG. En cuanto a sus resultados, indicaron que la respuesta inmunológica siguió el patrón esperado con fluctuaciones en los niveles de IgM e IgG y aunque todos los cachorros mostraron una respuesta inmunológica elevada después de la tercera dosis,

tres de los individuos no alcanzaron el título de anticuerpos considerado como protector sugiriendo así la administración de dosis adicionales para asegurar una inmunización efectiva **(Orellana, Yadira, 2018).**

Un estudio realizado en la ciudad de Cuenca tuvo como objetivo diagnosticar el distemper canino mediante la técnica de ELISA cuantitativa y ELISA cualitativa, 9 comparando los resultados obtenidos en cada una de estas pruebas. La investigación se desarrolló en 78 caninos sospechosos de padecer la enfermedad. Las muestras de sangre venosa fueron sometidas a centrifugación para obtener el suero, el cual se dividió en dos porciones: una para la realización del test rápido de distemper y otra para la técnica de ELISA cuantitativa. Los resultados mostraron que la técnica de ELISA cuantitativa detectó un 96.15% de casos positivos, mientras que la técnica de ELISA cualitativa identificó un 66.67% de casos positivos. Estos hallazgos indican que la prueba de ELISA cuantitativa presenta una mayor sensibilidad en comparación con la técnica cualitativa para el diagnóstico del distemper canino en la población analizada **(Buñay, Tatiana, s. f.).**

El estudio se realizó en 207 animales (80 adultos y 127 cachorros) de tres razas diferentes (Golden Retriever, Labrador Retriever y Perro de Montaña del Pirineo). Se extrajeron muestras de suero en diferentes momentos con relación a la vacunación y se evaluaron los títulos de anticuerpos mediante diferentes técnicas serológicas. Los principales hallazgos fueron que los perros adultos mostraron títulos superiores de anticuerpos frente a CPV y LPT, pero inferiores frente a CDV en comparación con los cachorros. La raza también se asoció con diferencias en los títulos de anticuerpos, siendo la raza Perro de Montaña del Pirineo la que mostró los valores más bajos. Además, se encontró una asociación entre el momento de la vacunación y la media del título de anticuerpos alcanzado, donde la primera vacunación produjo un aumento importante de la media del título de anticuerpos, pero posteriores vacunaciones solo un ligero aumento **(Valencia, Simón et al., 2009).**

El objetivo del estudio fue determinar la infección natural por virus del distemper canino en 81 perros sin vacunación previa, de diferentes edades, en cinco localidades de la Comunidad Campesina José Ignacio Távara Pasapera, en el departamento de Piura. Se realizaron pruebas serológicas de inmunofluorescencia indirecta y se analizaron factores de riesgo mediante regresión logística. Los resultados mostraron que el 34.6% de los perros no vacunados tenían anticuerpos contra el VDC, detectados en perros desde menos de 1 año hasta mayores de 5 años **(Santos, Jacqueline, 2014)**

1.2. Marco conceptual

1.2.1. Distemper canino

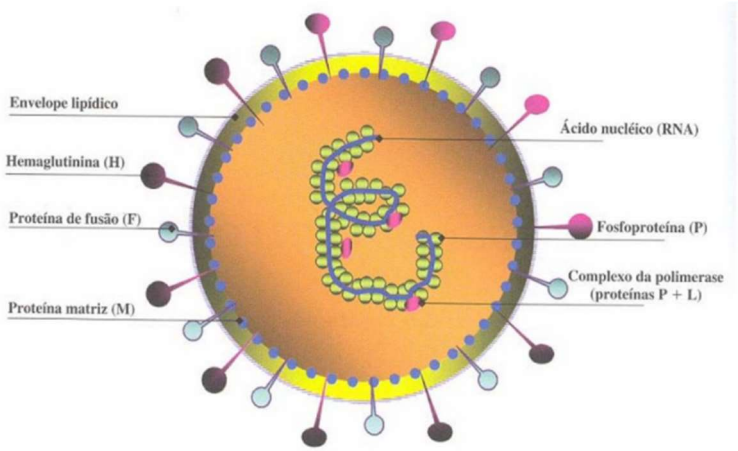
El Distemper canino también conocido como Moquillo es causado por un virus que afecta a una amplia población de animales carnívoros, se cree que tiene su origen en España alrededor del siglo XVIII debido a un registro de 1763 que menciona la muerte de 900 perros en un solo día, sin embargo, también existen documentos de 1853 que indican que el virus fue llevado desde Perú hacia España, esta enfermedad también fue reportada en España en 1760, y posteriormente, en 1764, en Italia e Inglaterra, y en 1770 en Rusia. Por lo general los perros afectados por esta enfermedad son aquellos que no han sido vacunados **(Cárdenas, L y Moncada, D, 2017).**

1.2.2. Etiología

El moquillo canino, fue identificado por primera vez por Henri Carre en 1905. El agente causal es un virus perteneciente al género Morbillivirus, dentro de la familia Paramyxoviridae, relacionandolo estrechamente con otros virus como el del sarampión y el moquillo de la foca **(Ortegon, J, 2023).**

La estructura del virus es compleja y característica de su familia, al contar con una envoltura que contiene una cadena simple de ARN de sentido negativo, con una longitud aproximada de 15,000 bases. Este genoma codifica seis proteínas estructurales fundamentales: la proteína N de la nucleocápside, las proteínas P y L relacionadas con la transcripción, la proteína M de la matriz, y dos glicoproteínas transmembranosas críticas, las proteínas H (hemaglutinina) y F (fusión). La proteína C y V son proteínas no estructurales se expresan a partir del marco de lectura de la proteína P y se las relaciona por interferir en la respuesta inmune innata **(Mira, F et al., 2018; Ortegon, J, 2023).**

Figura 1. *Estructura del Virus de Distemper canino.*



(Gomes, M, 2006)

Este virus se caracteriza por su capacidad para infectar diversos tipos de células, mostrando una gran afinidad por células epiteliales, mesenquimatosas, linfocíticas y neuroendocrinas, además se caracteriza por ser más resistente en climas fríos siendo estable por algunas semanas en climas de 0 a 4 °C e incluso sobrevivir hasta 7 años en climas de menos de 65 °C, sin embargo, es sensible a temperaturas superiores a los 50 a 60 °C llegando a destruirse en tan solo 30 minutos **(Mira, F et al., 2018; Oviedo, Y, 2021).**

1.2.3. Cepas del virus de Distemper Canino

La proteína H (hemaglutinina) del virus del moquillo canino juega un papel importante en el proceso de infección viral, al ser la proteína de membrana más variable y responsable de la unión inicial con los receptores de la célula huésped su estructura molecular es compleja, compuesta por una cola citoplasmática N-terminal corta, un dominio transmembrana y un extenso ectodominio C-terminal, que presenta una configuración única caracterizada por un tallo y un pliegue en forma de hélice beta de seis hojas (B1 a B6), cada una contiene cuatro hebras beta antiparalelas, por lo que esta variabilidad genética ha convertido al gen que codifica la proteína H en una herramienta fundamental para la tipificación de diferentes cepas virales.**(Mira, F et al., 2018).**

Varios estudios realizados a nivel mundial han permitido identificar la variabilidad genética del gen H en cepas aisladas y vacunales, estableciendo su diferenciación filogenética en distintos linajes. Actualmente, se han identificado 19 linajes diferentes distribuidos globalmente: en América existen 5 cepas diferentes, siendo la cepa 1 una de las más utilizadas en la elaboración de vacunas; en África se han identificado 2 cepas; en Asia 5, incluyendo las cepas Arctic-like y Rockborn-like; en Europa se encuentran 2 linajes, el Wildlife y el Europa 1, este último compartiendo linaje con Sudamérica 1. En la región sudamericana se han identificado 4 linajes diferentes: Sudamérica 2 (propio de Argentina), Sudamérica 3 (propio de Colombia) y Sudamérica 4 **(Oviedo, Y, 2021).**

1.2.4. Patogenia

El VDC ingresa al organismo principalmente ya sea por vía oral o nasal, mediante inhalación de aerosoles o por el contacto directo con fluidos corporales de animales infectados, también puede transmitirse a través de fómites. En cuanto a la patogenia de este virus se relaciona con dos receptores celulares principales: el CD150 (SLAM-

F1), presente en linfocitos T y B activados, macrófagos y células dendríticas las cuales tienen un papel como receptores de entrada y la nectina-4, expresado en células epiteliales y que actuando como un receptor de salida. Luego de que el virus se encuentra en el organismo, las células dendríticas y macrófagos alveolares del tracto respiratorio son las primeras en ser infectadas estas células transportan el virus hacia los linfonódulos, donde infectan células T y B a través del receptor SLAM-F1, iniciando la viremia inicial a partir de las primeras 24 horas coincidiendo con el primer pico febril, sin embargo, en ocasiones llega a superar los 40°C, y existe una marcada disminución en el recuento de glóbulos blancos y una inhibición de la actividad de proliferación linfocitaria **(Oviedo, Y, 2021; Pratakpiriya et al., 2017).**

En cuanto a la propagación a nivel sistémico se da inicio una vez el virus se propaga por vía linfática y sanguínea hacia tejidos hematopoyéticos como el bazo, timo, tejidos linfoides asociados a las mucosas, macrófagos de la lámina propia a nivel gastrointestinal y células de Kupffer, como resultado se observa una inmunosupresión que compromete severamente la capacidad del sistema inmune para responder a otras infecciones, dando paso a la facilidad de desarrollar infecciones oportunistas que contribuyen significativamente a la morbilidad y mortalidad por efecto del virus. Al momento de la segunda viremia entre los días 6-10 luego de la infección, el virus infecta células del tejido parenquimatoso en todo el organismo, incluyendo tractos gastrointestinal y urinario, sistema nervioso central, la piel y el sistema respiratorio, en este ultimo la infección epitelial ocurre a través del lado basolateral del lumen mediante el transporte de células dendríticas y linfocitos infectados, la nectina-4, localizada en las uniones de anclaje da paso al ingreso del virus al epitelio **(Atauje, José et al., 2019; Oviedo, Y, 2021).**

En cuanto a la infección del sistema nervioso central puede ocurrir por distintas vías la primera es a través del plexo coroideo, mediante células inmunes mononucleares infectadas que atraviesan la barrera hematoencefálica, por vía anterógrada a través del bulbo olfatorio, o mediante el líquido cefalorraquídeo. A pesar de que el cerebro es negativo para el receptor SLAM, hay varios tipos de células del SNC que expresan

nectina-4, incluyendo a las neuronas, células granulares, células de Purkinje, células ependimarias y meníngeas, sin embargo, los astrocitos, que son objetivos principales del virus, no expresan nectina-4, demostrando la existencia de receptores adicionales aún no identificados, a partir de esta fase el virus comienza a excretarse en todas las secreciones y excreciones desde el día 5 a partir de la infección inicial y antes del inicio de los signos clínicos, llegando a evolucionar hasta por 3 a 4 meses, aunque generalmente la eliminación viral ocurre en 1 a 2 semanas **(Oviedo, Y, 2021).**

1.2.5. Respuesta inmune ante la infección

La respuesta inmune, tanto celular como humoral, se desarrolla entre los días 9 y 14 postinfección como se desarrolla la enfermedad depende significativamente del estado inmunológico del individuo, debido a que aquellos con una respuesta inmune fuerte desarrollan títulos adecuados de anticuerpos principalmente IgG, que tienen la capacidad de eliminar el virus en aproximadamente 14 días a diferencia de aquellos animales con una respuesta inmune intermedia pueden desarrollar una infección leve con persistencia viral en pulmones, piel y sistema nervioso central y en los casos más graves se presentan en animales con una respuesta inmune débil o inadecuada, aquí el virus se disemina con mayor facilidad en diversos tejidos epiteliales, resultando en signos multisistémicos severos y por lo general con la muerte del animal, es importante desatacar que las infecciones bacterianas secundarias son comunes y agravan el cuadro clínico **(Canales. D, 2020).**

Después de la infección inicial, y el desenlace clínico dependerá fundamentalmente del estado de salud y tipo, ya que la inmunosupresión inicial puede ser especialmente severa y prolongada en cachorros por efecto del agotamiento de células T y otros mecanismos, esta característica, en conjunto con la capacidad del virus para infectar múltiples sistemas orgánicos, contribuyendo a la complejidad y severidad de la enfermedad **(Oviedo, Y, 2021).**

El proceso infeccioso inicia cuando el virus tiene contacto con el sistema inmune en las superficies mucosas, donde infecta específicamente a los linfocitos locales y células mononucleares CD150+, de inicio esta interacción es crucial, ya que el virus pone en marcha diversos mecanismos para evadir tanto la respuesta inmune innata como la adaptativa, en este punto de la infección la hemaglutinina viral juega un papel importante en el proceso infeccioso al unirse al receptor linfocitario CD150/SLAM. Esta unión resulta determinante para la presentación especifica de cada cepa viral, una vez dentro de la célula, el virus sintetiza el antigenoma e inhibe la activación del factor de transcripción NF-KB, llegando a afectar la expresión de citoquinas proinflamatorias y otros componentes inmunológicos. Las proteínas virales V y C son especialmente relevantes en la patogénesis, debido a que la V inhibe las vías de señalización de interferón y citoquinas, mientras que la C facilita el anclaje y liberación de partículas virales estables **(Deem, S et al., 2000; Mira, F et al., 2018).**

El virus utiliza las células del sistema inmune como vehículo para alcanzar los órganos linfáticos secundarios donde tiene afinidad de replicación en estos sitios, mediante la unión CD150, provocando un agotamiento de linfocitos CD4+ Th1 y afectando la actividad proliferativa de células B y T CD8+ esta fase es caracterizada por una leucopenia marcada entre el primer y séptimo día postinfección, con una reducción de hasta ¾ partes de las células mononucleares periféricas, y una alta tasa de infección en linfocitos T y B **(Deem, S et al., 2000; Mira, F et al., 2018).**.

1.2.6. Epidemiologia

Este virus representa una de las enfermedades virales más significativas que afecta tanto a cánidos silvestres como domésticos, caracterizándose por una morbilidad variable entre el 25-75% y una letalidad que puede alcanzar hasta el 90%, dependiendo de la cepa viral involucrada. En aquellos perros susceptibles desarrolla infecciones subclínicas, eliminando el virus sin manifestar signos evidentes de la enfermedad relacionándolo directamente con la diversidad de cepas existentes y su

variable afección patógena, la transmisión del virus se da principalmente a través de exudados respiratorios en forma de microgotas o aerosol, sin embargo, también se ha detectado en otras secreciones corporales como orina, heces y secreciones oculares, además de que la transmisión transplacentaria ha sido confirmada mediante estudios en cachorros criados en condiciones gnotobióticas, que desarrollaron la infección sin exposición postnatal y la eliminación de este virus se da aproximadamente en el día 7 siete post-infección, llegando a extenderse a 60-90 días sin embargo, en la mayoría de los casos son mas cortos **(García, César, 2018; Lacouture, B, 2023; Rubio, A, 2021).**

El impacto de la enfermedad varía según factores como la raza, destacando que las razas braquicéfalas presentan menor frecuencia de infección en comparación con las dolicocéfalas, a nivel celular, el virus se multiplica en varios tipos de células incluyendo las renales, pulmonares, linfocitarias y células cerebrales, causando la formación de sincitios e inclusiones intracitoplasmáticas. En cuanto a la presentacion neurológica se la ha llegado a comparar con enfermedades como la esclerosis múltiple. **(García, César, 2018; Rubio, A, 2021).**

1.2.7. Manifestaciones clínicas

La severidad y mortalidad del Distemper están indicadas por diversos factores, incluyendo la virulencia de la cepa, sus condiciones ambientales, edad y estado inmunológico del hospedero destacando que hasta el 50% de los animales infectados pueden llegar a no mostrar signos clínicos evidentes. Las manifestaciones clínicas se las clasifica en diferentes formas de presentación, cada una posee características propias de la enfermedad **(Rubio, A, 2021).**

1.2.7.1. Manifestaciones agudas

La infección inicial se caracteriza por la presencia del primer pico febril que va acompañado de letargo, deshidratación y pérdida de apetito, a partir de aquí existe una disminución de la fiebre en un periodo corto ahí se desarrolla una segunda fase febril con signos clínicas más pronunciadas, llegando a presentar conjuntivitis, tos seca, secreciones nasales y oculares, a nivel gastrointestinal presenta vómitos y diarrea sanguinolenta, en cuanto a la inmunosupresión se la relaciona con la facilidad de presentar infecciones secundarias en donde se han llegado a presentar casos de salmonelosis, toxoplasmosis y complicaciones respiratorias por diversos patógenos **(Herrera, D, 2021; Lacouture, B, 2023).**

1.2.7.2. Manifestaciones subagudas y neurológicas

En la forma subaguda, los signos respiratorios y digestivos son más leves, sin embargo, a partir de dos a tres semanas pueden aparecer manifestaciones neurológicas significativas como incoordinación, ataxia, paresia, parálisis y mioclonía, las convulsiones pueden variar según la región cerebral afectada por lo general siendo característico de la enfermedad se logra observar el patrón "goma de mascar" asociado a la poliencefalomalacia de los lóbulos temporales permitiéndonos conocer el pronostico del paciente **(Rubio, A, 2021).**

1.2.7.3. Manifestaciones crónicas y especiales

La forma crónica se presenta por lo general en perros adultos con dos variantes principales una encefalitis multifocal de progresión lenta y la encefalitis del perro viejo o encefalitis esclerosante difusa subaguda. Esta última afecta principalmente a perros mayores de seis años y se caracteriza por ataxia, movimientos circulares y alteraciones del comportamiento. La infección transplacentaria puede resultar en

abortos, muerte neonatal o nacimiento de cachorros débiles con inmunodeficiencia permanente **(Herrera, D, 2021; Lacouture, B, 2023).**

1.2.7.4. **Manifestaciones sistémicas y complicaciones**

La enfermedad puede afectar múltiples sistemas orgánicos en cachorros jóvenes, puede causar retrasos en el desarrollo dental, hipoplasia del esmalte y otras anomalías dentales, además en existen casos de lesiones óseas en las metáfisis de huesos largos mayormente en perros de razas grandes entre 3 y 6 meses, en cuanto a las manifestaciones oculares se presenta uveítis anterior, neuritis óptica y en ocasiones desprendimiento de retina y también se han observado casos de artritis reumatoidea con presencia de antígenos virales en el líquido sinovial **(Herrera, D, 2021; Lacouture, B, 2023).**

El pronóstico en cada caso varía dependiendo de la edad del animal al momento de la infección, la cepa viral involucrada y el estado inmunológico, en cuanto a los cachorros no vacunados o inadecuadamente se presenta de manera más agresiva y con mayores tasas de mortalidad. La presencia de ciertos signos clínicos, como las lesiones pustulares o la hiperqueratosis en ocasiones indica el posterior desarrollo de signos neurológicas **(Ortegon, J, 2023).**

1.2.8. Diagnóstico

Para su diagnóstico es crucial basarnos en la observación clínica en conjunto con las pruebas de laboratorio en la sospecha inicialmente suele surgir al presentrase a consulta cachorros no vacunados de entre tres y seis meses de edad que presentan síntomas característicos, sin embargo, en los casos graves suelen presentar manifestaciones clínicas distintivas suficientes para realizar un diagnóstico preliminar complementando con las pruebas de laboratorio y asi confirmando la enfermedad de manera certera **(Herrera, D, 2021).**

En el análisis de sangre se suele evidenciar varias anomalías características en los animales afectados, como la disminución de los recuentos de linfocitos y plaquetas, y, ocasionalmente, en los monocitos, los neutrófilos y los glóbulos rojos, en cuanto a la química sanguínea suele mostrar niveles reducidos de albúmina y alteraciones en las globulinas alfa y gamma, en ciertos cachorros presentan niveles reducidos de globulina en general **(Buñay, Tatiana, 2019)**.

A nivel del diagnóstico por imagen, suelen revelar patrones pulmonares distintivos, que suelen incluir patrones intersticiales en los pulmones incluso pueden llegar a presentarse patrones alveolares cuando se desarrollan infecciones bacterianas secundarias llegando a presentar una bronconeumonía. Ciertas ocasiones se realiza análisis del líquido cefalorraquídeo tomando en cuenta que en ocasiones puede arrojar falsos negativos a pesar de que exista una clara evidencia clínica de infección **(Buñay, Tatiana, 2019; Herrera, D, 2021).**

1.2.8.1. Técnicas de diagnóstico avanzadas

La prueba de inmunofluorescencia es una herramienta de diagnóstico valiosa, debido a que puede analizar muestras de diversas fuentes como tejido conjuntival, amígdalas, zona genital, epitelio respiratorio, líquido cefalorraquídeo, sangre, sedimento urinario y médula ósea. Esta diversidad en los tipos de muestras aumenta las posibilidades de detectar el virus, especialmente en casos donde la manifestación varia en su presentación y localización en el organismo del animal **(Herrera, D, 2021; Sarchahi et al., 2022).**

Para realizar esta prueba, se emplean anticuerpos específicos marcados con fluorescencia que se unen a los antígenos virales presentes en las muestras, una vez se expone la muestra a la luz ultravioleta, la unión antígeno-anticuerpo se hace

visible mediante fluorescencia, proporcionando una evidencia visual directa de la presencia del virus, ofreciendo resultados más específicos en comparación con técnicas convencionales.**(Sarchahi et al., 2022)**.

Las técnicas de inmunohistoquímica permiten detectar antígenos virales en la mucosa nasal, el epitelio de las patas y la piel del cuello, contribuyendo mayormente a un diagnóstico post mortem en donde son de utilidad tejidos de múltiples órganos, incluidos el bazo, las amígdalas, los ganglios linfáticos, el estómago, los pulmones, el duodeno, la vejiga y el cerebro, otro método que se puede emplear es la prueba de transcripción inversa la cual ofrece un diagnóstico altamente específico al detectar el ARN viral en sangre, suero y líquido cefalorraquídeo, resultando de gran utilidad en casos de moquillo sistémico o neurológico. **(Buñay, Tatiana, 2019; Sarchahi et al., 2022).**

1.2.8.2. Pruebas serológicas y aislamiento viral

La seroneutralización sigue siendo el método de referencia para evaluar la protección contra las infecciones, al medir los anticuerpos que neutralizan directamente las proteínas de la membrana viral. Estos anticuerpos por lo general aparecen entre 10 y 20 días después de la infección. **(Buñay, Tatiana, 2019).**

La prueba de inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA) demuestra una alta especificidad en la detección de antígenos y anticuerpos virales, ofreciendo un diagnóstico confiable. El aislamiento viral, si bien es posible a través de macrófagos o linfocitos activados, requiere adaptación a células epiteliales o fibroblastos siendo una técnica no muy practica para el uso rutinario de diagnóstico **(Buñay, Tatiana, 2019; Herrera, D, 2021).**

1.2.8.3. Hallazgos patológicos

El examen patológico particularmente en cachorros afectados neonatalmente suelen presentar atrofia tímica, neumonía, enteritis catarral, conjuntivitis, rinitis e inflamación del árbol traqueobronquial, la hiperqueratosis nasal y digital son comunes, a nivel del sistema nervioso central pueden presentar congestión meníngea, dilatación ventricular y aumento de la presión del líquido cefalorraquídeo que conduce a edema cerebral **(Buñay, Tatiana, 2019; Herrera, D, 2021).**

En los casos crónicos pueden existir necrosis de la sustancia blanca y cavitación, a diferencia de los casos agudos que suelen mostrar evidenciar lesiones no inflamatorias caracterizadas por desmielinización con vacuolización de la sustancia blanca y gliosis reactiva, a nivel de los astrocitos y las neuronas pueden presentar cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos o intranucleares. Los perros adultos o inmunocompetentes suelen desarrollar patrones distintivos de leucoencefalomielitis con lesiones específicas en la médula espinal **(Buñay, Tatiana, 2019; Herrera, D, 2021).**

1.2.9. Lineamientos de Vacunación

La protección contra el distemper es uno de los objetivos principales como medida de prevención en la medicina veterinaria para ello la vacunación sistemática constituye la herramienta más efectiva las directrices actuales de la WSAVA enfatizan la importancia de establecer protocolos de vacunación adaptados a las necesidades individuales de cada paciente, tomando en cuenta factores como la edad, el estado de salud, el ambiente y los riesgos de exposición específicos **(Squires, R et al., 2024)**.

Para la implementación de un programa de vacunación efectivo comienza con la comprensión de la dinámica inmunológica en los cachorros en donde las primeras

semanas de vida, los anticuerpos maternos transferidos a través del calostro proporcionan una protección temporal a pesar de que también pueden interferir con la respuesta a la vacunación representando un desafío significativo para la inmunización efectiva, ya que el nivel de anticuerpos maternos varía entre individuos y puede persistir hasta las 16 semanas de edad o incluso más. Por esta razón, el calendario de vacunación debe estar dirigido para garantizar la protección durante este período crítico **(Squires, R et al., 2024)**.

El calendario de vacunación recomendado se ha desarrollado basándose la importancia de mantener una serie de inmunizaciones durante el período de desarrollo temprano. La primera dosis debe ser administrada entre las 6 y 8 semanas de edad marcando el inicio de la construcción de la inmunidad activa, mientras que las siguientes dosis deberán ser aplicadas cada 2-4 semanas hasta las 16 semanas, buscan establecer una protección robusta a medida que disminuyen los anticuerpos maternos **(Squires, R et al., 2024)**.

1.2.9.1. Evaluación serológica

Luego de la vacunación ha emergido como una herramienta importante para confirmar la eficacia de la inmunización esta evaluación serológica se la realiza aproximadamente cuatro semanas después de la última dosis proporcionando información crucial sobre el estado inmunológico del animal. **(Squires, R et al., 2024).**

Es importante destacar que la protección contra el distemper debe considerarse en el contexto más amplio de la salud preventiva en cuanto a la vacunación no debe verse como un evento aislado, sino como parte de un programa integral que incluye evaluaciones regulares de salud, control de parasitosis y manejo adecuado del ambiente, la socialización temprana de los cachorros la cual es fundamental para su

desarrollo conductual puede llevarse a cabo de manera segura siguiendo el calendario vacunacional conforme a lo establecido **(Squires, R et al., 2024)**.

En cuanto al manejo de casos especiales, como perros adultos con historial de vacunación desconocido o incompleto, requiere un enfoque individualizado, en donde la respuesta inmune de estos casos llega a variar significativamente, y la decisión de administrar una o más dosis debe basarse en una evaluación cuidadosa de los factores de riesgo y el contexto epidemiológico local, por lo que en sitios de alto riesgo, como brotes activos o exposición conocida, puede ser prudente implementar un protocolo más agresivo de inmunización y su eficacia a largo plazo de la protección vacunal dependerá no solo de la calidad de las vacunas utilizadas sino también de la respuesta individual del animal y sus condiciones ambientales **(Squires, R et al., 2024)**.

1.2.10. Vacunas

Las vacunas polivalentes de virus atenuados, ampliamente utilizadas contra el moquillo canino, presentan limitaciones importantes en su efectividad y seguridad, como una de las principales desventajas radica en el riesgo de provocar la enfermedad, especialmente en animales inmunodeprimidos o menores de 6 meses, debido a que conservan su capacidad de inducir inmunosupresión, para ello como alternativa más segura, se han desarrollado vacunas recombinantes que utilizan antígenos específicos del virus, las cuales han demostrado mayor eficacia y generan anticuerpos con mayor durabilidad **(Cárdenas, L y Moncada, D, 2017).**

Las vacunas de virus vivo modificado (VVM) han sido el método de control más efectivo en las últimas décadas las cuales se producen a través de la adaptación del virus a células aviares o caninas, cada una con sus ventajas y limitaciones,

demostrando que las vacunas desarrolladas en células aviares son más seguras pero ofrecen menor protección, mientras que las cultivadas en células caninas pueden alcanzar una protección casi total aunque existe mayor riesgo de encefalitis postvacunal **(Cárdenas, L & Moncada, D, 2017; Orellana, Yadira, 2018).**

Un desafío importante en la vacunación es la interferencia de los anticuerpos maternos, que persisten hasta las 12-14 semanas de edad. Para superar esta limitación, se han explorado alternativas como las vacunas heterotípicas del virus del sarampión y las vacunas de ADN. Aunque la vacuna del sarampión no previene la infección, puede evitar el desarrollo de la enfermedad y se recomienda como primera dosis en cachorros **(Cárdenas, L & Moncada, D, 2017; Orellana, Yadira, 2018)**.

Las investigaciones actuales se centran en el desarrollo de vacunas que no interfieran con la inmunidad materna, principalmente mediante el uso de la proteína H como antígeno en vacunas recombinantes. Esta proteína ha demostrado ser más inmunogénica que la proteína F y ha generado resultados prometedores en diversas especies, incluyendo animales salvajes donde las vacunas convencionales pueden ser riesgosas **(Cárdenas, L & Moncada, D, 2017; Orellana, Yadira, 2018).**

Un avance significativo ha sido el desarrollo de vacunas bivalentes contra la rabia y el moquillo utilizando vectores del virus de la rabia que expresan la proteína H. Estos desarrollos han mostrado generar respuestas inmunes potentes y duraderas. También se están realizando estudios con administración intranasal de vacunas, aprovechando la ruta natural de transmisión del virus. La variabilidad genética del virus representa un desafío adicional para la vacunación. Las cepas salvajes pueden diferir significativamente de las cepas vacunales, como se ha observado en diversos países incluyendo Colombia, donde se ha identificado un nuevo linaje del virus. Esta variabilidad puede reducir la eficacia de las vacunas actuales, lo que subraya la importancia de desarrollar vacunas adaptadas a las cepas circulantes en cada región **(Cárdenas, L & Moncada, D, 2017; Orellana, Yadira, 2018).**

1.2.11. Sistema inmune

El sistema inmunológico canino constituye un complejo mecanismo de defensa que incluye barreras físicas, anatómicas y fisiológicas como primera línea de protección. La piel y las mucosas actúan como barreras físicas fundamentales, mientras que factores como la temperatura, pH y tensión superficial de oxígeno forman parte de las barreras fisiológicas. La inflamación representa un componente crucial de este sistema no específico, donde los leucocitos polimorfonucleares participan activamente en la respuesta inflamatoria aguda frente a infecciones o daños tisulares **(Arce, C, 2001; Tizard, I, 2018).**

1.2.12. Inmunidad innata

La inmunidad innata constituye la primera línea de defensa del organismo y se caracteriza por su respuesta rápida e inespecífica, en este contexto de la respuesta celular innata, los neutrófilos y macrófagos representan componentes esenciales. Estos fagocitos indican constantemente al organismo para identificar y eliminar microorganismos invasores. Los neutrófilos, abundantes en la sangre, responden rápidamente a señales de infección o daño tisular, mientras que los macrófagos, residentes en los tejidos, son particularmente eficientes en la presentación de antígenos **(Arce, C, 2001; Tizard, I, 2018)**.

1.2.13. Sistema de complemento

Otro componente crucial de la inmunidad innata comprende una serie de proteínas plasmáticas que pueden activarse por tres vías diferentes: clásica, alternativa y de las lectinas. Una vez activado, este sistema facilita la opsonización de patógenos, genera señales inflamatorias y forma complejos de ataque a la membrana capaces de lisar directamente ciertos microorganismos.

1.2.14. Inmunidad adaptativa

La inmunidad adaptativa, se desarrolla más lentamente, pero proporciona una respuesta más específica y genera memoria inmunológica, esta respuesta se produce ante una infección o posterior a la vacunación contra un agente específico. Los linfocitos T y B son los principales efectores de esta respuesta, donde los linfocitos T se dividen en subpoblaciones que incluyen células T helper (CD4+) y células T citotóxicas (CD8+)**(Arce, C, 2001; Tizard, I, 2018)**.

Los linfocitos B, responsables de la producción de anticuerpos, son fundamentales en la respuesta humoral. Las inmunoglobulinas producidas se clasifican en diferentes isotipos (IgG, IgM, IgA, IgE e IgD), cada una con funciones específica. La IgM predomina en la respuesta primaria, mientras que la IgG es más abundante en la respuesta secundaria y puede detectarse en diversos fluidos corporales. La memoria inmunológica se establece mediante células B y T de memoria, que persisten durante largos períodos y pueden responder rápidamente ante una reexposición al mismo patógeno. Este mecanismo es fundamental para la eficacia de las vacunas y la protección a largo plazo contra enfermedades **(Arce, C, 2001; Tizard, I, 2018).**

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Determinar los niveles de anticuerpos post-vacunales contra el virus del distemper canino en perros (Canis lupus familiaris) de la Clínica Veterinaria Dr. Pets.

1.3.2. Objetivos específicos

- Determinar los niveles de anticuerpos post-vacunales contra el virus del distemper canino en perros mediante la prueba de inmunofluorescencia.

- Establecer la variación en la titulación de anticuerpos anterior y posterior a la aplicación de la vacuna en cachorros de dos a tres meses.

1.4. Hipótesis

Ha: Existe variación en los niveles de anticuerpos post-vacunales contra el virus del distemper canino en perros (Canis lupus familiaris) en la Clínica Veterinaria Dr. Pets.

CAPITULO II
METODOLOGÍA

2.1 Ubicación del experimento

Este estudio se lo realizó en la Clínica Veterinaria Dr. Pets de la ciudad de Ibarra, capital de la provincia de Imbabura, se ubica en las coordenadas geográficas 0°21'46" de latitud norte y 78°07'48" de longitud oeste, en la sierra norte del Ecuador. **(GAD Municipal de San Miguel de Ibarra, 2024; Google Earth, 2022).**

2.2 Características del lugar

Se encuentra situada a 115 km al noroeste de Quito y 125 km al sur de Tulcán, a una altitud de 2.225 m.s.n.m Posee un clima seco templado con una temperatura promedio de 18°C. Ibarra cuenta con 5 parroquias urbanas y 7 rurales. Su ubicación geográfica está rodeada por elevaciones montañosas como el volcán Imbabura (4.500m), el Cubilche (3.800m) y el Cunro (3.304m) **(GAD Municipal de San Miguel de Ibarra, 2024).**

2.3 Materiales y equipos

2.3.1 Material biológico experimental

- Caninos de dos a tres meses para primo vacunación.
- Muestras de sangre
- Vacuna polivalente

2.3.2 Equipos

- Computadora
- Celular (cámara)

2.3.3 Materiales de campo

- Filipino
- Guantes de examinación
- Jeringuillas de 3ml
- Funda de torundas de algodón
- Alcohol
- Agua oxigenada

2.3.4 Materiales de laboratorio

- Suero sanguíneo
- Cámara oscura
- Incubadora a 37°C
- Centrífuga
- Portaobjetos especiales para inmunofluorescencia
- Cubreobjetos
- Micropipetas
- Puntas de micropipetas estériles
- Tubos Eppendorf
- Gradillas
- Cámara húmeda
- Temporizador o cronómetro
- Piseta con agua destilada
- Frascos de vidrio para soluciones

- Tampón fosfato salino (PBS) pH 7,2
- Anticuerpos anti-moquillo canino (primario)
- Anticuerpos anti-IgG conjugados con fluoresceína (secundario)
- Medio de montaje para fluorescencia
- Glicerina tamponada
- Azul de Evans (contraste)
- Acetona para fijación

2.4 Análisis estadístico

Se llevó a cabo un análisis estadístico mediante una prueba T de Student para muestras pareadas, con el objetivo de comparar los niveles de anticuerpos contra el virus del distemper canino antes y después de la vacunación. Las muestras de plasma fueron obtenidas de 20 cachorros seleccionados, y se evaluaron mediante inmunofluorescencia indirecta para verificar si los anticuerpos se incrementaban transcurridos 15 días después de la administración de la vacuna.

2.5 Manejo del experimento

La muestra para esta investigación se obtuvo a partir de los cachorros que acudieron a consulta entre el 1 de octubre y el 30 de noviembre, siempre que cumplan con los criterios de inclusión establecidos. Estos criterios contemplan perros de entre dos y tres meses de edad, asegurando así una población de estudio específica y adecuada para los objetivos de la investigación.

Para garantizar la validez y representatividad de los resultados, se han establecido criterios de exclusión rigurosos. Se descartaron aquellos animales que ya hayan sido vacunados, que no gocen de buena salud, que no presenten una condición corporal adecuada o que no provengan de un ambiente sano y libre de estrés. Estas medidas

permitirán evaluar con precisión los niveles de anticuerpos y la respuesta inmune posterior a la vacunación.

2.5.1 Examen clínico

Con la finalidad de obtener la mayor cantidad de información y el cumplimiento de los criterios de inclusión y exclusión todos los pacientes que llegaron a consulta en la Clínica Veterinaria Dr. Pets se les realizó un examen clínico general, comenzando desde la anamnesis. Durante este proceso, se evaluaron aspectos como la actitud, comportamiento, peso, estado corporal, y parámetros fisiológicos como la frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, temperatura y auscultación **(Brejov, Gregorio, 2014).**

2.6 Variable Respuesta

2.6.1 Vacunación

- Se sujeto al perro y se lo mantuvo seguro y tranquilo durante la vacunación.
- Limpiamos el área de inyección y fue aplicada por vía subcutánea en el área del cuello.
- Utilizando una jeringa estéril y una aguja nueva, se insertó la aguja en el área preparada y se inyecto lentamente la dosis completa de la vacuna.
- Se registró la fecha de vacunación, el lote y el tipo de vacuna administrada en el historial médico del perro.

2.6.2 Recolección muestra de sangre

Una vez que haya transcurrido el tiempo de espera de 15 días para una correcta respuesta inmune se procedió con la recolección de una muestra de sangre para su debido análisis en el laboratorio **(Rubio, Alicia. et al., 2018)**

- Se coloco al perro en posición de decúbito esternal (acostado sobre su pecho) con el cuello extendido y ligeramente inclinado hacia el lado opuesto a la vena yugular que se va a extraer.
- Se inmovilizo al animal firmemente. Con un brazo se le sujeto la cabeza y con el otro brazo, rodeamos la parte delantera del pecho del perro para bloquear los movimientos.
- Se mantuvo al canino inmovilizado y tranquilo durante el procedimiento si el animal es dócil fue suficiente con la sujeción, pero en caso de animales nerviosos o agresivos, fue necesario el uso de un bozal.
- Una vez que el animal estuvo bien sujeto, se presionó manualmente la región inferior del cuello hasta localizar y visualizar la vena yugular.
- Se limpio el área con un algodón de alcohol para desinfectar y mejorar la visibilidad de la vena.
- Se introdujo la aguja conectada a la jeringa en la vena yugular, con el bisel orientado hacia arriba, para extraer la muestra de sangre requerida.
- Se coloco la sangre extraída a tubos de recolección (tubo tapa roja), llenando hasta la señal que indica el tubo.
- Se etiqueto la muestra con la fecha de recolección de la muestra y la información del paciente.

  (Fonza, Daniel, 2021)

2.6.3 Proceso de conservación de la muestra

La obtención del suero sanguíneo se realizó mediante un proceso sistemático que comenzó con el reposo de la muestra durante 30-40 minutos para permitir la formación adecuada del coágulo. Posteriormente, se procedió a la centrifugación de la muestra, y utilizando una micropipeta con punta estéril, se extrajo cuidadosamente el suero sobrenadante. Este se transfirió a un tubo de recolección previamente identificado con los datos del paciente, el cual fue colocado en una gradilla y almacenado bajo congelación para su conservación hasta completar la recolección de todas las muestras del estudio, permitiendo así su envío simultáneo al laboratorio .

2.6.4 Envío de muestras a laboratorio

Cada tubo con la muestra se colocó en una caja con gradillas que lo fijen, esta caja fue de un material aislante de temperatura poniendo las muestras temperatura adecuada a con la ayuda de gel refrigerante y en esta la información que sea requerida por el laboratorio enviándola sellada y etiquetada con una señal de "Manéjese con cuidado- muestras biológicas para análisis" **(Viteri, Rosa, 2024)**.

2.6.5 Medición de anticuerpos

La determinación de anticuerpos contra el virus del distemper canino se llevó a cabo mediante la técnica de inmunofluorescencia, seguido de una preparación de un extendido y la fijación con acetona fría a partir de aquí se preparan diluciones seriadas en donde se toma una muestra del suero del paciente inicialmente 100µl y se van añadiendo 900µl de la solución buffer obteniendo una dilución de 1:10 a partir de esto se van tomando 500µl de la solución anterior y se añade 500µl de solución buffer en cada muestra para obtener las siguientes diluciones (1:40, 1:80, 1:160, 1:320) hasta donde exista una notable fluorescencia de la reacción antígeno

anticuerpo, seguido de esto se realizó la incubación del suero con los antígenos virales previamente fijados en el portaobjetos. Los anticuerpos presentes en las muestras de los pacientes se adhirieron específicamente a estos antígenos virales, formando complejos antígeno-anticuerpo. Posteriormente, se incorporó un anticuerpo secundario conjugado con fluorocromo, el cual se unió selectivamente a los anticuerpos del paciente. La visualización se efectuó mediante la exposición del portaobjetos a luz ultravioleta bajo microscopio de fluorescencia, donde la emisión fluorescente observada fue directamente proporcional a la concentración de anticuerpos presentes en la muestra **(Atauje, José et al., 2019).**

2.6.6 Puntos de corte para interpretación de resultados

La interpretación de los resultados de la titulación de anticuerpos contra el virus del Distemper canino mediante la prueba de inmunofluorescencia indirecta se basa en cuatro categorías definidas por puntos de corte específicos establecidos por el laboratorio:

- Un título negativo (< 1:20) determina la ausencia o niveles muy bajos de anticuerpos.
- Los títulos bajos (1:20 - 1:40) señala una respuesta inmunológica inicial o residual sin llegar a ser protectora.
- Los títulos medios (1:80 – 1:160) indica una respuesta inmunológica moderada y parcialmente protectora.
- Los títulos altos (≥ 1:320) determina una protección y respuesta inmune fuerte.

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3. Análisis de resultados

3.1.1. Titulación de anticuerpos IgG ante y post vacunales del virus del Distemper canino.

Tabla 1. *Resultados de anticuerpos IgG ante y post vacunales del virus del Distemper canino a través de Inmunofluoresencia indirecta.*

N°	IDENTIFICACIÓN	Edad (meses)	Resultado ante-vacunal IgG (dilución)	Resultado post-vacunal IgG (dilución)
1	9476 Cocoa	2	1:10	1:80
2	9440 Max	2	1:10	1:80
3	9420 S/N	2	<1:20	1:160
4	9422 S/N	2	1:10	1:80
5	9423 Teddy	2	<1:20	1:160
6	9425 Dior	2	1:10	1:160
7	9426 Harry	2	1:10	1:80
8	9427 Chanel	2	<1:20	1:160
9	9510 Kiara	3	<1:20	1:160
10	9466 Cody	2	<1:20	1:80
11	9547 Fiona	3	<1:20	1:160
12	9482 S/N	2	<1:20	1:80
13	9531 Sofía	2	1:10	1:80
14	9600 Perseo	3	1:10	1:160
15	9629 Max	3	1:10	1:80
16	9632 Kira	3	1:10	1:160
17	9645 Mufasa	2	<1:20	1:80
18	9643 S/N	2	1:10	1:160
19	9641 Clarita	2	1:10	1:80
20	9642 S/N	2	1:10	1:160
Media			1:10	1:120

Nota: N° cantidad de caninos; Identificación: número de historia clínica de la base de datos de la clínica y el nombre de la mascota; Dilución: proporción existente entre muestra y diluyente.

Los resultados del estudio demostraron una efectiva respuesta inmunológica frente a la vacunación contra el virus del Distemper canino, evidenciada por un aumento significativo en los títulos de anticuerpos IgG, que se incrementaron desde una media de 1:10 en la medición pre-vacunal hasta 1:120 post-vacunación. Este marcado incremento en los niveles de anticuerpos se explica por la activación del sistema inmune adaptativo, donde las células presentadoras de antígeno procesan y presentan componentes virales de la vacuna a los linfocitos T colaboradores. Estos últimos, a su vez, estimulan a los linfocitos B para que se diferencien en células plasmáticas productoras de anticuerpos IgG específicos contra el virus. La memoria inmunológica generada por las células B y T asegura una respuesta más rápida y efectiva ante futuras exposiciones al virus del Distemper, proporcionando así una protección duradera al animal vacunado **(Tizard, I, 2018)**. Por otra parte en la investigación de, **Orellana, Yadira (2018),** indica que en el la relación existente entre titulación de anticuerpos antes y después de la primera vacuna hay una leve reducción de la cantidad de IgG sugiriendo la necesidad de una segunda vacunación relacionándolo directamente con la edad de los caninos y la interferencia de la inmunidad maternal, mientras que en la investigación de **Morales, D (2016)** indica que aquellos perros con una titulación de anticuerpos del parvovirus canino previo a la vacunación de ≤1:32 y una 15 días posterior a la vacunación se observó un incremento significativo a una titulación entre 1:128 y 1:256.

3.1.2 Titulación de anticuerpos IgM ante y post vacunales del virus del Distemper canino.

Tabla 2.

Resultados de anticuerpos IgM ante y post vacunales del virus del Distemper canino a través de Inmunofluoresencia indirecta por dilución.

N°	IDENTIFICACIÓN	Edad (meses)	Resultado ante-vacunal IgM (dilución)	Resultado post-vacunal IgM (dilución)
1	9476 Cocoa	2	1:80	1:80
2	9440 Max	2	1:80	1:80
3	9420 S/N	2	1:40	<1:20
4	9422 S/N	2	1:80	1:80
5	9423 Teddy	2	1:40	1:40
6	9425 Dior	2	1:10	1:10
7	9426 Harry	2	1:40	1:40
10	9427 Chanel	2	1:10	1:10
9	9510 Kiara	3	1:10	1:10
10	9466 Cody	2	1:10	1:10
11	9547 Fiona	3	1:10	1:10
12	9482 S/N	2	1:80	1:80
13	9531 Sofía	2	1:80	1:80
14	9600 Perseo	3	1:40	1:40
15	9629 Max	3	1:10	1:10
16	9632 Kira	3	1:10	1:10
17	9645 Mufasa	2	1:10	1:10
18	9643 S/N	2	1:10	1:10
19	9641 Clarita	2	1:40	<1:20
20	9642 S/N	2	1:80	<1:20
Media			1:38,50	1:32

Nota: N° cantidad de caninos; Identificación: número de historia clínica de la base de datos de la clínica y el nombre de la mascota; Dilución: proporción existente entre muestra y diluyente.

El análisis de la respuesta de anticuerpos IgM mostró un patrón interesante, con una disminución moderada en los títulos desde 1:38,5 en la fase pre-vacunal a 1:32 post-vacunación, observándose que el 15% de los pacientes de dos meses de edad experimentaron una reducción en la titulación, mientras que el 85% restante, con edades entre dos y tres meses, mantuvieron sus niveles estables. Este comportamiento inmunológico se explica por la naturaleza de los anticuerpos IgM, que son los primeros en aparecer en la respuesta inmune primaria y típicamente disminuyen a medida que la respuesta inmune madura. La reducción observada en los cachorros más jóvenes podría atribuirse a la interferencia con anticuerpos maternos residuales, que pueden persistir hasta las 16 semanas de edad. A medida que estos anticuerpos maternos se degradan naturalmente, permiten una respuesta inmune más efectiva en los cachorros de mayor edad. Al contrastar estos hallazgos, **Orellana, Yadira (2018)** observó que en su estudio, dos de siete cachorros presentaron un aumento en la titulación de anticuerpos, atribuyendo este fenómeno principalmente a que fueron inmunizados a los 45 días de edad, cuando la inmunidad maternal aún interfiere en la generación de anticuerpos de memoria. **(Tizard, I, 2018).**

3.2 Nivel de variación de titulación de anticuerpos ante y post vacunación

3.2.1 Nivel de variación de titulación de anticuerpos IgG ante y post vacunación

Tabla 3.

Nivel de variación de resultados de titulación de anticuerpos IgG ante y post vacunal utilizando la prueba T student (muestras apareadas)

Variables	N	Media	Media (dif)	DE	DE (dif)	T calculado	P valor
Resultado ante-vacunal	20	10	-110	10	41,04	-11,99	<0,0001
Resultado post-vacunal	20	120		80			

Nota: Cantidad de caninos; Media (dif): Diferencia entre media de resultado ante – vacunal y media de resultado post - vacunal; DE (dif): Diferencia entre desviación estándar de resultado ante – vacunal y desviación estándar de resultado post - vacunal; T calculado: Número de unidades estándares que separan las medias de ambas variables; P valor: Grado de compatibilidad entre ambas variables (debe ser menor a $p<0.005$).

Los resultados obtenidos revelaron diferencias estadísticamente significativas en los valores de titulación ante y post vacunal del virus del distemper canino, con un p valor <0,0001, siendo menor que el valor establecido ($p<0.005$). **Morales, D (2016)**, reportó hallazgos similares en su investigación, donde los sujetos con titulación previa a la vacunación mostraron un incremento significativo posterior a la inmunización. De manera análoga, **Orellana, Yadira (2018),** documentó diferencias estadísticamente significativas entre las titulaciones posteriores a cada vacuna, observando un incremento gradual en la curva inmunológica durante todo el calendario vacunacional, alcanzando la mayor titulación tras la aplicación de la tercera vacuna.

3.2.2 Nivel de variación de titulación de anticuerpos IgM ante y post vacunación

Tabla 4.

Nivel de variación de resultados de titulación de anticuerpos IgM ante y post vacunal utilizando la prueba T student (muestras apareadas)

Variables	N	Media	Media (dif)	DE	DE (dif)	T calculado	P valor
Resultado ante-vacunal	20	38,5	6,5	30,48	17,55	1,66	0,1142
Resultado post-vacunal	20	32		30,37			

Nota: Cantidad de caninos; Media (dif): Diferencia entre media de resultado ante – vacunal y media de resultado post - vacunal; DE (dif): Diferencia entre desviación estándar de resultado ante – vacunal y desviación estándar de resultado post - vacunal; T calculado: Número de unidades estándares que separan las medias de ambas variables; P valor: Grado de compatibilidad entre ambas variables (debe ser menor a $p<0.005$).

A partir de los resultados obtenidos, la diferencia no fue estadísticamente significativa, con un resultado del p valor de 0.1142, valor superior al establecido ($p<0.005$). Este hallazgo coincide con lo reportado por **Orellana, Yadira (2018),** quien tampoco encontró valores estadísticamente significativos en el aumento de las IgM durante el calendario completo de vacunación. La estabilidad relativa en los niveles de IgM durante el proceso de inmunización sugiere la persistencia de la inmunidad innata en los caninos hasta las 16 semanas de edad o más. Según **Squires, R et al. (2024) y Tizard, I (2018)**, esta disminución gradual continuará presentándose hasta que finalice el período de interferencia de la inmunidad maternal.

Como un aporte adicional a la investigación se buscó evidenciar como fue el comportamiento de las inmunoglobulinas antes de la vacunación y posterior a la vacunación con respecto a si la titulación si fue negativa, baja, media o alta

Figura 2.

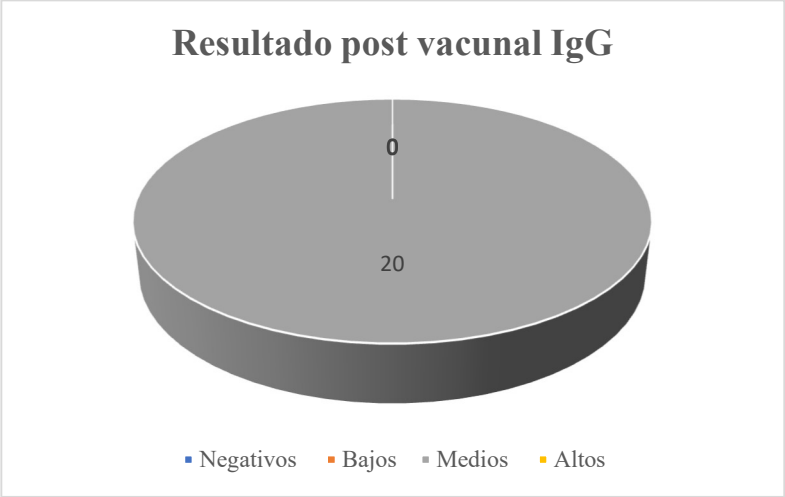
Resultados ante vacunales de los caninos muestreados para diferenciar muestreos con nivel de titulación de anticuerpos IgG negativo, bajo, medios, altos.



De acuerdo con los resultados obtenidos en el análisis de las muestras caninas mediante inmunofluorescencia indirecta, se observó un patrón consistente en los 20 pacientes evaluados con una media 1:10 en los resultados ante vacunales determinado así titulaciones negativas en el 100% de los casos acorde a los puntos de corte establecidos por el laboratorio.

Figura 3.

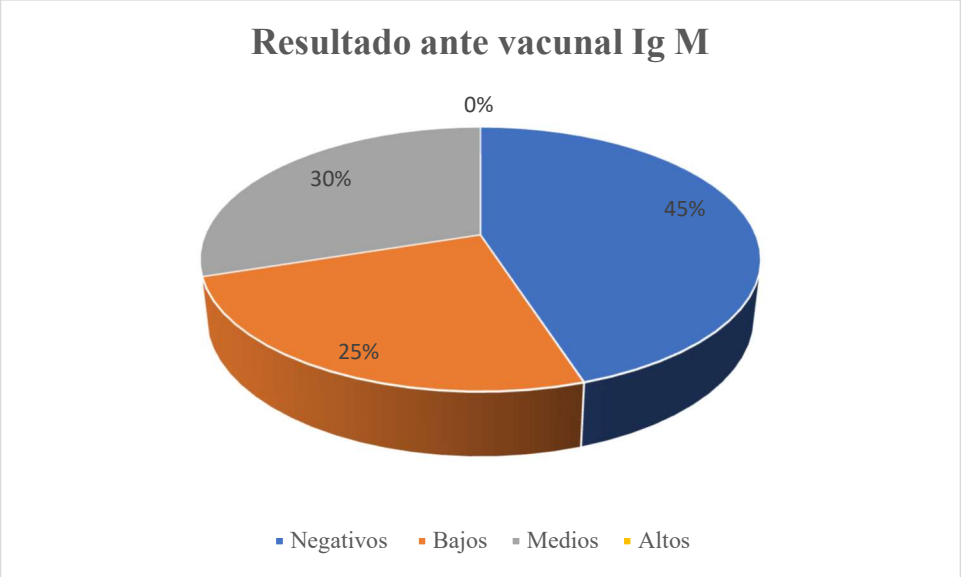
Resultados post vacunales de los caninos muestreados para diferenciar muestreos con nivel de titulación de anticuerpos IgG negativo, bajo, medios, altos.



A diferencia de los resultados ante vacunales los resultados post-vacunación, se detectó una media de 1:120, este hallazgo sugiere que todos los pacientes desarrollaron una respuesta inmune moderada, ubicándose en el rango de títulos medios en el 100% de los casos acorde a los puntos de corte establecidos, sin embargo, es necesario la aplicación de las demás dosis de la vacuna para alcanzar una inmunidad completa y protectora.

Figura 4.

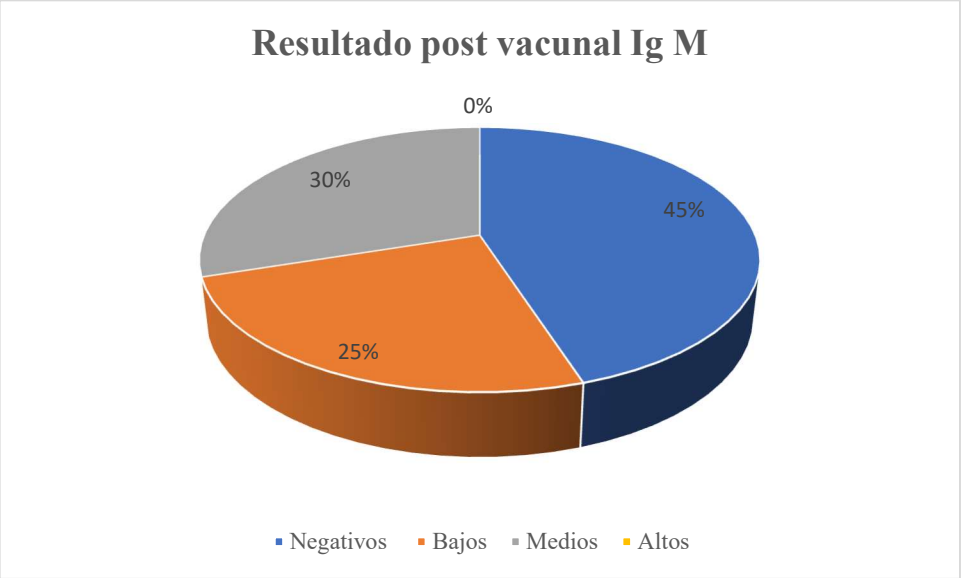
Resultados ante vacunales de los caninos muestreados para diferenciar muestreos con nivel de titulación de anticuerpos IgM negativo, bajo, medios, altos.



Los resultados de la inmunofluorescencia indirecta para la detección de anticuerpos IgM mostraron una distribución variable antes y después de la vacunación en los caninos estudiados. En la evaluación ante-vacunal, se identificaron 12 caninos que corresponde al 60% con resultados negativos, 3 casos que corresponde al 15% con títulos bajos, y 5 pacientes que corresponde al 25% con títulos medios.

Figura 5.

Resultados post vacunales de los caninos muestreados para diferenciar muestreos con nivel de titulación de anticuerpos IgM negativo, bajo, medios, altos.



Mientras que, en la medición post-vacunal, se observaron cambios en la distribución con respecto a la primera muestra antes de la vacuna, registrándose 9 caninos que corresponde al 45% con resultados negativos, 5 casos que corresponde al 25% con títulos bajos, y 6 pacientes que corresponde al 30% con títulos medios. Es importante destacar que en ninguna de las dos mediciones se registraron títulos altos, evidenciando una dinámica de cambio en los niveles de anticuerpos IgM tras la intervención vacunal, aunque manteniendo una distribución predominantemente en los rangos negativos a medios.

3.3 Verificación de la hipótesis

Si existió una variación en los niveles de anticuerpos post-vacunales contra el virus del distemper canino en perros (Canis lupus familiaris) en la Clínica Veterinaria Dr. Pets.

IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

- Se logro evidenciar una respuesta inmunológica significativa donde los niveles de anticuerpos IgG aumentaron considerablemente desde los ante-vacunal a los resultados post-vacunales confirmando la efectividad de la vacunación en cachorros de dos a tres meses, mientras que, la evaluación de anticuerpos IgM mostró una disminución moderada de los resultados previos a la vacunación con los resultados post-vacunación, lo cual refleja una respuesta inmunológica normal donde predominan los anticuerpos IgG que mantendrán la protección a largo plazo.

- El estudio reveló variaciones significativas en la respuesta inmunológica de caninos de 2 a 3 meses tras la vacunación. Específicamente, se observó un aumento estadísticamente significativo en los niveles de IgG, mientras que los niveles de IgM no mostraron una variabilidad estadísticamente significativa, en ciertos casos existió una disminución y de manera general se mantuvieron dentro de los mismos valores sugiriendo una respuesta inmune acorde al tipo de anticuerpo evaluado.

-

4.2 Recomendaciones:

- Se recomienda mantener calendarios de revacunación anuales especialmente antes de la gestación para garantizar una respuesta inmune materna óptima, asegurando así una inmunidad pasiva eficaz en los cachorros. Este enfoque protege a las crías durante sus ventanas de susceptibilidad, cubriendo los períodos críticos de vacunación inicial y revacunación.

- Basado en los resultados de esta investigación, se recomienda la vacunación inicial de cachorros entre los 2 y 3 meses de edad, periodo en el que se demostró una generación de respuesta inmune efectiva a largo plazo, complementada con un período de revacunación a los 21 días para optimizar la protección inmunológica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Arce, C. (2001). *ANTICUERPOS MONOCLONALES ESPECÍFICOS DE INMUNOGLOBULINA G CANINA: CARACTERIZACIÓN Y APLICACIÓN EN INMUNOENSAYOS* [Universidad de Córdoba]. https://helvia.uco.es/xmlui/bitstream/handle/10396/305/13076334.pdf;jsessionid=08B3B92E6B12A95F37D5B08E0E35DB1E?sequence=1

Atauje, José, Ramírez, Mercy, Zuñiga, Alfonso, Ospina, Pedro, Navarro, Dennis, & Rivera, Hermelinda. (2019). Detección de anticuerpos contra el virus de distemper canino en jaguares (Panthera onca) y pumas (Puma concolor) en Madre de Dios, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v30i1.15693

Brejov, Gregorio. (2014). *Semiología Veterinaria Medicina 1*. https://www.fvet.uba.ar/archivos/catedras/semiologia/semiologia_guia_completa.pdf

Buñay, Tatiana. (s. f.). *Diagnóstico comparativo de moquillo en caninos (Canis lupus familiaris) machos y hembras mediante la técnica ELISA cuantitativa y ELISA cualitativa*.

Buñay, Tatiana. (2019). *Diagnóstico comparativo de moquillo en caninos (canis lupus familiaris) machos y hembras mediante la técnica ELISA cuantitativa y ELISA cualitativa* [Universidad Politécnica Salesiana]. https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/17819/1/UPS-CT008428.pdf

Canales. D. (2020). *Virus del distemper canino: Revisión actualizada del agente y la patogenia de la enfermedad* [Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. https://core.ac.uk/download/pdf/326003111.pdf

Cárdenas, L & Moncada, D. (2017). *Distemper Canino, Revisión Sistemática* [Universidad Tecnológica de Pereira]. https://repositorio.utp.edu.co/server/api/core/bitstreams/f83f25c5-e7b8-492b-bbbd-84726feae67d/content

Cruz, M. (2022). *Determinación de Títulos de Anticuerpos Anti-Moquillo en Caninos de Bucaramanga y su Área Metropolitana* [Universidad de Santander].

https://repositorio.udes.edu.co/server/api/core/bitstreams/d64d0ab2-f62d-4b43-99b6-c6a222856e7b/content

Deem, S, Spelman, L, Yates, R, & Montali, R. (2000). *Canine distemper in terrestrial carnivores: A review*. https://doi.org/10.1638/1042-7260(2000)031[0441:CDITCA]2.0.CO;2

Fonza, Daniel. (2021). *Cómo hacer análisis de sangre a un perro como técnico veterinario*. https://www.ehowenespanol.com/analisis-sangre-perro-tecnico-veterinario-como_138739/

GAD Municipal de San Miguel de Ibarra. (2024). *Actualización plan de desarrollo y ordenamiento territorial del cantón ibarra 2015-2023*. https://www.imbabura.gob.ec/phocadownloadpap/K-Planes-programas/PDOT/Cantonal/PDOT%20IBARRA.pdf

García, César. (2018). *Genotipificación del virus del moquillo canino aislado de perros enfermos y su relación con la eficacia del tratamiento antiviral con nanopartículas de plata.* [Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California]. https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1007/3249/1/C%C3%A9sar%20Augusto%20Garc%C3%ADa%20Aguirre_2018.pdf

Gomes, M. (2006). *Estudo comparativo entre as técnicas de Imunofluorescência Direta, Imunofluorescência Indireta e Coloração de Sellers em amostra de tecido nervoso de cães e de animais silvestres para o diagnóstico da cinomose* [Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro]. https://tede.ufrrj.br/jspui/bitstream/tede/854/1/2006%20-%20Michelle%20Gomes%20Barreto.pdf

Google Earth. (2022). https://earth.google.com/web/search/Ibarra/@0.34219577,-78.11992925,2224.69910999a,13030.61249709d,35y,0h,0t,0r/data=CnEaRxJBCiUweDhlMmEzY2ExNzg1YjM3NWQ6MHg4NTcwM2YxMzNlMDU2YWRiGRsZmqGnN9Y_IQ_JNap4iFPAKgZJYmFycmEYAiABIiYKJAlMmIACjsnYPxG3b2WGCfjTPxntrgSOp4JTwCGp7M2dpI1TwDoDCgEw

Herrera, D. (2021). *Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Magíster en Ciencias Veterinarias.* [Universidad Técnica de Cotopaxi].

https://repositorio.utc.edu.ec/server/api/core/bitstreams/13eaded1-a253-4412-b526-15b81d395506/content

Jóźwik, A., & Frymus, T. (2005). Comparison of the Immunofluorescence Assay with RT-PCR and Nested PCR in the Diagnosis of Canine Distemper. *Veterinary Research Communications*, *29*(4), 347-359. https://doi.org/10.1023/B:VERC.0000048528.76429.8b

Lacouture, B. (2023). *Caracterización Hematológica en Caninos Diagnosticados con Distemper Canino en el Laboratorio Clínico QVet Durante el Año 2022 en Valledupar, Colombia* [Universidad de Santander]. https://repositorio.udes.edu.co/server/api/core/bitstreams/30d5eee4-c49a-4d5d-988e-338e840a0c9f/content

Mira, F, Purpari, G, De Bella, S, Vicari, D, Schirò, G, Di Marco, P, Macaluso, G, Battilani, M, & Guercio, A. (2018). Update on canine distemper virus (CDV) strains of Arctic-like lineage detected in dogs in Italy. *Veterinaria Italiana*, *3*, 225-236. https://doi.org/10.12834/VetIt.1455.7862.2

Morales, D. (2016). *Determinación de anticuerpos igg contra parvovirus canino tipo 2 en perros inmunizados con dos diferentes protocolos de vacunación.* [Universidad Autónoma de Estado de México]. http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/65605/TESIS%20COMPLETA.pdf

Orellana, Yadira. (2018). *Análisis del comportamiento de la curva inmunológica frente a la aplicación de un protocolo de vacunación de distemper en una camada de 7 cachorros en el cantón Quito.* [Universidad de las Americas]. https://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/9862/1/UDLA-EC-TMVZ-2018-37.pdf

Ortegon, J. (2023). *Actualización en el diagnóstico y tratamiento para el virus del distemper canino.* https://repository.ucc.edu.co/entities/publication/d6e1e1ca-fe92-451d-b6eb-3c640b4dbd6e

Oviedo, Y. (2021). *Diferenciación de cepas de campo y vacunales del virus del Distemper canino en perros infectados naturalmente* [Universidad Nacional Mayor de San

Marcos]. https://cybertesis.unmsm.edu.pe/backend/api/core/bitstreams/fabe2f34-5c09-44e5-963c-3a915eea241b/content

Pratakpiriya, W., Ping Teh, A. P., Radtanakatikanon, A., Pirarat, N., Thi Lan, N., Takeda, M., Techangamsuwan, S., & Yamaguchi, R. (2017). Expression of canine distemper virus receptor nectin-4 in the central nervous system of dogs. *Scientific Reports*, *7*(1), 349. https://doi.org/10.1038/s41598-017-00375-6

Rubio, A. (2021). *Prevalencia de Distemper canino en Canis lupus familiaris que asisten a consulta en la Clínica Veterinaria Zamora en el sur de la ciudad de Guayaquil.* [Universidad Católica de Santiago de Guayaquil]. http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/16145/1/T-UCSG-PRE-TEC-CMV-100.pdf

Rubio, Alicia., Martínez, Ricardo, Guzmán, Héctor, Chávez, Fernando, De la Colina, Gabriela, Salazar, José, Ramírez, Ignacio, Autrán, Helio, & Guerrero, Jorge. (2018). Guías para la vacunación de perros (caninos) y gatos (felinos) en Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172018000400043

Santos, Jacqueline. (2014). *Presencia de anticuerpos contra el virus de distemper canino en perros domésticos (Canis lupus familiaris) de áreas rurales habitadas por el zorro de sechura (Lycalopex sechurae)* [Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. https://core.ac.uk/download/pdf/323353249.pdf

Sarchahi, A. A., Arbabi, M., & Mohebalian, H. (2022). Detection of canine distemper virus in cerebrospinal fluid, whole blood and mucosal specimens of dogs with distemper using RT-PCR and immunochromatographic assays. *Veterinary Medicine and Science*, *8*(4), 1390-1399. https://doi.org/10.1002/vms3.790

Squires, R, Crawford, C, Marcondes, M, & Whitley, N. (2024). *Pautas para la vacunación de perros y gatos 2024 – compilado por el Grupo de Directrices de Vacunación (GDV) de la Asociación Mundial de Veterinarios de Pequeños Animales (WSAVA)*. https://wsava.org/wp-content/uploads/2024/05/ESP.-J-of-Small-Animal-Practice-2024-Squires-2024-guidelines-for-the-vaccination-of-dogs-and-cats-compiled-by-the.pdf

Tizard, I. (2018). *Inmunología Veterinaria*. Elsevier Health Sciences.

Valencia, Simón, Rodriguez, Ortega, & Martinez, Alonso. (2009). Estado immune humoral frente al virus del Moquillo canino, el Parvovirus canino y Leptospiras en un criadero. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*. https://www.redalyc.org/pdf/636/63611961015.pdf

Viteri, Rosa. (2024). *Determinación de la titulación de anticuerpos post vacunales en Leucemia Viral Felina mediante ensayo inmunoenzimático de tipo indirecto en gatos de diferentes edades* [Universidad Técnica de Ambato]. https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/41373/1/056%20Veterinaria%20-%20Viteri%20Ortiz%20Rosa%20Noemi.pdf

ANEXOS

Anexo 1. Recopilación de datos de caninos seleccionados.

N°	IDENTIFICACIÓN	Edad (meses)	Raza	Sexo	Convive con mas animales	Antecedentes de enfermedades	Frecuencia cardiaca	Frecuencia Respiratoria	Temperatura	Posturas anormales	Condición corporal
1	9476 Cocoa	2	Mestizo	Hembra	No	No	En rango	En rango	En rango	No	3
2	9440 Max	2	Pastor Belga	Macho	Si	No	En rango	En rango	En rango	No	3
3	9420 S/N	2	Bulldog Frances	Hembra	Si	No	En rango	En rango	En rango	No	4
4	9422 S/N	2	Bulldog Frances	Hembra	Si	No	En rango	En rango	En rango	No	3
5	9423 Teddy	2	Bulldog Frances	Macho	Si		En rango	En rango	En rango	No	4
6	9425 Dior	2	Bulldog Frances	Macho	Si	No	En rango	En rango	En rango	No	3
7	9426 Harry	2	Bulldog Frances	Macho	Si	No	En rango	En rango	En rango	No	3
10	9427 Chanel	2	Bulldog Frances	Hembra	Si	No	En rango	En rango	En rango	No	4
9	9510 Kiara	3	Pastor Belga	Hembra	Si	No	En rango	En rango	En rango	No	3
10	9466 Cody	2	Dachshund	Macho	No	No	En rango	En rango	En rango	No	3
11	9547 Fiona	3	Mestizo	Hembra	No	No	En rango	En rango	En rango	No	3
12	9482 S/N	2	Shih Tzu	Hembra	Si	No	En rango	En rango	En rango	No	3
13	9531 Sofía	2	Mestizo	Hembra	No	No	En rango	En rango	En rango	No	3
14	9600 Perseo	3	Pastor Australiano	Macho	Si	No	En rango	En rango	En rango	No	3
15	9629 Max	3	Chihuahua	Macho	Si	No	En rango	En rango	En rango	No	4
16	9632 Kira	3	Yorkshire	Hembra	Si	No	En rango	En rango	En rango	No	3
17	9645 Mufasa	2	Yorkshire	Macho	Si	No	En rango	En rango	En rango	No	3
18	9643 S/N	2	Yorkshire	Hembra	Si	No	En rango	En rango	En rango	No	3
19	9641 Clarita	2	Yorkshire	Hembra	Si	No	En rango	En rango	En rango	No	3
20	9642 S/N	2	Yorkshire	Macho	Si	No	En rango	En rango	En rango	No	3

Anexo 2. *Resultados de datos estadísticos a través del programa Infostat*

Prueba T (muestras apareadas)

Obs(1)	Obs(2)	N	media(dif)	Media(1)	Media(2)	DE(dif)	T
Resultado ante-vacunal IgG..	Resultado post-vacunal IgG..	20	-110,00	10,00	120,00	41,04	-11,99

Prueba T (muestras apareadas)

Obs(1)	Obs(2)	N	media(dif)	DE(dif)	LI(95%))	LS(95%))	T	Bilateral
Resultado ante-vacunal IgG..	Resultado post-vacunal IgG..	20	-110,00	41,04	-129,21	-90,79	-11,99	<0,0001

Medidas resumen

Variable	n	Media	D.E.	Mín	Máx
Resultado ante-vacunal IgG..	20	10,00	0,00	10,00	10,00
Resultado post-vacunal IgG..	20	120,00	41,04	80,00	160,00

Prueba T (muestras apareadas)

Obs(1)	Obs(2)	N	media(dif)	Media(1)	Media(2)	DE(dif)	T
Resultado ante-vacunal IgM..	Resultado post-vacunal IgM..	20	6,50	38,50	32,00	17,55	1,66

Prueba T (muestras apareadas)

Obs(1)	Obs(2)	N	media(dif)	Media(1)	Media(2)	DE(dif)	LI(95%))	LS(95%))	T	Bilateral
Resultado ante-vacunal IgM..	Resultado post-vacunal IgM..	20	6,50	38,50	32,00	17,55	-1,72	14,72	1,66	0,1142

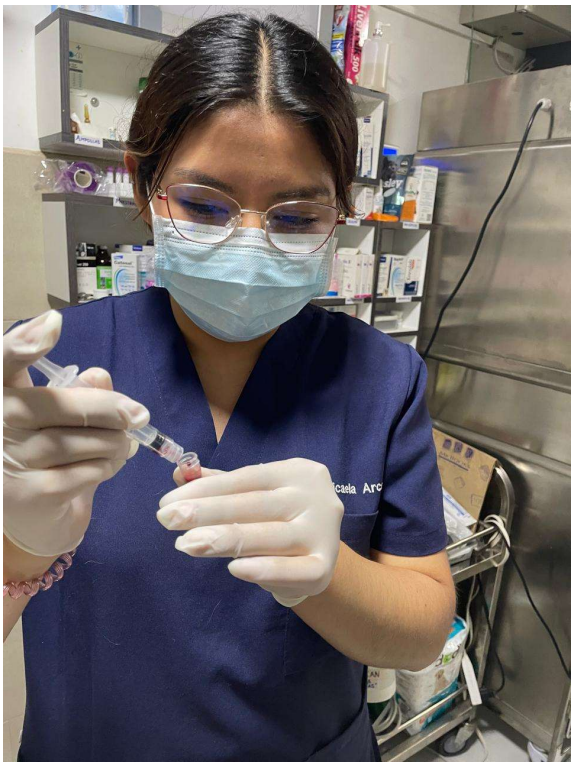
Medidas resumen

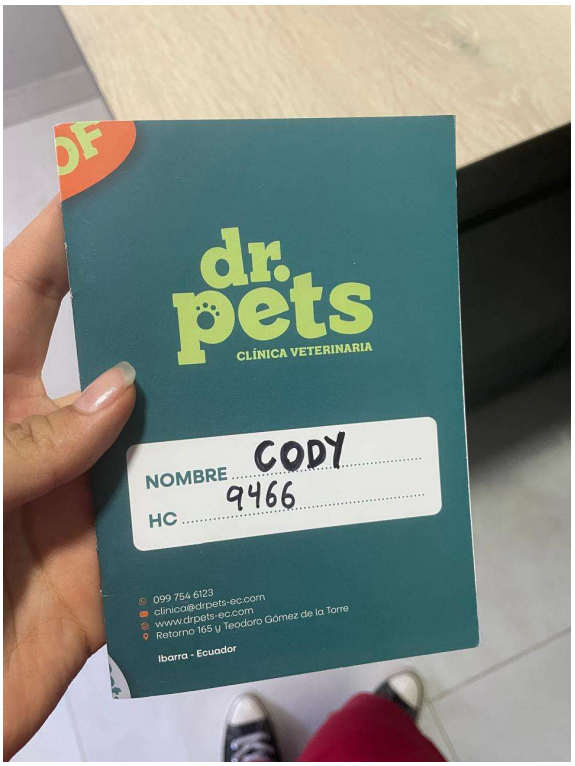
Variable	n	Media	D.E.	Mín	Máx
Resultado ante-vacunal IgM..	20	38,50	30,48	10,00	80,00
Resultado post-vacunal IgM..	20	32,00	30,37	10,00	80,00

Anexo 3. *Toma de muestras de caninos seleccionados y registro de vacunación.*

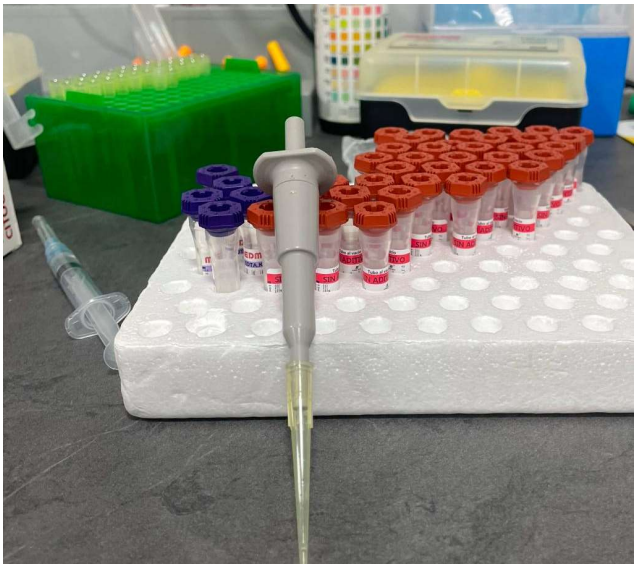








Anexo 4. *Proceso de conservación de las muestras*













Anexo 5. Pedido de *laboratorio*

HOJA DE PEDIDO VETERINARIO CASO: Y- 3644

HDA./C.VET:	NO INFORMA	FECHA DE RECEPCIÓN:	2024-12-10
PROPIETARIO:	ARCOS CUAMACAS MICAELA ELIZABETH	UBICACIÓN HDA./C. VET./PREDIO:	SAN MIGUEL DE IBARRA, IBARRA, IMBABURA
MEDICO REMITENTE:	NO INFORMA	TELEFONO:	0960036812
CLIENTE:	ARCOS CUAMACAS MICAELA ELIZABETH	No. CI o RUC:	1050162351
CÓDIGO CLIENTE:		EMAIL:	Elizabethcuamacas06@gmail.com

ESPECIE:	Canina	EDAD:	VARIAS	MUESTRA:	Sangre
RAZA:	Varias	SEXO:	H-M	No. ANIMALES:	10

LISTA DE MUESTRAS RECIBIDAS

Nro.	Detalle	Tipo de Muestra
1	1	Sangre
2	2	Sangre
3	3	Sangre
4	4	Sangre
5	5	Sangre

Observaciones de recepción de muestras:

EXAMENES SOLICITADOS

Código	Examen	Cant.	Precio Unit.	Total.
LVX-096	Distemper canino (CDV) - IFI IgG, IgM LVX/MAL/13	10	25.00	250.00
			Subtotal:	250.00
			Subtotal IVA tarifa 0%:	250.00
			Subtotal IVA tarifa 15%:	0.00
			IVA tarifa 15%:	0.00
			Valor total:	250.00

"Su pago lo puede realizar a la cuenta corriente del Banco del Pichincha No. 3392397204 a nombre de LIVEXLAB RUC 1792128447001 y enviar el comprobante de pago por Whatsapp al 0998118522 o al email: abravo@livex.com.ec La Factura electrónica será enviada al correo registrado. Para otras formas de pago comunicarse directamente con el Laboratorio."

Acceso al portal de resultados escaneando el siguiente código QR: