

## **DISTEMPER CANINO: EVALUACIÓN DE DOS ALTERNATIVAS TERAPÉUTICAS**

**PINOTTI, M.<sup>1</sup>; GOLLAN, A.<sup>1</sup>; PASSEGGI, C.<sup>1</sup>; BLAINQ, L.<sup>1</sup>;  
REUTEMANN, S.<sup>1</sup>; PICCO, E.<sup>2</sup> & FORMENTINI, E.<sup>2</sup>**

### **RESUMEN**

En la ciudad de Santa Fe, Argentina, entre 1998 y 2009, en 131 perros con diagnóstico de distemper confirmado por inmunofluorescencia directa, se ensayaron tres tratamientos: convencional o de sostén, de sostén más lipopolisacáridos bacterianos y de apoyo más azatioprina, evaluando la eficacia terapéutica de estos dos últimos respecto del primero. Ningún tratamiento ensayado pudo reducir el porcentaje de individuos con evolución desfavorable. Sin embargo, la incorporación al tratamiento de sostén de un inmunestimulante como los lipopolisacáridos bacterianos, acortó el tiempo de convalecencia y fue capaz de reducir el intervalo entre los valores mínimos y máximos de los días de recuperación. Por el contrario, la incorporación al tratamiento de sostén de un inmunosupresor como azatioprina prolongó el tiempo de restablecimiento.

*Palabras clave:* distemper canino, azatioprina, lipopolisacáridos bacterianos.

### **SUMMARY**

#### **Canine distemper: evaluation of two therapeutic alternatives.**

In the city of Santa Fe, Argentina, between 1998 and 2009, in 131 dogs with diagnosis of distemper confirmed by direct immunofluorescence, three treatments were tested: supportive, supportive plus bacterial lipopolysaccharide and supportive plus azathioprine, evaluating the therapeutic effectiveness of these latter respect to the first. No treatment tested was able to reduce the proportion of individuals with unfavorable outcome. However, the incorporation of immunostimulant as bacterial

---

1.- Cátedra de Virología. Facultad de Ciencias Veterinarias (UNL). Kreder 2805. (3080) Esperanza, provincia de Santa Fe. Email: mpinotti@fcv.unl.edu.ar

2.- Cátedra de Farmacología. Facultad de Ciencias Veterinarias (UNL).

Manuscrito recibido el 19 de septiembre de 2013 y aceptado para su publicación el 29 de octubre de 2013.

lipopolysaccharides to supportive treatment shortened the convalescence of individuals and was able to reduce the range between the minimum and maximum values of recovery days. By contrast, the incorporation of an immunosuppressant such as azathioprine to supportive treatment unnecessarily prolonged the recovery time.

*Key words:* canine distemper, azathioprine, bacterial lipopolysaccharide.

## INTRODUCCIÓN

El moquillo canino, también llamado distemper o enfermedad de Carré es una de las patologías víricas más comunes de los caninos en todo el mundo. Fue descrito por Edward Jenner en 1809 y su etiología viral demostrada por Carré en 1906. El espectro de hospedadores naturales comprende miembros de las familias *Canidae*, *Felidae*, *Procyonidae*, *Mustelidae*, *Viverridae*, *Hyaenidae*, *Phocidae* y *Ursidae* y su agente etiológico es el virus del distemper canino (VDC) perteneciente al orden *Mononegavirales*, familia *Paramyxoviridae*, género *Morbillivirus*.

Al tratarse de una enfermedad viral que involucra diferentes órganos o sistemas, el tratamiento convencional es inespecífico y de sostén, adaptándose a cada caso particular. Básicamente deben controlarse las infecciones bacterianas secundarias y tratar los signos clínicos observados. La terapéutica empleada con mayor frecuencia consiste en:

- antibioterapia: los cuadros de neumonía a menudo se complican con infecciones bacterianas secundarias, causadas por *Bordetella bronchiseptica* entre otras, por lo que es necesario administrar antibióticos de amplio espectro, siendo de elección la ampicilina o amoxicilina-clavulánico.

- fluidoterapia: se deben administrar soluciones electrolíticas balanceadas por vía intravenosa en todos los casos, por la posible deshidratación ocasionada por vómitos, diarreas o anorexia, que se presentan en casi todos los animales enfermos.

- vitaminas: se pueden suministrar vitaminas del grupo B para reemplazar las que se pierden a causa de la anorexia y la diuresis y debido a que estimulan el apetito. Se han mencionado beneficios en el uso del ácido ascórbico intravenoso, aún cuando no se ha corroborado su eficacia. Estudios controlados documentaron una disminución en la morbilidad y mortalidad en niños con sarampión que recibieron 2 dosis de 200.000 UI de vitamina A dentro de los 5 días de aparición de la enfermedad sistémica. A pesar de no estar comprobada su eficacia en moquillo es factible indicar un tratamiento similar para cachorros con infección sistémica aguda (Greene and Appel, 2006).

- antipiréticos: su empleo está justificado en los cuadros febriles con temperaturas superiores a 40°C.

- medicación anticonvulsiva y sedante: el tratamiento de los trastornos neurológicos es menos gratificante ya que la encefalitis multifocal es progresiva y conduce a tetraplejía e incapacitación, por lo que frecuentemente está indicada la eutanasia. El uso de anticonvulsivantes está recomendado después de iniciada la enfermedad sistémica y antes de que comiencen las crisis convulsivas.

- antiinflamatorios esteroides: están indicados para controlar la neuritis óptica, y para aliviar los signos de edema cerebral.

En los últimos años se han difundido dos alternativas terapéuticas consistentes en:

- estimular la respuesta inmune innata empleando agentes inmunomoduladores.

- emplear fármacos que limiten la acción del virus afectando su replicación.

Los inmunomoduladores son sustancias con la propiedad de estimular o deprimir la respuesta inmune, teniendo amplio potencial de uso en la terapia adyuvante de enfermedades infecciosas, neoplásicas, alérgicas y cuadros de inmunodeficiencia. Precisamente, como alternativa al tratamiento sintomático del distemper se ha preconizado el empleo de sustancias inmunoestimulantes que actúan mejorando la respuesta inmune innata del organismo, siendo uno de ellos los lipopolisacáridos bacterianos (LPSB), que son constituyentes de la pared celular de las bacterias gramnegativas (Jacobs, 1981; Mulcahy and Quinn, 1986; Sunwo *et al.*, 1996). Los LPSB contienen una fracción llamada lípido A integrada por ácidos grasos unidos por enlaces estéricos a moléculas de N-acetilglucosamina. Otra fracción es la región R compuesta de hexosas y una tercera fracción es el denominado antígeno O que es específico para cada especie bacteriana.

Los LPSB estimulan las funciones de los macrófagos y la secreción de citoquinas por parte de éstos (Alving, 1993; Basta *et al.*, 2001) y tienen efectos directos sobre los linfocitos estimulando la división de las células B, generando un incremento en la producción de inmunoglobulinas (Louis and Lambert, 1979).

Otros compuestos que han sido utilizados como inmunomoduladores son las fracciones ribosomales de cepas bacterianas no patógenas. Estas estructuras estimulan la actividad de polimorfonucleares, macrófagos, células asesinas (NK) y la producción de anticuerpos por parte de los linfocitos B (Avallana *et al.*, 1989; Lafont *et al.*, 1988; Pujol *et al.*, 1991; 1989; Lafont *et al.*, 1988; Pujol *et al.*, 1991).

Dentro de los fármacos que afectarían la replicación del virus se encuentra la Azatioprina (AZP), un medicamento con

actividad inmunosupresora que ha sido empleado como terapia alternativa para el distemper (Aixelá, 2001). Esta droga pertenece al grupo de las tiopurinas, junto a la 6-mercaptopurina (6-MP) y la 6-tioguanina (6-TG). La AZP y la 6-MP son análogos de las purinas que actúan como antagonistas de las purinas de origen endógeno, constituyentes esenciales del ADN, ARN y varias coenzimas (Sahasranaman *et al.*, 2008).

La AZP se absorbe rápidamente en el tracto gastrointestinal, presentando una biodisponibilidad biológica de aproximadamente el 60%, alcanzando su máxima concentración plasmática luego de transcurridas una a dos horas de su administración oral (Lin *et al.*, 1980) y una vez alcanzada la circulación general se une en forma moderada a las proteínas plasmáticas (30%). Su volumen de distribución es de  $0,81 \pm 0,65$  L/kg, lo cual indica que la misma abandona el espacio vascular para difundir a los tejidos (Dollery, 1991). Difunde poco al tejido cerebral, atraviesa placenta y no se dispone de datos acerca de su eliminación vía leche materna (Briggs *et al.*, 1990).

Esta droga es rápidamente metabolizada en hígado y otros tejidos a 6-MP por acción de las enzimas xantina oxidasa y tiopurina metiltransferasa (TPMT). Los metabolitos se excretan por orina, donde pueden detectarse cantidades muy pequeñas de AZP y 6-MP (McEvoy, 1993). La AZP presenta una corta semivida ( $0,16 \pm 0,07$  horas), aunque muchos de sus metabolitos presentan semividas de eliminación de hasta cinco horas (Lin *et al.*, 1980).

Los principales efectos tóxicos de la AZP consisten en mielosupresión, pancreatitis aguda, hepatopatías y desórdenes gastrointestinales (Beale, 1988; Houston and Taylor, 1991; Rinkardt and Kruth, 1996; Kidd *et al.*, 2004). En la práctica clínica de pequeños animales, se emplea casi exclusivamente

en el manejo de enfermedades inmunomediadas en perros y en menor medida en gatos. Su utilización junto a corticoesteroides potencia su efecto y también el riesgo de mayor toxicidad.

Se ha demostrado *in vitro* que la AZP presenta actividad antivírica sobre el virus de la diarrea viral bovina (Hoover and Striker, 2006), reportándose un efecto similar sobre el virus de la hepatitis C (Stangl *et al.*, 2004).

Se postula que esta actividad antiviral se realizaría de dos maneras. Una de ellas propone que los metabolitos resultantes de la biotransformación de la molécula de AZP, entre ellos la 6-MP, inhiben la síntesis de purina. La otra, supone que la 6-TG se incorpora al ADN del genoma celular presentando efectos antivíricos. Por lo tanto, al interferir con la síntesis de ARN y de ADN, se impediría al virus utilizar los mecanismos celulares para replicarse (Ling *et al.*, 1992; Vogt *et al.*, 1993; Coulthard *et al.*, 2002). No obstante, las concentraciones necesarias para alcanzar estos efectos son sumamente elevadas como para poder ser empleadas *in vivo*, desconociéndose su impacto en cuanto al riesgo de aparición de infecciones debidas al cuadro de inmunosupresión producida. Su empleo en el tratamiento del distemper canino ha sido justificado argumentando que el virus durante su fase de replicación incorporaría más análogos de bases purínicas que las células del hospedador y por lo tanto éste sería mucho más afectado que aquellas (Aixelá, 2001).

La teoría propuesta por Aixelá, sólo es avalada por su experiencia profesional y no está fundamentada en un ensayo clínico que incluya a un grupo control y que permita corroborar la eficacia de la incorporación de AZP a la terapéutica para el tratamiento del distemper canino.

No obstante, la actividad antiviral de la AZP como alternativa terapéutica del

distemper canino tiene gran impacto en la opinión de muchos clínicos de la especialidad, al punto que actualmente existe en el mercado farmacéutico veterinario una formulación comercial de AZP (Azatioprina J'anvier®, Laboratorios J'anvier), que preconiza su empleo en el tratamiento de esta enfermedad, indicación que es justificada citando el reporte de Aixelá (2001).

El presente trabajo tiene como objetivo determinar la eficacia terapéutica derivada del uso de LPSB o AZP como terapia coadyuvante al tratamiento de sostén del distemper canino y generar información confiable respecto de la relevancia clínica de su empleo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### **Tamaño de la muestra, grupos experimentales y tratamiento**

Este trabajo se realizó durante los años 1998 y 2009 utilizando 131 caninos de ambos sexos, mayores a dos meses de edad, sin distinción de razas, procedentes de la ciudad de Santa Fe y/o área de influencia, con diagnóstico de distemper confirmado por inmunofluorescencia directa (IFD), FAO (1998), utilizando el reactivo comercial VMRD-Cat 210-02-CDV-FA y observándose los preparados en microscopio de epifluorescencia. Se utilizó esta técnica por ser rápida y altamente sensible (Pinotti *et al.*, 2002). A estos individuos se los asignó aleatoriamente a tres grupos. El grupo A estuvo compuesto por 57 animales a los cuales se les aplicó terapéutica de sostén consistente en tratamiento con antibióticos de amplio espectro, soluciones electrolíticas, vitaminas y antieméticos según criterio profesional. El grupo B estuvo conformado por 48 animales medicados con el tratamiento de sostén más un preparado

comercial constituido por liposomas que contenían LPSB y fracciones membranas y ribosomales de una cepa no patógena de *E. coli* (RiboZim®), administrado a una dosis de 1 ml/10 kg de peso vivo que fue repetida a las 48 horas, en tanto que el grupo C estuvo integrado por 26 animales que recibieron el tratamiento de sostén más un preparado comercial de Azatioprina (Azatioprina Janvier®) administrada a la dosis de 1 mg/kg/día durante diez días consecutivos.

### **Parámetros utilizados para evaluar la eficacia terapéutica**

El control de la evolución de los animales durante la implementación de cada uno de los esquemas terapéuticos, se efectuó mediante el registro sistemático de las observaciones clínicas realizadas a lo largo de toda la duración de los mismos. Los datos registrados consistieron en:

- fecha de las consultas.
- registro semanal de los signos clínicos más relevantes: hipertermia, secreción ocular, blefaritis, secreción nasal, disnea, disminución del apetito, vómitos, diarrea, lesiones cutáneas, hiperqueratosis del hocico y/o almohadilla plantar y signología nerviosa. Cada uno de estos signos clínicos se calificó como ausente, leve, moderado o severo.
- remisión o aparición de nuevos signos clínicos.
- fin del seguimiento, registrando el alta del paciente en caso de una evolución favorable o en el caso de una evolución desfavorable, la fecha del deceso o aparición de signología nerviosa.

La eficacia terapéutica se evaluó de dos maneras. La primera, fue considerando la evolución clínica como un parámetro de distribución binomial para cada individuo, esto es: evolución favorable, en caso de remisión del cuadro clínico y evolución

desfavorable, en caso de aparición de signos nerviosos o muerte.

En segundo lugar se consideró el tiempo en el que se producían tanto la resolución favorable como la desfavorable en cada uno de los tratamientos, contabilizándose los días desde el momento en que se realizó la primera consulta hasta el momento en que el paciente fue dado de alta o bien hasta cuando se producía la aparición de signos nerviosos u ocurría la muerte del mismo.

### **Estudio estadístico**

Para la realización del estudio estadístico se utilizó el Software InfoStat (2008), InfoStat versión 2008. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

La comparación de distribución de frecuencias de la evolución clínica (favorable-desfavorable) de los tres esquemas terapéuticos se analizó con el test de  $\chi^2$ .

El análisis estadístico para comparar los datos experimentales de los días de evolución favorable y desfavorable de los tres tratamientos consistió en: estadística descriptiva de los resultados obtenidos en cada uno de los tratamientos realizados, comprobación de la distribución normal de los datos experimentales de cada uno de los grupos empleando el test de Kolmogorov-Smirnov y testeo de la igualdad de los desvíos estándar entre cada uno de los tratamientos alternativos respecto del tratamiento control con el test de F.

Se determinó la existencia de diferencias entre los grupos cuando los datos experimentales de cada uno de ellos presentaron distribución normal y difirieron en el valor de sus desvíos estándar (heterocedasticidad), asumiendo que provenían de poblaciones diferentes. En todos los casos el límite de significancia fue fijado en 5% ( $p = 0,05$ ).

## RESULTADOS

### **Respuesta al tratamiento de distemper adicionando lipopolisacáridos bacterianos o azatioprina a la terapéutica sostén.**

Los resultados de la evolución clínica observados en cada uno de los esquemas terapéuticos utilizados; terapéutica de sostén (sostén), terapéutica de sostén más LPSB (sostén-LPSB) y terapéutica de sostén más AZP (sostén-AZP) se presentan en el Cuadro 1.

En cada uno de los esquemas terapéuticos se observó una evolución favorable superior al 70% sin detectar diferencias en las proporciones de individuos con evolución favorable y desfavorable entre los tres tratamientos ( $p > 0,05$ ).

### **Respuesta a los tratamientos expresados como días de evolución favorable**

Los resultados expresados como días de evolución favorable según el tipo de terapéutica instaurada se hallan representados en la Figura 1.

Los resultados del estudio de estadística descriptiva realizada con los datos experimentales de tiempo de evolución favorable se presentan en el Cuadro 2.

Los valores promedio de duración de los

tratamientos no presentan grandes diferencias, siendo para el tratamiento de sostén de  $22,90 \pm 8,07$  días, para el tratamiento de sostén-LPSB de  $19,60 \pm 4,90$  días y para el tratamiento de sostén-AZP de  $29,80 \pm 14,50$  días.

El resultado del test de F mostró que la diferencia entre varianzas fue significativa tanto entre los tratamientos de sostén y sostén-LPSB ( $p = 0,0014$ ), como entre los tratamientos de sostén y sostén-AZP ( $p = 0,0009$ ).

### **Respuesta a los tratamientos expresados como días de evolución desfavorable.**

Los resultados expresados como días de evolución desfavorable según el tipo de terapéutica instaurada se hallan representados en la Figura 2.

Los resultados del análisis de los datos experimentales referidos al tiempo de evolución desfavorable se presentan en el Cuadro 3.

Los valores mínimos y máximos observados proporcionan la primera evidencia del impacto clínico de los tres esquemas terapéuticos, ya que en el caso del tratamiento sostén-AZP, la amplitud abarca desde los 10 hasta los 20 días, siendo este intervalo menor a lo observado en el tratamiento sostén-LPSB, que se extiende desde 2 a 27

*Cuadro 1: Evolución clínica (favorable-desfavorable) de tres grupos de caninos afectados de distemper, que fueron tratados con terapéutica de sostén, terapéutica de sostén-LPSB y terapéutica de sostén-AZP. Los diagnósticos fueron realizados entre los años 1998 y 2009. Los datos se expresan como número de animales en cada categoría y como porcentaje del total de individuos en cada tratamiento.*

Tratamiento	Sostén		Sostén-LPS <sub>B</sub>		Sostén-AZP	
Evolución Clínica	Total n = 57		Total n = 48		Total n = 26	
Favorable	41	(71,93%)	38	(79,17%)	20	(76,92%)
Desfavorable	16	(28,07%)	10	(20,83%)	6	(23,08%)

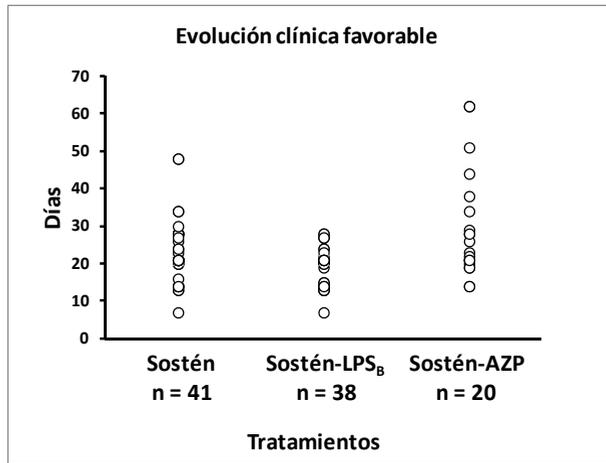


Fig. 1: Representación gráfica de los días de evolución favorable de tres grupos de caninos afectados por distemper que fueron tratados con terapéutica de sostén, terapéutica de sostén-LPSB y terapéutica de sostén-AZP.

Cuadro 2: Estadística descriptiva de los días de evolución favorable de tres grupos de caninos afectados de distemper tratados con terapéutica de sostén, terapéutica de sostén-LPSB y terapéutica de sostén-AZP.

Parámetros	Evolución Clínica Favorable		
	Tratamientos		
	Sostén	Sostén-LPS <sub>B</sub>	Sostén- AZP
Promedio (días)	22,90	19,60	29,80
n	41	38	20
Desvío estándar. (días)	8,07	4,90	14,50
Coefficiente de variación (%)	35,20	25,00	48,7
Error estándar. (días)	1,26	0,79	3,24
Mínimo (días)	7	7	14
Mediana (días)	21,00	21,0	24,50
Máximo (días)	48	28	62
Límite inferior IC 95%(días)	20,30	18,00	23,00
Límite superior IC 95% (días)	25,40	21,30	36,60

IC95% = Intervalo de confianza al 95%

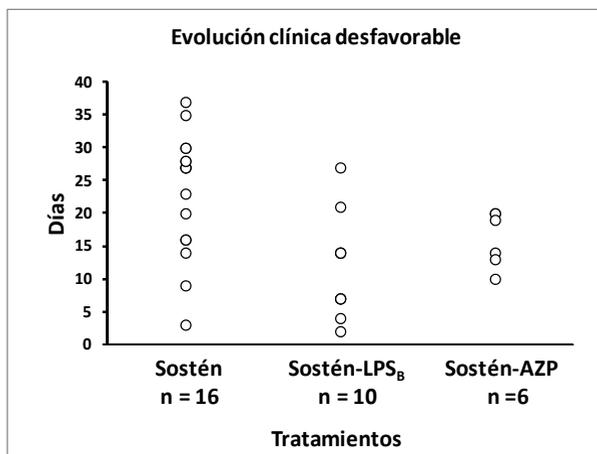


Fig. 2: Representación gráfica de los días de evolución desfavorable de tres grupos de caninos afectados por distemper que fueron tratados con terapéutica de sostén, terapéutica de sostén-LPSB y terapéutica de sostén-AZP.

Cuadro 3: Estadística descriptiva de los días de evolución desfavorable de tres grupos de caninos afectados de distemper tratados con terapéutica de sostén, terapéutica de sostén-LPSB y terapéutica de sostén-AZP.

Parámetros	Evolución Clínica Desfavorable		
	Tratamientos		
	Sostén	Sostén-LPS <sub>B</sub>	Sostén- AZP
Promedio (días)	23,1	11,7	16,0
n	16	10	6
Desvío estándar (días)	9,38	7,86	4,24
Coficiente de variación (%)	40,61	67,18	25,50
Error estándar (días)	2,34	2,48	1,73
Mínimo (días)	3	2	10
Mediana (días)	27	10,5	16,5
Máximo (días)	37	27	20
Límite inferior IC 95%(días)	18,1	6,07	11,5
Límite superior IC 95% (días)	28,1	17,3	20,5

días, y que a su vez es menor a lo observado en el tratamiento de sostén, cuyo intervalo se extiende desde 3 hasta 37 días.

El resultado del test de F mostró que la diferencia entre varianzas no fue significativa entre los tratamientos de sostén y sostén-LPSB ( $p = 0,3014$ ), por lo que puede inferirse que los tratamientos no modificaron la dispersión de los días de evolución desfavorable, en tanto que la varianza observada en el tratamiento sostén-AZP fue menor a la observada en el tratamiento de sostén ( $p = 0,0445$ ), resultado que permite inferir que los tratamientos tuvieron efectos diferentes en cuanto a la dispersión de los días de evolución.

## DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio proporcionan información acerca de la actividad de dos terapias alternativas: los LPSB y la AZP, que se emplean como complemento del tratamiento de sostén de caninos afectados de distemper.

En una primera instancia, desde un punto de vista estadístico, no se hallaron diferencias entre las proporciones de los individuos con evolución favorable/desfavorable con el uso de los tratamientos de sostén-LPSB y sostén-AZP respecto de la proporción observada con tratamiento de sostén, lo que a priori se puede interpretar como la inexistencia de relevancia clínica en el uso LPSB y AZP.

Una postura ante los resultados obtenidos, sería asumir la posibilidad de que la ausencia de diferencias entre los tres tratamientos podría haber sido determinada por un insuficiente número de individuos incluidos en el ensayo, que no garantizaron la adecuada potencia del test estadístico utilizado.

Sin embargo, si analizamos el resultado teniendo en cuenta el concepto de relevancia clínica (Iraurgi, 2009), las diferencias que se hubieran podido confirmar desde un punto de vista estadístico incluyendo en el ensayo un mayor número de individuos, podrían no tener relevancia en el ejercicio de la clínica por dos motivos, en primer lugar porque la diferencia hallada podría no ser de tal magnitud que representase un progreso en el tratamiento de la enfermedad; en segundo lugar porque un profesional a partir de la casuística cotidiana, difícilmente podría percibir diferencias entre la eficacia de uno u otro esquema terapéutico alternativo que justifiquen su utilización.

En una segunda instancia se evaluó la eficacia de las terapias de sostén, sostén-LPSB y sostén-AZP teniendo en cuenta el impacto de cada una de ellas sobre la calidad de vida de los pacientes considerando el tiempo de recuperación de los individuos.

Aunque a primera vista se observaron diferencias entre los valores promedio de los días de evolución favorable en cada uno de los tres esquemas terapéuticos evaluados, los valores mínimos y máximos proporcionaron la primer evidencia del impacto clínico de los esquemas terapéuticos, ya que en el caso del tratamiento sostén-AZP, la amplitud del tiempo de recuperación clínica abarcó desde 14 hasta 62 días, siendo mayor a la observada en el tratamiento sostén-LPSB, la que presentó una amplitud de 7 a 28 días. En un lugar intermedio se halló el tratamiento de sostén, que se extendió desde los 7 hasta los 48 días.

Estos resultados demuestran que la incorporación tanto de LPSB como de AZP a la terapéutica de sostén, si bien no mejoran la proporción de individuos con evolución favorable, actúan modificando la duración de la recuperación clínica y afectan la calidad de vida de los individuos, observándose una

notoria reducción en el intervalo del tiempo de recuperación de los individuos que recibieron la terapia de sostén-LPSB.

El análisis estadístico de la dispersión de los valores de días de recuperación con el test de F demostró que la varianza de los días de evolución favorable de los caninos tratados con la terapia sostén-LPSB fue menor respecto de la observada en el tratamiento de sostén, mientras que por el contrario, la incorporación de AZP incrementó el valor de la misma respecto de lo observado en el tratamiento de sostén.

Considerando el contexto experimental de este ensayo, los resultados obtenidos con la incorporación de LPSB como coadyuvante de la terapia de sostén, permiten inferir que esta propuesta terapéutica tiene relevancia clínica, ya que es indiscutible la importancia de la variabilidad de los días en los cuales el profesional debe esperar para que se produzca la resolución favorable del cuadro clínico. Desde esta perspectiva, un tratamiento que aporte evidencia de lograr la recuperación del paciente en menor tiempo y que ese tiempo sea más o menos similar para todos los individuos, es un elemento a favor para la elección de un esquema terapéutico respecto de otro, cuyos resultados expresados como días de resolución sean impredecibles, y la duración de su evolución pueda llegar a prolongarse en demasía. Este hallazgo puede explicarse por la respuesta favorable del sistema inmune, luego de ser estimulado por la “inflamación aséptica” provocada por la administración de los LPSB.

Por el contrario, la incorporación de un fármaco inmunosupresor como la AZP a la terapéutica, originó una gran incertidumbre en cuanto al tiempo de recuperación de los individuos, que se manifestó por valores máximos y mínimos muy alejados entre sí (14 y 62 días), prolongó innecesariamente el tiempo de recuperación de muchos pacientes

afectando negativamente la calidad de vida de los mismos.

Considerando la utilización de AZP en la terapia antiviral, sin lugar a dudas, esta podría llegar a interferir en la replicación del VDC, fenómeno que ha sido demostrado *in vitro* sobre otros virus, como por ejemplo el causante de la diarrea viral bovina (Spencer and Striker, 2008). Sin embargo, no debemos dejar de considerar que las condiciones experimentales con las cuales se realizan los ensayos *in vitro* son “ideales” desde el punto de vista técnico, y no se corresponden de manera lineal con la situación en la cual el medicamento debe interactuar en una entidad viviente.

En nuestro caso, el balance entre la actividad antiviral y la inmunosupresión pudo haber llegado a ser negativo, impidiendo que las defensas naturales del organismo sean competentes para responder a la infección, resultando mayor el daño provocado que el efecto antiviral.

Consideramos que nuestros hallazgos constituyen un aporte para el esclarecimiento de numerosas opiniones y conceptos que circulan en el ámbito profesional y académico, provenientes en su mayor parte de la experiencia y de la casuística cotidiana y que son de muy difícil justificación, ya que un clínico al evaluar la eficacia de un esquema terapéutico, se basa generalmente en un número limitado de casos, sin utilizar grupos control.

En base a los resultados obtenidos concluimos que aún cuando el porcentaje de caninos afectados por distemper que tuvieron una evolución desfavorable no pudo ser reducido por ninguna de las terapéuticas ensayadas en este estudio, la incorporación de un inmunoestimulante como los LPSB, contribuyó a acortar el tiempo de resolución favorable y a que la amplitud entre días mínimos y máximos de recuperación fuese más

homogénea y predecible. Por el contrario con la incorporación de un inmunosupresor como la AZP al esquema terapéutico de sostén, no solamente no se obtuvieron ventajas sino que además prolongó innecesariamente el tiempo de recuperación de los individuos.

## AGRADECIMIENTOS

Este estudio pudo realizarse gracias al aporte económico proporcionado por la Universidad Nacional del Litoral, Argentina, en el marco de la convocatoria de Proyectos CAI+D, y a la colaboración del personal docente del Área de Pequeños Animales del Hospital de Salud Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Litoral.

## BIBLIOGRAFÍA

- AIXELÁ, C.** 2001. Efecto de la azatioprina en casos de moquillo canino. *Revista Clínica Veterinaria de Pequeños Animales*, 21(2). <http://www.avepa.org/cientifica/21-02/com02.htm>
- ALVING, C.R.** 1993. Lipopolysaccharide, lipid A, and liposomes containing lipid A as immunologic adjuvants. *Immunobiol* 187:430-446.
- ALLAVANA, P.; A. RROI; A. PIRELLI; L. LICCIARDELLO & A. MANTOVANI.** 1989. Stimulation of cytotoxic and non-cytotoxic functions of natural killer cells by bacterial membrane proteoglycans and ribosomes. *Int. J. Immunopharmacol.* 11:29-34.
- BASTA, S.; S. KNOETIG; A. SUMMERFIELD & K.C. McCULLOUGH.** 2001. Lipopolysaccharide and phorbol 12-myristate 13 acetate both impair monocyte differentiation, relating cellular function to virus susceptibility. *Immunology* 103:488-497.
- BEALE, K. M.** 1988. Azathioprine for treatment of immune-mediated diseases of dogs and cats. *J.A.V.M.A.* 192: 1316-1318.
- BRIGGS, G.G.; R.K. FREEMAN & J.Y. SUMNER.** 1990. A reference guide to fetal and neonatal risk, *Drugs in pregnancy and lactation* (4th Ed.) Williams and Wilkins, London, 79-82.
- COULTHARD, S.A.; L.A. HOGARTH; M. LITTLE; E.C. MATHESON; C.P REDFERN; L. MINTO & A.G. HALL.** 2002. The effect of thiopurine methyltransferase expression on sensitivity to thiopurine drugs. *Mol. Pharmacol.* 62: 102-109.
- DOLLERY, C.** 1991. *Therapeutic drugs*, Volume 1, Churchill, Livingstone, London, pp. 181-185.
- FAO.** 1998. *Red De Cooperación Técnica ONU. Manual De Técnicas De Diagnósticos Viroológicos.*
- GREENE, C.E. & M.J. APPEL.** 2006. Canine distemper (pp. 25-41). In: GREENE, C.E. (eds.). *Infectious diseases of the dog and cat*. 3rd ed. Saunders Elsevier, St Louis.
- HOOVER, S. & R. STRIKER.** 2006. Thiopurines inhibit bovine viral diarrhoea virus production in a thiopurine methyltransferase-dependent manner. *J. Gen. Virol.* 89: 1000-1009.
- HOUSTON, D. M. & J.A. TAYLOR.** 1991. Acute pancreatitis and bone marrow suppression in a dog given azathioprine. *Can. Vet. J.* 32: 496-497.
- IRAURGI, I.** 2009. Evaluación de los resultados clínicos I: Entre la significación estadística y la relevancia clínica. *Norte de Salud Mental.* 33: 94-108.
- JACOBS, D.M.** 1981. Immunomodulatory effects of bacterial lipopolysaccharide. *J. Immunopharmacol.* 3: 119-132.

- KIDD, L.B.; O.E. SALAVAGGIONE; C.L. SZUMLANSKI; J.L. MILLER; R.M. WEINSHILBOUM, & L.TREPANIER.** 2004. Thiopurine methyltransferase activity in red blood cells of dogs. *J. Vet. Int. Med.* 18(2): 214-218.
- LAFONT, S.; I. MILLET; E. KOUASSI; M. JEANNIN; J.P. REVILLARD; G. NORMIER & L. DUSSOURD D'HINTERLAND.** 1988. Induction of murine B cell proliferation and immunoglobulin synthesis by some bacterial ribosomes. *Microbiol. Immunol.* 32:1043-1058.
- LIN, S.N.; K. JESSUP; M. FLOYD; T.P. WANG; C.T. VAN BUREN; R.M. CAPRIOLI & B.D. KAHAN.** 1980. Quantitation of plasma azathioprine and 6-mercaptopurine levels in renal transplant patients. *Transplantation*, 29: 290-294.
- LING, Y.H.; J. Y. CHAN; K. L. BEATTIE & J.A. NELSON.** 1992. Consequences of 6-thioguanine incorporation into DNA on polymerase, ligase, and endonuclease reactions. *Mol. Pharmacol.* 42: 802-807.
- LOUIS, J. & P.H. LAMBERT.** 1979. Lipopolysaccharides: From immunostimulation to autoimmunity. *Springer Semin. Immunopathol.* 2: 215-228.
- McEVOY, G.** 1993. *Drug Information; The American Hospital Formulary Service, American Society of Health-System Pharmacists, Inc.*
- MULCAHY, G. & QUINN, P.J.** 1986. A review of immunomodulators and their application in veterinary medicine. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 2:119-139.
- PINOTTI, M; A. GOLLÁN & H. OCCHI.** 2012. Eficiencia del aislamiento y la inmunofluorescencia (IF) como métodos de apoyo diagnóstico del distemper canino. VII Congreso Argentino de Virología. Buenos Aires. p.134.
- PUJOL, J.L.; B. KLEIN; P. GODARD; L. DUSSOURD & F.B. MICHEL.** 1991. Bacterial ribosomal immunostimulants prime alveolar macrophages *in vivo* to produce interleukin 1 *in vitro*. *Chest* 100: 644-648.
- RINKARDT, N.E. & S.A. KRUTH.** 1996. Azathioprine induced bone marrow toxicity in four dogs. *Can Vet J* 37: 612-13.
- SAHASRANAMAN, S.; D. HOWARD & S. ROY.** 2008. Clinical pharmacology and pharmacogenetics of thiopurines. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 64: 753-767.
- SPENCER, H. & R. STRIKER.** 2008. Thiopurines inhibit bovine viral diarrhea virus production in a thiopurine methyltransferase-dependent manner. *J. Gen. Virol.* 89: 1000-1009.
- STANGL, J. R.; K. L.CARROLL; M. ILLICHMANN & R. STRIKER.** 2004. Effect of antimetabolite immunosuppressants on Flaviviridae, including hepatitis C virus. *Transplantation* 77: 562-567.
- SUNWOO, H.; T. NAKANO; W. DIXON & J. SIM.** 1996. Immune responses in chickens against lipopolysaccharide of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. *Polutry Science.* 75: 342-345.
- VOGT, M.H.; E.H. STET; R. A. DE ABREU; J.P. BOKKERINK; L.H. LAMBOOY & F.J. TRIJBELS.** 1993. The importance of methylthio-IMP for methylmercaptopurine ribonucleoside (Me-MPR) cytotoxicity in Molt F4 human malignant T-lymphoblasts. *Biochim. Biophys. Acta* 1181: 189-194.