



**UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS**  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y AGRONOMÍA**

**Análisis de dos test inmunocromatograficos para el diagnóstico de distemper  
Canino.**

Proyecto De Titulo presentado como requisito  
Para optar al Título de Médico Veterinario.

Profesor responsable: Alfonso García  
Médico Veterinario

Profesor Corrector: Mabel Pozo  
Médico Veterinario

**Daniela Alejandra Jeldres Figueroa**

**SANTIAGO-CHILE**

**2013**

## **Agradecimientos**

Agradezco a Dios por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mi madre Pola, por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor.

A mi padre Jaime, por los ejemplos de perseverancia y constancia que lo caracterizan y que me ha infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante y por su amor.

A todas las personas que hicieron posible de este trabajo.

## **Dedicatoria**

Esta tesis se la dedico a mis padres Jaime y Pola por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, en toda mi educación, tanto académica, como de la vida, por su incondicional apoyo perfectamente mantenido a través del tiempo.

También la dedico a mi hija Emilia quien ha sido mi mayor motivación para nunca rendirme en los estudios y poder llegar a ser un ejemplo para ella.

Y a mis hermanas Javiera y Rocío, por estar siempre a mi lado, ofrecerme su compañía y palabras de aliento cuando las he necesitado.

## Reconocimiento

Dr. Alfonso García

Por su valiosa ayuda y asesoría como profesor guía de este trabajo

Dra. Mabel Pozo

Por toda su colaboración como profesora corrector de esta tesis.

## Resumen

La infección por Distemper canino, se encuentran entre las principales patologías infecciosas en caninos siendo preocupante la alta mortalidad de los animales infectados. La implementación de técnicas de diagnóstico confiables es esencial para mejorar las estrategias de control de dichas enfermedades. El objetivo de este estudio fue evaluar el desempeño de los test rápidos de los laboratorios Anigen, y Quicking como un rápido método de rutina en la clínica para el diagnóstico del virus del Distemper canino. Para esto se analizara el porcentaje de sensibilidad y especificidad de dichos test.

Los materiales utilizados para desarrollar este estudio son libros relacionados con el tema páginas web y contactos personales.

El presente trabajo se destinó al análisis de los test rápidos de diagnóstico para Distemper canino. En la cual se demostró que para que una prueba de diagnóstico sea catalogado como bueno o adecuado debe poseer una alta sensibilidad y especificidad.

Se puede decir que en la práctica estos test deben poseer como mínimo un 95% de sensibilidad y especificidad para que puedan ser confiables en el diagnóstico de Distemper, siempre acompañado de un examen clínico realizado por un médico veterinario

Por último, estos test ofrecen ventajas, ya que son fáciles de realizar, no se necesitan equipos especiales, ya que los kits respectivos incluyen todo lo necesario para realizarla y los resultados se obtienen inmediatamente.

## Summary

Canine Distemper infection are among the major infectious diseases in dogs remain disturbingly high mortality of infected animals. The implementation of reliable diagnostic techniques is essential to improve the control strategies of these diseases. The aim of this study was to evaluate the performance of the rapid test Anigen laboratories and Quicking as a quick method in clinical routine for diagnosis of canine distemper virus. For this we analyzed the percentage of sensitivity and specificity of such tests.

The materials used to develop this study are books on the subject, web pages and personal contacts.

This paper analyzes the destination rapid diagnostic test for canine distemper. In which it was shown that for a diagnostic test to be classified as good or right must have a high sensitivity and specificity.

It can be said that in practice these tests must have at least 95% sensitivity and specificity in order to be reliable in the diagnosis of Distemper, always accompanied by a clinical examination performed by a veterinarian

Finally, these tests have advantages, as they are easy to perform, requires no special equipment, since the respective kits include everything needed to carry it out and results are obtained immediately.

## Índice de Contenidos

Agradecimientos .....	1
Dedicatoria .....	2
Reconocimiento .....	3
Resumen .....	4
Summary .....	5
Índice de Ilustraciones .....	7
Índice de Tabla .....	7
CAPITULO I: Introducción .....	1
CAPITULO II: Revisión bibliográfica .....	2
2.1 Definición.....	2
2.2Historia .....	2
2.3 AgenteEtiológico.....	3
2.4 Especies Susceptibles .....	4
2.5 Epidemiología y Transmisión .....	5
2.6 Patogenia .....	6
2.7 SíntomasClínicos.....	7
2.8Tratamiento .....	7
2.9 Diagnostico.....	8
2.9.1 Métodos de Diagnostico.....	8
2.10 Kit rápido laboratorio ANIGEN .....	9
2.10.1Kit de diagnóstico del antígeno del distemper canino.....	9
2.11 Kit rápido del laboratorio QUICKING.....	12
2.11.1 Kit de diagnóstico para el antígeno del virus del distemper canino.....	12
2.12 Vacunas y Vacunación.....	15
2.13 Situación del distemper en Chile.....	16
CAPITULO III: Objetivos .....	17
3.1 Objetivos generales .....	17
3.2 Objetivos específicos .....	17
CAPITULO IV: Materiales y Métodos.....	18
4.1 Materiales .....	18
4.2 Métodos.....	18
CAPITULO V: Presentación de los Resultados.....	19

5.1 Discusión de los resultados .....	21
CAPITULO VI: Conclusión .....	23
CAPITULO VII: Bibliografía .....	24
7.1 Libros .....	24
7.2 Páginas web: .....	25

## Índice de Ilustraciones

Ilustración 1: Esquema del Proceso e Interpretación del Kit para Distemper canino .....	11
Ilustración 2: Procedimiento de la prueba .....	13
Ilustración 3: Interpretación de los resultados para la detección del Antígeno de Distemper canino .....	14

## Índice de Tabla

Tabla 1: Comparación de los test rápidos de los laboratorios Anigen, Quicking .....	19
---	----

## CAPITULO I: Introducción

Moquillo Canino, esta enfermedad altamente contagiosa de los perros y otros carnívoros presenta una distribución universal. El virus del moquillo canino (CDV), un morbillivirus pantrópico, produce una infección generalizada que afecta a numerosos sistemas orgánicos. (Quinn et al., 2004)

La amplia gama de hospedadores del CDV comprende a miembros de las familias *Canidae*, *Ailuridae*, *Hyaenidae*, *Mustelidae*; *Procyonidae*, *Uridae*, *Viverridae* y *Felidae*. Se han documentado brotes de la enfermedad en varias especies silvestres, incluyendo zorros, mapaches, mofetas, hurones de patas negras y leones (Appel et al., 1995; Roelke et al., 1996).

El virus es relativamente lábil, por lo que requiere una transmisión mediante contacto directo o de aerosoles. En las poblaciones de perros urbanos, el virus se mantiene gracias a las infecciones de animales sensibles. La infección se extiende rápidamente entre los perros jóvenes, generalmente entre los tres y seis meses de edad, cuando disminuye la inmunidad de origen materno. El número de perros en las poblaciones de las zonas rurales suele ser demasiado bajo para mantener la infección de forma continuada por lo que, con independencia de la edad, los perros no vacunados son sensibles y pueden producirse brotes importantes de la enfermedad. (Quinn et al., 2004)

## **CAPITULO II: Revisión bibliográfica**

### **2.1 Definición**

La palabra distemper proviene del prefijo de origen griego “dis” que denota anomalía, dificultad o trastorno, y de la palabra “temper” que en inglés significa genio, humor. En español temperamento (del latín temperamentum) significa carácter, manera de ser o reaccionar. Distemper significa entonces alteración del carácter. (Berrios, 2011)

### **2.2 Historia**

El distemper canino (DC) también llamado moquillo canino o “hardpad” (cojinetes plantares duros), se admite que se originó en España en el siglo XVIII. Sin embargo, según Charles Federic Hensinger (1853), el DC fue llevado desde Perú a España durante el siglo XVIII. La enfermedad había sido descrita en 1764 por Ulloa en su trabajo “Relación histórica del viaje a América meridional”. En 1760 la enfermedad fue reportada en España, luego en Inglaterra e Italia (1764) y Rusia (1770). En 1763, novecientos perros murieron en un solo día en Madrid. Los últimos brotes de distemper en perros no vacunados han sido descritos en Finlandia (1977), Suiza (1985), Polonia (2002) y Estados Unidos (2004). (Berrios, 2011)

En 1844, Karle tuvo éxito en la primera transmisión experimental de la enfermedad mediante el raspado de los labios de cachorros con la descarga de perros enfermos. El agente causal sólo fue descubierto en 1905, fecha en que el virus fue aislado por Henri Carré, de allí el nombre de enfermedad de Carré del DC. Anteriormente el DC fue descrito magistralmente por Edward Jenner en 1809. (Greene, 2000)

### 2.3 Agente Etiológico

El virus del moquillo canino (CDV) es un miembro del género *Morbillivirus* de Paramyxoviridae y se relaciona estrechamente con otros virus. Este virus (CDV) es relativamente grande (150-250 nm) con RNA de filamento único arrollado en simetría helicoidal, Está rodeado por una envoltura de lipoproteína derivada de glicoproteínas del virus incorporadas en la membrana celular. Los virus como CDV que codifican para proteínas capaces de integrarse en la membrana celular hacen que las células infectadas sean susceptibles a daño por citolisis de mediación inmunitaria. Este virus (CDV) también puede inducir fusión celular como un medio de diseminación intercelular directa. (Greene, 2000)

Los Paramyxovirus y los orthomyxovirus estuvieron agrupados conjuntamente con el nombre de <<myxovirus>> (del griego myxa, moco), un término que describe su afinidad por las membranas mucosas. Los paramyxovirus son pleoformicos, poseen un tamaño de 150nm o más de diámetro y presentan envuelta. Contienen una única molécula de RNA monocatenario de sentido negativo. En su envuelta hay dos tipos de glicoproteínas en forma de <<espículas>> o plepomeros: una proteína de fijación puede ser una proteína hemoaglutinina-neuraminidasa (HN) o bien una proteína sin actividad na-neuraminidasa (HN) o bien una proteína sin actividad neuramiidasa (G). La proteína de fijación permite al virus su unión a receptores de la superficie de la célula y la proteína de fusión permite que la envuelta del virus se fusione con la membrana de la célula hospedadora. Ambos tipos de plepomeros pueden inducir la síntesis de anticuerpos neutralizantes del virus. Existe también una proteína de membrana no glucosilada asociada a la envuelta (M). Los paramyxovirus pueden presentar actividades hemoaglutinantes, hemolíticas y neuraminidasa. La nucleocapside, que tiene simetría helicoidal, mide 13 a 18 nm de diámetro y posee un característico aspecto de espina de pescado. La replicación tiene lugar en el citoplasma celular. Los viriones se liberan mediante gemación de la membrana plasmática desde lugares que contienen proteínas de la envuelta del virus. Los viriones son lábiles y son sensibles al calor, la desecación, los solventes lipídicos, los detergentes no iónicos y los desinfectantes. (Quinn et al., 2004)

El virus del moquillo canino (CDV) es susceptible a la luz UV, aunque proteínas o antioxidantes ayudan a protegerlo de la inactivación. Es extremadamente susceptible al calor y la resequedad y se destruye por temperaturas mayores de 50 a 60°C por 30

minutos. En tejidos extirpados sobrevive cuando menos una hora a 37°C y 3 horas a 20°C (T° ambiente). En climas calientes, el CDV no permanece en perreras después de eliminar a los perros infectados. Los tiempos de almacenamiento y supervivencia de CDV son más prolongados a temperaturas más frías. A una temperatura casi de congelación (0° - 4°), sobrevive en el ambiente por semanas. Por debajo de la congelación el virus es estable y sobrevive a -65°C cuando menos 7 años. La liofilización reduce la labilidad del virus y es un medio excelente para preservarlo para vacuna comercial y uso en el laboratorio. Este virus (CDV) permanece viable en un PH entre 4.5 y 9.0. Como virus envuelto es susceptible a éter y cloroformo, solución de formalina diluida (<0.5%), fenol (0.75%) y desinfectante de amonio cuaternario (0.3%). Los procedimientos rutinarios de desinfección suelen ser eficaces para destruir CDV en una perrera o en el hospital. (Greene, 2000)

## **2.4 Especies Susceptibles**

Esta enfermedad altamente contagiosa de perros y otros carnívoros presenta una distribución universal. El virus del moquillo canino (CDV) un morbillivirus pantrópico produce una infección generalizada que afecta a numerosos sistemas orgánicos. (Quinnet al., 2004)

La enfermedad y la gama de huéspedes naturales de CDV incluyen ciertas especies de carnívoros terrestres, siendo posible infectar experimentalmente otras especies con grados variables de susceptibilidad. Se han reproducido los signos de SNC en ratones y cricetos mediante inoculación intracerebral. Los conejos y las ratas son resistentes a la inoculación parenteral. Las infecciones no aparentes, que curan espontáneamente, producidas en gatos, primates no humanos y en el hombre por inoculación no parenteral de CVD virulento, se asemejan a las de perros que han recibido vacunas de VVM. Los cerdos se infectan en forma subclínica y los saínos que han sido infectados de forma natural desarrollan encefalitis. Se han atribuido infecciones de SNC en Felidae exóticos a infección con CDV. (Decker et al., 1991).

Se comprobó encefalitis en un mono infectado en forma natural. (Yoshikawa et al, 1989.)

Un morbillivirus relacionado mayormente con CDV han causado morbilidad grave enfocadas es posible que se haya diseminado a estas últimas de perros u otros carnívoros susceptibles. Otros morbillivirus estrechamente relacionados pero distintos causan enfermedades en otros mamíferos acuáticos. (Greene, 2000)

Se ha sospechado, sin demostrarse, una mayor susceptibilidad entre razas, Algunas publicaciones indican que los perros braquicéfalos tienen una prevalencia más baja de enfermedad, mortalidad y secuelas comparados con las razas dolicocefalas. Las razas que se afectan con mayor frecuencia y gravedad incluyen greyhounds, huskies siberianos, weimaraners, samoyedos y malamutes de Alaska. (Greene, 2000)

## **2.5 Epidemiología y Transmisión**

El virus del moquillo canino (CDV), muy abundante en exudados respiratorios, suele diseminarse por exposición a aerosoles o gotitas; sin embargo, es posible aislarlo de la mayor parte de otros tejidos y secreciones del cuerpo, incluso la orina. El virus puede excretarse hasta por 60 a 90 días después de la infección, aunque son más característicos periodos menores de eliminación. El contacto entre animales recién infectados (subclínicamente o enfermos) conserva al virus dentro de la población y el abastecimiento constante de cachorros ayuda a proporcionar una población susceptible para ser infectada. Aunque la inmunidad al moquillo canino es prolongada, no es sólida o para toda la vida. Los perros que no reciben inmunizaciones periódicas pueden perder su protección e infectarse después de un estrés, inmunosupresión o en contacto con animales enfermos. El índice de infecciones es más alto que el de enfermedad y refleja un cierto grado de inmunidad natural e inducida por vacuna en la población canina general. Se estima entre un 25 y 75% de perros susceptibles se infecta subclínicamente eliminando el virus del cuerpo sin mostrar signos de enfermedad. (Greene, 2000)

El índice de prevalencia de moquillo espontaneo en perros cosmopolitas es mayor entre los tres y seis meses de edad y se correlaciona con la perdida de anticuerpos maternos en cachorros después del destete. En contraste, en poblaciones aisladas de perros, susceptibles, la enfermedades grave y diseminada y afecta a todas las edades. (Adelus-Neveu et al., 1991)

La virulencia viral es otro parámetro que puede afectar la gravedad y extensión o el tipo de enfermedad clínica. Ciertos aislados, como cepas Snyder Hill, A75/17 y R252, son altamente virulentos y neurotrópicos. La primera ocasiona poliencfalomielitis, en tanto que las dos últimas producen desmielinación. Otras varían en cuanto a su capacidad para producir lesiones en SNC. (Stettler et al., 1997)

## **2.6 Patogenia**

El virus, que se replica en la porción superior del aparato respiratorio, se extiende hasta las tonsilas y los ganglios linfáticos bronquiales. Después se produce una viremia asociada a células que permite su llegada a otros tejidos linforreticulares. La replicación del virus provoca una linfocitosis y leucopenia, dando lugar a una inmunosupresión y permitiendo que se desarrolle una viremia secundaria. La magnitud de la extensión a los tejidos y los órganos está determinada por rapidez y la eficiencia de la respuesta inmune. En ausencia de una respuesta suficientemente vigorosa, se produce la difusión y la replicación del CDV a los sistemas respiratorios, gastrointestinal urinario y nervioso central. También se puede producir la diseminación a la piel. (Quinn et al., 2004)

El virus infecta tanto a las neuronas como a las células de la glía del CNS y puede persistir allí durante largos periodos de tiempo. La encefalitis propia de los perros viejos está asociada aparentemente con la persistencia prolongada del virus en el encéfalo, posiblemente como resultado de la difusión no citolítica de una célula a otra sin salir mediante gemación desde la membrana celular, evitando de ese modo la detección del sistema inmunitario (Stettler,1997).

Este mecanismo parece ser análogo al que provoca la panencefalitisesclerosante subaguda en los niños que está asociada con la infección persistente del virus del sarampión defectivo. La presencia de antígeno vírico en esos procesos estimula una respuesta inflamatoria de baja intensidad que en ocasiones conduce al desarrollo de síntomas neurológicos. (Quinn et al., 2004)

## **2.7 Síntomas Clínicos**

El periodo de incubación suele ser cerca de una semana pero se puede extender hasta cuatro semanas o más cuando aparecen síntomas nerviosos sin signos previos de la infección. La duración y la gravedad de la enfermedad son variables y están influenciadas por la virulencia del virus infectante, la edad y el estado inmunitario del animal infectado, así como por la rapidez de su respuesta inmune frente a la infección. La reacción febril a la infección es bifásica, aunque puede que la elevación inicial pase desapercibida. Durante el segundo periodo de pirexia se hacen evidente el flujo oculonasal, la faringitis y la hipertrofia de las tonsilas. La tos, los vómitos y la diarrea suelen ser consecuencia de las infecciones secundarias. Sobre el abdomen puede aparecer una erupción cutánea y pústulas. Algunos perros afectados presentan hiperqueratosis en el hocico y las almohadillas plantares, lo que se conoce como <<plantas duras>>. La enfermedad aguda, que puede durar varias semanas, va seguida de recuperación y la inmunidad de por vida o por el desarrollo de síntomas neurológicos y, ocasionalmente, de la muerte. Entre los síntomas neurológicos más comunes se encuentra la paresia, los mioclonos y los temblores epileptiformes. Los animales que desarrollan trastornos neurológicos tienen un mal pronóstico. En los perros que sobreviven son frecuentes los problemas neurológicos residuales. La encefalitis de los perros viejos, caracterizada por un deterioro motor y del comportamiento, es invariablemente mortal. (Quinn et al., 2004)

## **2.8 Tratamiento**

No se dispone de un tratamiento específico.

Para el tratamiento de la enteritis por parvovirus es necesario aplicar un tratamiento de apoyo intensivo que incluya la administración de antieméticos y fluidos.

El uso de antibióticos de amplio espectro administrados por vía parenteral reduce el riesgo de infecciones bacterianas secundarias.

Los perros con un fallo cardiaco subagudo o crónico pueden mejorar con reposo y un tratamiento con diuréticos. (Quinn, 2002)

## 2.9 Diagnostico

El diagnostico practico del moquillo canino se basa principalmente en la sospecha clínica, apoyada por el antecedente característico de un cachorro de tres a seis meses de edad no vacunado con una enfermedad compatible. Los perros con afección grave casi siempre tienen signos clínicos bastante característicos para establecer un diagnóstico presunciones. (Greene, 2000)

La presencia de un proceso catarral y febril acompañado de secuelas neurológicas en perros jóvenes es altamente sospechosa de ser moquillo canino. (Quinnet al., 2004)

### 2.9.1 Métodos de Diagnostico

- Un “test” de diagnóstico rápido para el virus distemper que se ofrece en el comercio es: Prueba rápida para el antígeno del virus distemper canino: la prueba rápida del antígeno del virus de distemper canino Quicking es un ensayo inmunocromatografico tipo sándwich de flujo lateral para la detección cualitativa del antígeno del virus distemper canino (CDV Ag) en las secreciones o sueros de perro. Tiempo de ensayo: 5 a 10 min. Muestra: secreciones o suero. (Berrios, 2011).
- El antígeno del virus puede demostrarse mediante inmunofluorescencia en improntas de conjuntiva o vagina o bien en extensiones de células blancas de la sangre.
- Los cortes con micrótopo de ganglios linfáticos, vejiga de la orina y cerebelo también son apropiados para la detección del antígeno vírico.
- Puede detectarse la presencia de inclusiones eosinofílicas en los tejidos nervioso y epitelial.
- Mediante las técnicas de neutralización vírica, ELISA o inmunofluorescencia indirecta se puede detectar serológicamente la presencia de anticuerpos IgM o bien un incremento cuádruple del título de anticuerpos entre un suero de la fase aguda y oro de la convalecencia. Pueden detectarse anticuerpos en líquido cefalorraquídeo.

- El aislamiento del virus puede ser difícil. La orina de la vejiga y el encéfalo son muestras de necropsia adecuadas para dicho aislamiento. También son correctas las células blancas de sangre con heparina. (Quinnet al., 2004)

## **2.10 Kit rápido laboratorio ANIGEN**

### **2.10.1 Kit de diagnóstico del antígeno del distemper canino**

La prueba rápida de diagnóstico del Ag CDV consiste en un inmunoensayo de cromatografía en fase sólida para la detección cualitativa del Antígeno del Distemper canino en secreciones, orina, suero o plasma. (Anigen Mexico.com., 2011)

#### Especificación del Kit Anigen para diagnóstico del Ag CDV

- Principio: Ensayo Inmunocromatográfico
- Espécimen: Secreciones de conjuntiva, suero, plasma u orina.
- Propósito: Detección del Antígeno del virus del Distemper canino
- Tiempo de lectura: 5-10 minutos.
- Temperatura de almacenamiento: 2-30° C

#### Características especiales del Kit Anigen para diagnóstico del Ag CDV

- Alta sensibilidad y especificidad.
- No existe reacción cruzada con el Antígeno del CDV post vacuna.
- Excelente herramienta para el pronóstico.
- Resultado de la prueba rápida en 10 minutos.

- Un procedimiento de ensayo de un paso: fácil de usar, ahorrando tiempo y mano de obra.
- No se requiere equipo adicional. (Anigen Mexico.com., 2011)

#### Proceso del Kit Anigen para diagnóstico del Ag CDV

1. Aplicar la solución salina sobre el hisopo.
2. Colectar una muestra de la conjuntiva sobre el tercer párpado (área de color rojo)
3. Insertar el hisopo en el tubo que contiene el modelo de ensayo de 1 ml de diluyente
4. Mezclar el hisopo con el ensayo de muestras del diluyente.
5. Retire el dispositivo de prueba de la lámina de bolsas, y colóquelo sobre una superficie plana y seca.
6. Utilizando el gotero siempre disponible, tomar las muestras de especímenes extraídos y mezclados en el tubo.
7. Agregue cuatro (4) gotas de la muestra en el agujero cuentagotas. La mezcla de ensayo diluyente debe añadirse exactamente, lentamente, gota a gota.
8. La prueba comienza a trabajar, vera de color purpura como se mueve a través de la ventana de resultados en el centro del dispositivo de prueba. Si la migración no ha aparecido después de 1 minuto, añadir una gota más de la mezcla de diluyente de ensayo a la muestra.
9. Interpretar los resultados de la prueba en 5-10 minutos. No interpretar después de 20 minutos. (Anigen Mexico.com., 2011)

#### Interpretación del Test

1. Resultado negativo:

La presencia de una banda dentro de la ventana (“C”) de resultados indica un resultado negativo.

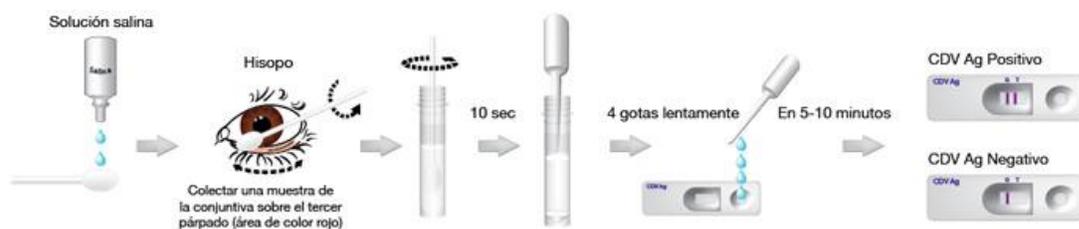
## 2. Resultado positivo:

La presencia de dos bandas dentro de la ventana ("C" y "T") de resultados, no importa la banda que aparece primero eso indica un resultado positivo.

## 3. Resultado no valido:

Si la banda no es visible en la ventana de resultados después de realizar la prueba, el resultado se considera nulo. Las instrucciones no se han seguido correctamente o la prueba puede haberse deteriorado. Se recomienda que la muestra sea reanalizada. (Anigen Mexico.com., 2011)

Ilustración 1



**Figura 1** Esquema del Proceso e Interpretación del Kit para Distemper canino. (Fuente: [www.anigenmexico.com](http://www.anigenmexico.com) 2011. 26/04/2012)

## 2.11 Kit rápido del laboratorio QUICKING

### 2.11.1 Kit de diagnóstico para el antígeno del virus del distemper canino

#### Utilización prevista

La prueba Rápida del Antígeno del Virus de Distemper canino Quicking es un ensayo Inmunocromatográfico tipo sándwich del flujo lateral para la detección cualitativa del antígeno del virus de Distemper canino (CDV Ag) en las secreciones o suero de perros.

**Tiempo de Ensayo:** 5-10 minutos. **Muestra:** Secreciones o suero. (ECD Veterinaria., 2012)

#### Principios del ensayo

La prueba Rápida del Antígeno del Virus de Distemper canino Quicking está basado en el ensayo Inmunocromatográfico del flujo lateral. El dispositivo de prueba tiene una ventana de prueba. La ventana de prueba tiene una zona invisible T (prueba) y una zona C (control). Cuando se aplica la muestra en la cavidad para la muestra en el dispositivo, el líquido fluirá lateralmente en la superficie de la tira de prueba. Si hay suficiente antígeno de Distemper canino en la muestra, aparecerá una banda T visible. La banda C siempre deberá aparecer después que la muestra haya sido aplicada, indicando un resultado valido. De este modo, el dispositivo puede indicar con precisión la presencia del antígeno de Distemper canino en la muestra.

#### Componentes del Kit

- 10 bolsas de papel aluminio conteniendo cada una de ellas un dispositivo de prueba, un gotario y un papel desecante.
- 10 tubos de ensayo buffer (de 0.7 mL cada uno).

- 10 tómulas.
- Manual del producto

### Procedimiento de la prueba

1. Recolectar las secreciones oculares y nasofaríngeas del perro. Asegurar que la tórula se humedezca lo suficiente.
2. Insertar la tórula humedecida en el tubo de ensayo con diluyente de prueba. Agitar para asegurar la extracción de la muestra.
3. Si utiliza la muestra de suero, realizar una dilución de 1:2 con el tubo de ensayo de protección.
4. Tomar un dispositivo de prueba desde la bolsa de papel de aluminio y colocarlo en posición horizontal.
5. Gradualmente agregar 3 gotas de la muestra de extracción en la cavidad para la muestra "S".
6. Interpretar el resultado en 5-10 minutos. Resultados posteriores a los 10 minutos son considerados inválidos. (ECD Veterinaria., 2012)

Ilustración 2

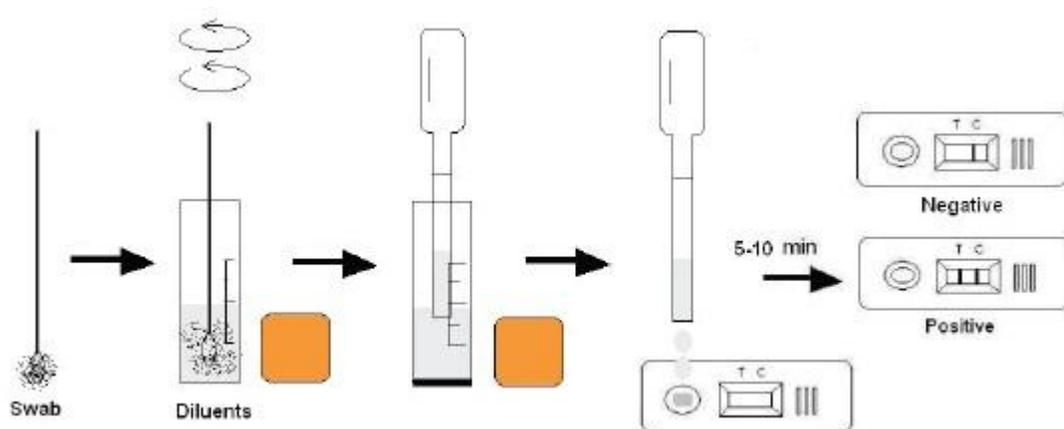


Figura 3 Procedimiento de la prueba (Fuente: [www.ecdveterinaria.com](http://www.ecdveterinaria.com) 2012. 15/05/2012)

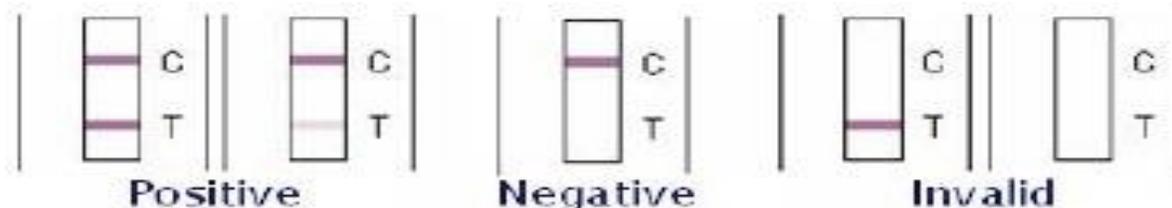
### Interpretación de los resultados

**Positivo:** La presencia de banda C y banda T, sin importar si la banda T es clara o vaga.

**Negativo:** Solamente la aparición de una banda C clara.

**Invalido:** No aparece ninguna banda coloreada en la zona C, sin importar si aparece la banda T. (ECD Veterinaria., 2012)

#### Ilustración 3



**Figura 4** Interpretación de los resultados para la detección del Antígeno de Distemper canino (Fuente: [www.ecdveterinaria.com](http://www.ecdveterinaria.com) 2012. 15/05/2012)

### Almacenamiento

El kit puede ser almacenado a temperatura ambiente (2-30°C). El kit de prueba es estable hasta la fecha de caducidad (18 meses) impresa en la etiqueta del envase. NO CONGELAR. No almacenar el kit de prueba bajo la luz directa de la luz. (ECD Veterinaria., 2012)

### Precauciones

- Para mejores resultados, adherirse estrictamente a las instrucciones.
- Todos los reactivos deben estar a temperatura ambiente antes de iniciar el ensayo.

- No remover el dispositivo de prueba de su bolsa individualmente sellada hasta inmediatamente antes de su utilización.
- No reutilizar el kit de prueba.
- No utilizar los reactivos después de la fecha de caducidad que figura en la etiqueta del envase.
- Los componentes de este kit han sido probados por control de calidad como unidad de lotes estándar. No mezclar los componentes de diferentes números de lote. (ECD Veterinaria., 2012)

### Limitaciones

La prueba Rápida del Antígeno del Virus de Distemper canino Quicking es solamente para diagnóstico veterinario in Vitro. Todos los resultados deben ser considerados con otra información clínica disponible para el veterinario. Para un resultado exacto, se sugiere aplicar otro método como por ejemplo PCR para una determinación final en la práctica. (ECD Veterinaria., 2012).

## **2.12 Vacunas y Vacunación**

Los anticuerpos maternos disminuyen con una vida media de 8,4 días. Los anticuerpos generalmente desaparecen entre 12 y 14 semanas de vida. (Berrios, 2011)

Las vacunas se aplican entre 6 y 16 semanas de vida en cachorros que recibieron calostro. La inmunidad después de la recuperación de una infección natural o de vacunaciones que pueden persistir por años. Sin embargo, se ha descrito que los virus atenuados utilizados actualmente en vacunas polivalentes poseen un linfotropismo y capacidad de inducir inmunosupresión residual, comprometiendo la respuesta inmune. (Berrios, 2011)

Una vacuna ideal contra el distemper canino debe ser capaz de estimular una respuesta inmune de distribución sérica y de mucosas, previniendo la enfermedad desde la exposición al virus, e impidiendo el desarrollo de inmunosupresión y de cuadros patológicos de alta letalidad. (Berrios, 2011)

La estabilidad de las vacunas liofilizadas contra el distemper es de 16 meses entre 0 y 4° C; 7 semanas a 20° C y 7 días con luz solar y a 47° C. La vacuna reconstituida dura 1 hora en refrigeración. (Berrios, 2011)

Los esquemas que se aplican son diferentes según sea el riesgo imperante en la ciudad o zona amagada. Considerando que los cachorros no son inmunocompetentes antes de los 2 meses de vida y que los anticuerpos maternos (94% en calostro) duran en el recién nacido aproximadamente entre 8 y 10 semanas, y que entre las 12 y 14 semanas disminuyen a un valor 0, se aconseja el siguiente esquema con vacuna monovalente: 1ª dosis a los 2 ½ -3 meses; 2ª dosis a los 3 ½ -4 meses; 3ª dosis a los 6 meses, si hay un notorio aumento de los casos clínicos. Con vacuna triple (virus distemper, leptospira, y virus hepatitis) o séxtuple (virus distemper, leptospira, virus hepatitis 1 y 2, parvovirus canino tipo 2 y parainfluenza tipo 2) se aconseja aplicar la primera dosis de vacuna parvovirus a los 2 meses; luego a los 2 ½ meses la vacuna séxtuple y a los 4 meses la vacuna séxtuple o la vacuna triple. La vacuna recombinante óctuple se aplica desde las 6 semanas de edad y cada 21 días hasta las 12 semanas (3 dosis). (Mendoza, 2005)

### **2.13 Situación del distemper en Chile**

En Chile se ha detectado el DC desde hace muchos años, principalmente a través de diagnóstico clínico y anatomopatológico, y ocasionalmente por inmunofluorescencia. Según Navarro (2004) el virus distemper es el virus más conocido que afecta a los pequeños animales. Se trata de una enfermedad infecciosa de alta prevalencia en nuestro país, lo que se ha corroborado en un estudio sobre vigilancia epidemiológica de las principales enfermedades de caninos de Chile. (vigivet.com, 2013)

En perros micoplasmasp en procesos bronco pulmonares provenientes de la región metropolitana se detectó la presencia de mycoplasma spa en procesos bronco pulmonares recidivantes en animales afectados de distemper canino (Abalos et al., 1980)

En Chile el distemper canino se sigue presentando a pesar de la vacunación. (Quinnet al., 2004)

## **CAPITULO III: Objetivos**

### **3.1 Objetivos generales**

Análizar dos test inmunocromatograficos para el diagnóstico de distemper canino del laboratorio Anigen y Quicking

### **3.2 Objetivos específicos**

Analizar los test rápidos disponibles para el diagnóstico de Distemper canino de los laboratorios Anigen, y Quicking desde el punto de vista de sensibilidad.

Analizar los test rápidos disponibles para el diagnóstico de Distemper canino de los laboratorios Anigen, y Quicking desde el punto de vista de especificidad.

Analizar los test rápidos disponibles para el diagnóstico de Distemper canino de los laboratorios Anigen, y Quicking desde el punto de vista de costos.

## **CAPITULO IV: Materiales y Métodos**

### **4.1 Materiales**

Los materiales a utilizar serán todos los que el alumno logre encontrar en el periodo de tiempo destinado a realizar el Proyecto de Título: esta información puede ser recopilada de:

- Libros que tengan relación con el tema.
- Paginas oficiales de internet ; [ecdveterinaria.com](http://ecdveterinaria.com), [anigenmexico.com](http://anigenmexico.com), [vigivet.com](http://vigivet.com)
- Contactos con Laboratorios ; Anigen y Quickin

### **4.2 Métodos**

Será de tipo analítico y descriptivo, sin análisis estadístico.

## CAPITULO V: Presentación de los Resultados

Tabla 1

LABORATORIO	ANIGEN	QUICKING
PATOLOGIA	AG CDV	AG CDV
SENSIBILIDAD	99,9%	98%
ESPECIFICIDAD	98,5%	97,5%
COSTO	\$4600	\$4200

Tabla 1. Comparación de los test rápidos de los laboratorios Anigen, Quicking

Analizar los test rápidos para el diagnóstico de Distemper canino de los laboratorios Anigen, y Quicking desde el punto de vista de sensibilidad.

La siguiente comparación se dirige a la detección de antígenos para el Virus del Distemper canino en orden decreciente según su especificidad, será:

- Anigen con un 99,9% de sensibilidad.
- Quicking con un 98% de sensibilidad.

Analizar los test rápidos para el diagnóstico de Distemper canino de los laboratorios Anigen, y Quicking desde el punto de vista de especificidad.

La siguiente comparación se dirige a la detección de antígenos para el Virus del Distemper canino en orden decreciente según su especificidad, será:

- Anigen con un 98,5% de especificidad.
- Quicking con un 97,5% de especificidad.

Analizar los test rápidos para el diagnóstico de Distemper canino de los laboratorios Anigen, y Quicking desde el punto de vista de costos.

La comparación entre los tres laboratorios dirigida al valor comercial del producto (por unidad) en el mercado, será:

- Anigen con su test para antígeno de Distemper canino con un valor de 4.600.-
- Quicking con su test para antígeno de Distemper canino con un valor de 4.200.-

## 5.1 Discusión de los resultados

En general, la sensibilidad es la probabilidad de clasificar correctamente a un “individuo enfermo”, es decir, la probabilidad de que para un sujeto enfermo se obtenga un resultado positivo. La sensibilidad es, por lo tanto, la capacidad del test para detectar la enfermedad.

La especificidad es la probabilidad de clasificar correctamente a un “individuo sano”, es decir, la probabilidad de que para un sujeto sano se obtenga un resultado negativo. En otras palabras, se puede definir la especificidad como la capacidad para detectar a los sanos.

Para que una prueba o método de diagnóstico sea catalogado como bueno o adecuado debe poseer una alta sensibilidad y especificidad, un alto valor predictivo positivo, negativo y además confirmadas a través de los signos clínicos de los pacientes.

### Con respecto a sensibilidad:

Debemos comprender que la sensibilidad de un test es la probabilidad de clasificar a un individuo enfermo, es decir, la probabilidad de que para un sujeto enfermo se obtenga en la prueba un resultado positivo. Por lo tanto la sensibilidad del test es la capacidad de detectar la enfermedad.

Tomando en cuenta lo anterior podemos ver en la tabla de resultados que las sensibilidades para antígeno para distemper varían entre un 98% y un 99.9%. En definitiva los test Anigen y Quicking para antígeno poseen sensibilidad alta por lo tanto la cantidad de falsos negativos es baja. (Anigen para anticuerpo es bajo, este parámetro serían descartados).

### Con respecto a especificidad:

Se entiende como especificidad como la probabilidad de clasificar correctamente a un individuo sano, es decir, la probabilidad de que para un sujeto sano se obtenga un

resultado negativo. En resumen se puede definir la especificidad como la capacidad del test para detectar a los sanos.

Tomando en cuenta lo anterior podemos ver en la tabla de resultados que las especificidades para antígeno para distemper varían entre un 97,5% y un 98,5%. Finalmente podemos decir que estos test poseen especificidades altas por lo tanto la cantidad de falsos positivos es baja.

Con respecto a valor:

La elección del producto según el valor comercial es relativo, ya que se deben analizar los dos puntos anteriores y luego de eso dependerá la situación económica que tenga el ente comercial o privado.

## **CAPITULO VI: Conclusión**

El presente estudio se realizó con el fin de establecer diferencias significativas con respecto a la efectividad de los test rápidos para la detección de antígenos del virus del Distemper canino de los laboratorios Anigen, y Quicking.

La sensibilidad y especificidad de los diferentes test están cercanos a un 100% lo que demuestra que ante la sospecha de la enfermedad y acompañado de un buen examen clínico este método de diagnóstico es de gran ayuda en clínica menor.

Se puede decir que en la práctica estos test son iguales ya que no existen diferencias significativas entre su sensibilidad y especificidad.

Por último, estos test ofrecen ventajas, ya que son fáciles de realizar, no se necesitan equipos especiales, ya que los kits respectivos incluyen todo lo necesario para realizarla y los resultados se obtienen inmediatamente.

## CAPITULO VII: Bibliografía

### 7.1 Libros

Abalos, P., P. Berrios. 1980. Presencia de micoplasmasp en procesos broncopulmonares recidivantes en perros afectados de distemper. 3° congreso nacional de medicina veterinaria. Santiago, chile. Diciembre 1980.

AdelusNeveu-F, San Gerand AL, Fayet G. 1991. El moquillo canino. Las conclusiones de un brote en Francia. PraktiTierarzt 72:866-871.

Appel M.J.G., Summer B.A., 1999. Distemper canino: Estado actual. In: Recent Advances in Canine Infectious Diseases, Carmichael L. (Ed.); International Veterinary

Decker O, Lavelle JP, PN Kumar, et al. 1991. La neumonía debido a Bordetellabronchiseptica en un Paciente con SIDA. Revs Infect Dis 13:1250-1251

Green, Craig E. y Max J. Appel, 2000. Enfermedades infecciosas en perros y gatos, segunda edición

Mendoza, J., P. Berrios. 1981. Enteritos canino viral. Canino Parvovirus. Monogr. VetMed 1:7-22.

Patricio Berrios Etchegaray, 2011. Enfermedades virales de los animales domésticos. Situacion en Chile.

P.J. Quinn, B.K. Markey, M.E. Carter, W.J. Donnelly, F.C. Leonard, 2004. Microbiología y Enfermedades infecciosas veterinarias.

Quinn PJ Markey BK, Carter ME, Donnelly CJM y Leonard FC (2002). Microbiología Veterinaria y Enfermedades microbianas, 1. Ed. Blackwell Publishing Ltd

Stettler M, Beck K, Wagner A, et al. 1997. Determinants of persistence in canine distemper virusess. VetMicrobiol 57:83-93

Y. Yoshikawa, Ochikubo F., Matsubara Y., et al. 1989. La infección natural por el virus de moquillo canino en un mono japonés (Macaca fuscata). VetMicrobiol 20:193-205

## 7.2 Páginas web:

Sistema de Vigilancia de enfermedades infecciosas en mascotas de Santiago

<http://www.vigivet.com>

12/04/2013

Anigen México 2011. Kits rápidos Laboratorio ANIGEN.

<http://www.anigenmexico.com>

01/06/2013

ECD Veterinaria 2012. Kits rápidos Laboratorio Quicking

<http://www.ecdveterinaria.com>

01/06/2013