



Tratamiento coadyuvante de distemper canino con apitoxina natural

Molina-Molina, E.J. ; Molina-Cuasapaz, E.G.; Lascano Armas, P.J.; Mera-Viera E.H.

Universidad Técnica de Cotopaxi, Latacunga, Cotopaxi, Ecuador. ✉ elsa.molina@utc.edu.ec

Resumen

El distemper canino (DC, moquillo canino) es la enfermedad vírica más difundida en el mundo, altamente contagiosa y letal de los caninos; no existe tratamiento, sólo tratamiento de soporte con antibióticos que van dirigidos a la prevención de infecciones bacterianas secundarias. Para el control de DC se recomienda la inmunización por vacuna. En consecuencia; esta investigación, se llevó a cabo con el objetivo de evaluar el efecto inmunomodulador de la apitoxina natural, mediante picadura de abejas (*Apis mellifera*) como coadyuvante al tratamiento de esta enfermedad. Una vez realizada la anamnesis, exploración clínica y física de los pacientes con sospecha de enfermedad, se utilizó el test para distemper y confirmación por serología. La aplicación de apitoxina, se realizó cada 24 y 48 horas por tres días, y la investigación se llevó bajo el método experimental completamente al azar, con un nivel de confianza de 95%. La titulación de Inmunoglobulina G (IgG) e Inmunoglobulina M (IgM) se determinó con el método de inmunoturbidimetría. Las variables como edad, sexo, peso (pequeños < 8 kg, grandes > 8 kg), vacuna antimoqueillo y etapa de la enfermedad no tuvieron influencia en el nivel de las inmunoglobulinas; en cambio, en el análisis de ANOVA los resultados reflejaron un incremento significativo de IgG a los 21 días luego de la aplicación de apitoxina cada 48 horas, lo que nos lleva a sugerir esta alternativa como terapia coadyuvante para mejorar la respuesta inmune en el tratamiento de soporte para DC.

Palabras clave: perro, inmunoglobulina G, inmunoglobulina M, moquillo.

Adjuvant treatment of canine distemper with natural apitoxin

Abstract. Canine distemper (CD) is the most widespread and highly contagious viral disease in dogs worldwide, with a high mortality rate. No specific treatment exists, only supportive care with antibiotics aimed at preventing secondary bacterial infections. Vaccination is recommended for the control of CD. Consequently, this study was conducted to evaluate the immunomodulatory effect of natural apitoxin through bee stings (*Apis mellifera*) as an adjuvant in the treatment of this disease. Following anamnesis, clinical examination, and physical assessment of suspected cases, a CD test and serological confirmation were performed. Apitoxin application was administered every 24 and 48 hours over three days, using a completely randomized experimental design with a 95% confidence level. Immunoglobulin G (IgG) and Immunoglobulin M (IgM) titers were determined by immunoturbidimetry. Variables such as age, sex, weight (small < 8 kg, large > 8 kg), distemper vaccination, and disease stage showed no influence on immunoglobulin levels. However, ANOVA analysis revealed a significant increase in IgG levels 21 days post-apitoxin application every 48 hours, suggesting this alternative as a potential adjuvant therapy to enhance the immune response in CD supportive treatment.

Key words: dog, immunoglobulin G, immunoglobulin M.

INTRODUCCIÓN

El distemper canino (DC) también conocido como moquillo o Carré, es la enfermedad vírica más difundida en el mundo, altamente contagiosa y letal de los caninos; se transmite por contacto directo, o por consumo de agua

o alimentos contaminados (Rebollar et al. 2020). Su morbilidad varía entre 25 – 75% y la mortalidad alcanza 50 – 90% (Márquez et al. 2006); el agente causal es un virus ARN de cadena negativa del género *Morbilivirus*, familia Paramyxoviridae (Calzada y Vásquez 2024). El DC se presenta como una enfermedad multisistémica que puede

alcanzar el sistema nervioso central (SNC) (Mondino et al. 2019); involucra tejido linfóide, piel, encéfalo, tracto intestinal y respiratorio (Pinotti et al. 2009). En Ecuador, la prevalencia de esta enfermedad puede alcanzar hasta el 50% como es el caso del cantón Guayaquil con el 48,33% con mayor índice de casos positivos en caninos machos no vacunados (Barros 2015), por errores en los calendarios de vacunación o por la deficiente inmunización (Zambrano 2014). Hasta la fecha no se ha reportado medicamentos antivirales para contrarrestar el DC, siendo lo más recomendable la vacunación preventiva (Jensen et al. 2009, Cárdenas y Moncada 2017), sólo se da tratamientos de soporte a las infecciones bacterianas secundarias con antibióticos de amplio espectro (Bogdanchikova et al. 2016), a pesar de ello en etapas tempranas se han obtenido resultados favorables con el uso de ribavirina (Elia et al. 2007), ácidos fenólicos (Carvalho et al. 2013), nanopartículas de plata AgNPs (Bogdanchikova et al. 2016) y en la medicina alternativa el uso de Fucoïdan aditivo de alimentos saludables, los cuales disminuyen la replicación del virus DC (Trejo et al. 2014).

Diversos estudios han reportado el uso de extractos de plantas para contrarrestar algunos males caninos; por ejemplo, la manzanilla (*Chamaemelum nobile*) como alternativa contra las enfermedades periodontales en los caninos (Medina-Arellano y Chang 2017), *Artemisia annua* contra la *Leishmaniosis canina* (Tejada 2016); es por ello que en la actualidad, en el estudio de medicina alternativa surge el uso de productos de la colmena como el propóleo por su contenido de: terpenos polisacáridos, ácidos aromáticos, polifenoles, ésteres de ácidos fenólicos, minerales, vitaminas y aminoácidos, le confieren propiedades antifúngicas, antibacterianas, inmunomoduladoras, anticancerígenas y antivirales; en especial el extracto etanólico del propóleo de abejas nativas mexicanas (*Plebeia frontalis*) que tuvo efecto antiviral sobre el virus de DC cultivado en células VERO (Domínguez et al. 2020); también se ha utilizado en el tratamiento de enfermedad periodontal de caninos domésticos, con los mejores resultados terapéuticos sobre la asociación bacteriana de *Staphylococcus* spp. y *Corynebacterium* spp.; así como *Lactobacillus* spp. y *Enterobacterias* (Medina et al. 2021).

Además, en la hipótesis neutrosófica para validar la eficacia y seguridad del propóleo en el tratamiento de la otitis bacteriana externa en caninos; realizada mediante cuestionarios a expertos veterinarios, validan el uso del propóleo con efectividad y seguridad, sin provocar efectos secundarios en los pacientes, superando algunos de los tratamientos convencionales con antibióticos (Cueva 2024). Otro producto de la colmena utilizado en el tratamiento de enfermedades musculoesqueléticas en perros es la apitoxina, que propició cambios positivos en la evolución funcional, y disminuyeron los signos de dolor. (Jaramillo y Hidalgo 2024).

El veneno de las abejas (*Apis mellifera*) o apitoxina y sus componentes han sido ampliamente estudiados con respecto a su potencial para contrarrestar o mejorar diversas enfermedades como: artritis reumatoide, esclerosis múltiple, lupus, afecciones del sistema nervioso, respiratorio y enfermedades de tipo viral como herpes Zoster, herpes genital (Ocampo 2017, Flores et al. 2019). También se ha utilizado en gingivitis y periodontitis; la apitoxina contiene:

melitina, apamina, MCD, péptido 401, entre otros; y enzimas como la fosfolipasa A₂ y hialuronidasa, que desencadenan la respuesta inmune, actuando concomitantemente en el proceso de neutralización del virus DC (Faúndez et al. 2011, Peña-Llontop et al. 2023). Por este motivo, la apitoxina tiene valores curativos (Cantillo 2018), con propiedades antiinflamatorias e inmunológicas que actúan nivelando los anticuerpos (Ocampo 2017).

La apitoxina tiene actividad antibacteriana contra *Borrelia burgdorferi*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas putida*, *Salmonella typhimurium*, y agentes que causan caries dental; su actividad antiviral se ha demostrado en ensayos in vitro e in vivo sobre virus envueltos (Influenza A) y no envueltos (enterovirus-71); también es responsable de inhibir la replicación del VIH (Pérez et al. 2023). Además, incrementa la producción de interferón, aumenta la circulación, dilata los vasos sanguíneos, y acelera el metabolismo con un mayor aporte de oxígeno, lo que ayuda a la regulación de las alteraciones del DC; igual al efecto producido por la histamina (Martínez y Álvarez 2016, De la Torre 2020).

El control de enfermedades infecciosas con apitoxina, puede validarse por su efecto estimulante del sistema inmunológico, por medio de inmunidad adaptativa tanto humoral (IgG e IgM) como celular a través de linfocitos B y T (Abbas et al. 2012), debido al efecto lítico de la melitina que se une a la superficie de las membranas celulares alterando la integridad de las bicapas de fosfolípidos, creando poros que pueden ocasionar lisis celular, con actividad de tipo hemolítica, antimicrobiana, y antiviral, formando pequeños complejos de poros que rompen la envoltura protectora del virus, y atacando una parte vital de su estructura (Alcalá-Escamilla y Moguel-Ordóñez 2024), como las glicoproteínas de envoltura, hemaglutinina y de fusión, responsables del reconocimiento e ingreso del virus a la célula blanco, siendo el principal objetivo de los anticuerpos neutralizantes sintetizados en el sistema inmune del organismo (Céspedes et al. 2010).

La fosfolipasa A₂ hidroliza los fosfolípidos libres y asociados a membranas, convirtiéndolos en ácidos grasos y otras sustancias lipofílicas, que producen lesiones tisulares y muerte celular por lisis, además estimula las células dendríticas de los monocitos, que tienen un papel fundamental en la respuesta inmune (Flores et al. 2019, Alcalá-Escamilla y Moguel-Ordóñez 2024). En los individuos alérgicos en el primer contacto con la apitoxina, los alérgenos ingresan al organismo y son captados por las células presentadoras de antígenos, como las células dendríticas, linfocitos B y monocitos o macrófagos, para presentarlos a los linfocitos CD4 (Th). Los Th se diferencian en Th2 que liberan citoquinas (IL-4, IL-13), y activan a las células B de memoria liberando anticuerpos IgE para unirse a receptores de alta afinidad (FcεRI) en la superficie de los mastocitos o de los basófilos (Gebhardt 2021). En un segundo contacto; el alérgeno se une a estos receptores FcεRI cargados de IgE, activando los mastocitos que poseen dos actividades inmunológicas antagónicas: en cantidades elevadas inhibe la degranulación de mastocitos, e inhiben la liberación de histamina, y actúa como agente antiinflamatorio; sin embargo, en bajas concentraciones provoca la liberación de mediadores inflamatorios (histamina, prostaglandina D2, heparina), dando lugar a la reacción

alérgica de tipo 1 (Gebhardt 2021, Alcalá-Escamilla y Moguel-Ordóñez 2024). En este contexto; una abeja obrera (*A. mellifera*) es capaz de inyectar entre 0,15 y 0,30 mg de apitoxina durante una picadura, siendo la dosis (LD 50) de veneno liofilizado y purificado en ratones, 2,5 a 2,8 mg kg⁻¹ y la (LD100) 6 mg kg⁻¹ por vía endovenosa (Peña et al. 2006, Bucio-Villalobos y Martínez-Jaime 2019).

Al no disponer de suficientes estudios clínicos sobre el uso de la apitoxina en el tratamiento del DC, el objetivo principal de esta investigación es evaluar el efecto inmunomodulador de la apitoxina, mediante picadura de abejas (*A. mellifera*) como coadyuvante al tratamiento del DC.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del estudio. El estudio se realizó en un Centro Médico Veterinario con caninos en consulta de los barrios urbanos y rurales de la Parroquia Juan Montalvo del Cantón Latacunga en la Provincia de Cotopaxi, Ecuador.

Población y muestra. Para esta investigación se extrajo 60 muestras sanguíneas de perros con DC, de 300 caninos domésticos mestizos que llegaron a consulta con sintomatología compatible a la enfermedad entre agosto y diciembre del 2021. El tamaño muestral se calculó mediante la fórmula de muestras finitas (Aguilar 2005):

Donde:

n =tamaño de la muestra

N = 300 (tamaño de la población)

a = 0,5 (desviación estándar de la población)

Z = 1,96 (nivel de confianza)

e = 0,05 (error experimental)

Toma de muestras.

Aspectos éticos. El estudio fue realizado acorde a la resolución del Comité Científico de la Universidad Técnica de Cotopaxi (Caso Ética de la Investigación y del Aprendizaje: CC:003). Considerando los conceptos de las cinco libertades y las tres R, como base para el estudio y mejoramiento del bienestar animal en la experimentación con animales; para el ensayo se utilizó un número reducido de muestras, un profesional conocedor del procedimiento, manipulación, obtención de muestras e inoculación de apitoxina. En consecuencia, esta investigación no generó problemas de mortalidad en los caninos tratados; además, los procedimientos fueron autorizados por los propietarios de los animales.

La información de cada paciente se registró en una ficha clínica individual; se realizó la anamnesis, exploración clínica y física de los caninos con sospecha de enfermedad, permitiendo establecer un diagnóstico presuntivo y el uso de una prueba rápida para *Distemper*, con secreción nasal u ocular en unos casos y en otra sangre. Los 60 perros muestreados se establecieron en tres grupos de 20 animales de acuerdo a: edad (1 – 12 meses, 12 -24 meses y más 24 meses), sexo (hembras y machos), peso (pequeños < 8 kg, grandes > 8 kg), vacuna antimoquillo una dosis (15 machos y 6 hembras); dos dosis (6 hembras), y etapas: subclínica de la enfermedad, con fiebre (40 – 41 °C), decaimiento, pérdida de apetito transitorio, conjuntivitis con secreción serosa; así como, en etapa multisistémica, con fiebre intermitente, tos, deshidratación leve (4 – 6%) y moderada (6 – 8%), pérdida de apetito, diarrea, vómito en unos casos, y secreción oculonasal mucopurulenta.

Tabla 1. Tabla de frecuencia de las variables del ensayo.

| Variables | Valores cuantitativos | Frecuencia absoluta | Frecuencia relativa |
|------------------------------------|-----------------------|---------------------|---------------------|
| Edad | 1-12 meses | 24 | 0,40 |
| | 12-24 meses | 18 | 0,30 |
| | Más de 24 meses | 18 | 0,30 |
| | Total | 60 | 1,00 |
| Sexo | Machos | 24 | 0,40 |
| | Hembras | 36 | 0,60 |
| | Total | 60 | 1,00 |
| Vacunas | Sin vacunas | 33 | 0,55 |
| | 1 sola vacuna | 21 | 0,35 |
| | 2 vacunas | 6 | 0,10 |
| | Total | 60 | 1,00 |
| Peso | Pequeño | 35 | 0,58 |
| | Grande | 25 | 0,42 |
| | Total | 60 | 1,00 |
| Etapas del <i>D. canino</i> | Multisistémica | 15 | 0,25 |
| | Subclínica | 45 | 0,75 |
| | Total | 60 | 1,00 |

Todos los grupos: Grupo T0, Grupo T1 y Grupo T2 recibieron tratamiento convencional con antibiótico de amplio espectro (Kamakosin 0,2 ml kg⁻¹), mucolítico, fluidoterapia y vitaminas del complejo B de acuerdo con el peso. El Grupo T0 fue el de control; el Grupo T1 y el

Grupo T2, recibieron apitoxina natural mediante picadura de abejas disponibles en apiarios del lugar: dos abejas (0,6 mg) en caninos pequeños y tres abejas (0,9 mg) en caninos grandes los días 1,2,3 (T1 cada 24 h), y los días 1,3,5 (T2 cada 48 h). La aplicación de los piquetes, se realizó de

forma manual, sujetando las abejas en contacto con el área ventrocaudal del paciente, a los lados de la línea alba y bajo el ombligo. Considerando que la piel a los lados de la línea alba, en su tercio caudal, es delgada, con irrigación de la epigástrica superficial y menor sensibilidad, siendo el lugar más aconsejable para diferentes prácticas en la medicina veterinaria (Morales 2009).

Las muestras de sangre se tomaron el día 0 antes del tratamiento y el día 21 después del tratamiento; para su recolección, se rasuró el antebrazo, se desinfectó con alcohol al 70% la zona de punción con una torunda de algodón, y se extrajo de 3 – 4 ml de sangre mediante el uso de jeringuilla con aguja 22G x 1 1/4. La sangre extraída se depositó en tubos Vacutainer tapa Roja sin anticoagulante, con su respectiva identificación. El traslado se llevó a cabo en una nevera portátil a 4 °C hasta el laboratorio para determinar los niveles de IgG e IgM mediante el método de inmunoturbidimetría, a una longitud de onda de 340 nm en un fotómetro semiautomático, marca HUMAN, modelo HUMALYZER PRIMUS, SERIE 604827; para la ejecución del análisis, se utilizó 2 kit de 50 determinaciones tanto para IgM como para IgG, con reactivos de la casa comercial SPINREACT.

Factores en estudio. Inmunoglobulina G (IgG) e Inmunoglobulina M (IgM) día 0 y 21 luego de aplicada la apitoxina.

Diseño experimental. El análisis de varianza (ANOVA) se realizó en un diseño experimental completamente al azar, con el valor de $p < 0,05$, error experimental de 5% de significancia y un nivel de confianza del 95%, seguido de una prueba de Tukey post hoc, mediante el uso del programa R (R

Core Team 2022) con los paquetes “*openxlsx*” (Schauberger y Walker 2023) “*emmeans*” (Lenth et al. 2024) “*ggplot2*” (Wickham 2016).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En esta investigación; de los 60 caninos en estudio, el 45% de individuos recibieron vacunación antimoquilo, y sólo el 10% de estos, habrían recibido la segunda dosis de refuerzo, pero no garantizaron que se la aplicó en el tiempo estipulado, es decir entre 15 y 30 días de la primera vacuna, como es sugerido por Rubio et al. (2018) quienes señalan que el intervalo entre las vacunaciones no deben ser menores de 15 días ni mayores a 30 días, lo que nos hace suponer que el individuo no desarrollo inmunidad contra el DC.

Por otro lado, los animales se dividieron en dos grupos según el peso: los caninos pequeños se los consideró a aquellos cuyo peso era menor a 8 kg y un peso mayor a 8 kg los caninos grandes. Esta división se realizó bajo el criterio de la LD100 de la apitoxina (6 mg kg⁻¹) por vía endovenosa, y cuando el rango de toxicidad en una reacción no inmunológica depende de la dosis del veneno; desde una reacción insignificante, hasta la muerte (Peña et al. 2006). En nuestro estudio se aplicó entre el 10 y 15% de apitoxina respectivamente, porcentaje con el cual los individuos no presentaron reacciones alérgicas.

Asimismo, en las variables edad, sexo, vacunas, peso y etapa de la enfermedad, a pesar de presentarse en distintos porcentajes (Tabla 1) no tuvieron influencia significativa en la titulación de IgG e IgM durante el estudio, como se observa en la Tabla 2.

Tabla 2. Valores del Chi cuadrado de las variables del ensayo.

| Variables | Chi cuadrado | Grados de libertad | Valor de p |
|-------------------|--------------|--------------------|------------|
| IgG día 0 | | | |
| Edad | 5,09 | 6 | 0,53 |
| Sexo | 1,73 | 2 | 0,42 |
| Vacunas | 2,18 | 4 | 0,7 |
| Peso | 70,74 | 4 | 0,69 |
| Etapa | 3,051 | 2 | 0,22 |
| IgG día 21 | | | |
| Edad | 4,03 | 6 | 0,67 |
| Sexo | 2,18 | 2 | 0,34 |
| Vacunas | 0,93 | 4 | 0,92 |
| Peso | 15,92 | 4 | 0,26 |
| Etapa | 4,62 | 2 | 0,10 |
| IgM día 0 | | | |
| Edad | 5,12 | 6 | 0,52 |
| Sexo | 2,2 | 2 | 0,33 |
| Vacunas | 3,37 | 4 | 0,50 |
| Peso | 21,34 | 4 | 0,87 |
| Etapa | 0,84 | 2 | 0,66 |
| IgM día 21 | | | |
| Edad | 5,34 | 6 | 0,50 |
| Sexo | 0,18 | 2 | 0,91 |
| Vacunas | 2,88 | 4 | 0,58 |
| Peso | 2,07 | 4 | 0,50 |
| Etapa | 2,71 | 2 | 0,26 |

El DC es de distribución global, altamente contagioso y letal de los caninos; caracterizado por dañar la inmunidad innata y adaptativa desde el inicio del cuadro infeccioso, y debido a la inexistencia de protocolos terapéuticos estandarizados y más aún, de antivirales específicos, los tratamientos actuales persiguen controlar el cuadro multisistémico de la enfermedad (Céspedes et al. 2010, Rebollar et al. 2020). Por ello, el uso de apitoxina y su compleja mezcla de bioactivos (péptidos, enzimas y compuestos de bajo peso molecular), con sus principales alérgenos como fosfolipasa A₂, hialuronidasa y melitina, son los que desencadenan la respuesta inmune que actúan concomitantemente en el proceso de neutralización del virus DC (De la Torre 2020, Peña-Llontop et al. 2023).

La respuesta positiva de la aplicación de apitoxina en esta investigación se observa en la Tabla 3, en la cual la concentración de IgG es significativa ($p=0,04$). Al observar la concentración de IgG en el día cero no presenta variación con un valor promedio de 6,4 gL⁻¹; mientras que la IgG a los 21 días del tratamiento el grupo de control disminuyó aproximadamente un 0,5 gL⁻¹, en cambio en el Tratamiento 1 y 2 la IgG se incrementó en promedio 1,0 y 2,8 gL⁻¹, respectivamente, a pesar de que en este último, la apitoxina fue aplicada cada 48 horas; este incremento significativo de 35% comparado con el control supone un desarrollo de inmunidad ante la presencia de DC, similar a lo reportado por Cruz Barajas (2023), quien señala que, el incremento de IgG es una respuesta positiva contra el virus del DC encontrando valores y comportamiento similar en perros que han sido vacunados con el refuerzo anual. De igual manera, Bergmann et al. (2021), señalan en su reporte un comportamiento similar de la IgG luego de la aplicación de la vacuna contra DC, en el grupo de caninos con peso mayor a 30 kg, de edad adulta y sin refuerzos previos.

Asimismo, De la Torre (2020), y Alcalá-Escamilla y Moguel-Ordóñez (2024) sugieren que la recuperación de los animales con DC podría explicarse por los efectos funcionales de la apitoxina que incrementa sus defensas, ejerciendo influencia sobre la actividad del sistema hipofiso-suprarrenal, estimulando la producción de anticuerpos y algunas funciones de las endorfinas sobre el sistema endocrino de las células T del timo, del interferón, y prostaglandinas que determinan una reacción alérgica tipo 1 en los caninos con liberación sostenida de histamina en

subcutáneo sin edema de glotis; así como, el mecanismo de acción de los componentes de la apitoxina sobre las bacterias que destruyen la pared celular, cambiando la permeabilidad de membrana, que permite fuga del contenido celular y bloquea la actividad metabólica, provocando la muerte celular. Además, Castillo et al. (2024), coinciden en que el efecto estimulante de la apitoxina sobre el sistema inmunológico de los perros se manifiesta en la formación de células multinucleares, monocitos, macrófagos, linfocitos T y B.

Por otro lado, la concentración de la IgM no presentó diferencias significativas entre los tratamientos, a pesar del incremento en promedio de 20% entre el día cero y el día 21. Estudios en caninos con moquillo canino, mediante técnicas de inmunofluorescencia directa (IFD) e indirecta (IFI), sostienen que ante la exposición natural al virus DC, el sistema inmunológico produce anticuerpos IgM como respuesta temprana en fase aguda de la enfermedad hasta las 2 semanas, y una titulación de IgM mayor o igual a 1:20 indica que se ha producido contacto con virus campo; en estos casos la determinación conjunta de IgG aporta información sobre el grado de protección del animal y su posible evolución (Laboratorio Albéitar 2011); es decir, que el organismo animal produce títulos de IgG en respuesta a la exposición pasada o presente del virus (Greene y Appel 2000).

Ante lo cual, Saltik y Kale (2020) sostienen que la presencia de IgM e IgG específicas de la proteína N viral en perros callejeros infectados naturalmente, el sistema inmunológico puede estar inmunosuprimido en las infecciones por DC, y es difícil diagnosticar la enfermedad sólo con el hallazgo de IgM; sin embargo, una seroconversión que muestra la presencia de IgM específica del virus con respuesta de IgG negativa, indica una infección viral primaria y la detección de IgG específica en una muestra de suero sanguíneo de un perro no vacunado indica que ha estado expuesto al virus en el pasado, coincidiendo con otros estudios que las propiedades de la apitoxina y sus componentes producen efectos terapéuticos en diferentes enfermedades infecciosas, estimulando el sistema inmunológico y, regulando la respuesta inmune (Hwang et al. 2015), cómo se refleja en los resultados de nuestro estudio.

Tabla 3. Valor referencial, Media de los tratamientos con el error estándar (n=20) y el valor de p del Análisis de Varianza (ANOVA) examinando los efectos de la Apitoxina (aplicaciones cada 24 y 48 horas) y su interacción en los valores de IgG e IgM al día 0 y 21.

| Tratamiento | Valor Referencial gL ⁻¹ | Testigo | Aplicación cada 24h | Aplicación cada 48 h | Valor de p |
|-------------------|------------------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-------------|
| IgG día 0 | 5-17 | 6,5 ^a ± 0,9 | 6,1 ^a ± 0,6 | 6,6 ^a ± 0,6 | 0,87 |
| IgM día 0 | 0,7-2,7 | 1,3 ^a ± 0,2 | 1,4 ^a ± 0,2 | 1,6 ^a ± 0,3 | 0,77 |
| IgG día 21 | 5-17 | 6,0 ^a ± 0,9 | 7,0 ^a ± 0,7 | 9,3 ^b ± 0,9 | 0,01 |
| IgM día 21 | 0,7-2,7 | 1,8 ^a ± 0,2 | 1,6 ^a ± 0,2 | 1,9 ^a ± 0,2 | 0,29 |

Nota: Letras diferentes indican diferencias significativas ($p<0,05$).

CONCLUSIONES

Con los resultados de este estudio es posible determinar el efecto de la apitoxina a través del tiempo de aplicación, lo cual se refleja en los niveles de inmunoglobulinas, y en la recuperación del estado de salud de los individuos. Las variables como raza, edad, sexo, número de vacunas

antimoquillo y las etapas del DC no reflejaron significancia al no tener correlación con el desarrollo inmunológico de los animales durante la intervención con la apitoxina en el curso de la enfermedad.

Por otro lado, en el contexto del sistema inmunológico, el rol de las células dendríticas no se conoce del todo para el virus DC en perros domésticos; Sin embargo, mientras

no se pueda demostrar dicho efecto modulador sobre las células dendríticas caninas *in vitro*, el efecto terapéutico de la apitoxina en esta investigación se limita a la evaluación *in vivo* de pacientes infectados de manera natural. Restricción que obedece a un área de la inmunología veterinaria poco abordada en la actualidad.

Por tanto, la aplicación de apitoxina como coadyuvante al tratamiento de soporte con antibióticos de amplio espectro es positivo para mejorar la respuesta inmune en el control y tratamiento del moquillo canino, sin ocasionar daños colaterales en los pacientes, sugiriendo el uso de la apitoxina natural como un complemento a los tratamientos convencionales usados ante la presencia DC en los perros domésticos;

Agradecimientos. Los autores manifiestan su agradecimiento a los propietarios de las mascotas por su predisposición para la aplicación de la apitoxina como tratamiento alternativo, al Centro Médico Veterinario por las facilidades prestadas para la realización de esta investigación.

ORCID

Molina-Molina, E.J.  <https://orcid.org/0000-0002-5264-2318>

REFERENCIAS

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai Sh. Inmunología celular y molecular. Décima edición. Barcelona, España, *Elsevier Saunders*. 2012; pp 600.
2. Aguilar-Barojas S. Fórmulas para el cálculo de la muestra en investigaciones de salud. *Salud Publica*. 2005; 11(1-2): 333-338.
3. Alcalá-Escamilla KI, Moguel-Ordóñez YB. Principales componentes bioactivos y propiedades terapéuticas del veneno de abeja (*Apis mellifera L.*). Revisión. *Rev. Mex. Cienc. Pecu*. 2024; 15(1): 230-248.
4. Barros Figueroa AV. Determinación de la incidencia de *Distemper canino* por el método de test rápido CDV en el cantón Naranjal. *TFG*. Guayaquil: Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, Facultad de Educación Técnica para el Desarrollo. 2015.
5. Bergmann M, Freisl M, Zablotski Y, Khan MAA, Speck S, Truyen U, Hartmann K. Prevalence of Neutralizing Antibodies to Canine Distemper Virus and Response to Vaccination in Client-Owned Adult Healthy Dogs. *Viruses*. 2021; 13: 945.
6. Bogdanchikova N, Vázquez R, Huerta-Sanquero A, Pena-Jasso A, Aguilar- Uscanga G, Picos-Díaz P, Pestryakov A, Burmistrov V, Martynyuk, O Vazquez -Gomez R, Almanza-Reyes H. Silver nanoparticles composition for treatment of distemper in dogs. *Int. J. Nanotechnol*. 2016; 13(1-3): 227-237.
7. Bucio-Villalobos C, Martínez-Jaime O. Extracción de apitoxina con un colector eléctrico en Irapuato, Guanajuato, México. *Agron. Mesoam*. 2019; 30(2): 459-467
8. Calzada L, Vásquez L. Moquillo Canino: Fisiopatología y signos clínicos. *Vanguard. Veterinaria* 2024.
9. Cantillo-Oviedo O. Revisión bibliográfica de apiterapia. 2018; 1-4. Último acceso 24/08/2024. Disponible en: <https://instituciones.sld.cu/fcmdoct/files/2019/02/Revision-Bibliografica-apiterapia.pdf>
10. Cárdenas-Zuluaga LC, Moncada-Palacio DA. *Distemper canino*, revisión sistemática. Proyecto de Grado 2017, Universidad Tecnológica de Periera. p. 1-39.
11. Carvalho O, Botelho C, Ferreira C, Ferreira H, Santos-Diaz M, Oliveira T, Soares-Martins J, Almeida-Júnior AS. In vitro inhibition of canine distemper virus by flavonoids and phenolic acids: Implications of structural differences for antiviral design. *Res Vet Sci*. 2013; 95(2): 717-724.
12. Castillo G, Montalván B, Rodríguez N, Bonilla JL. Efecto del propóleo y apitoxina de abeja melífera (*Apis mellifera scutellata*) en el proceso de cicatrización de heridas en animales. *Universitas (León)*. 2024; 15(2): 32-38.
13. Céspedes P, Cruz P, Navarro C. Modulación de la respuesta inmune durante la infección por virus distemper canino: implicancias terapéuticas y en el desarrollo de vacunas. *Rev. Med. Vet.* 2010; 21(2): 35-42.
14. Cruz Barajas MC. Determinación de Títulos de Anticuerpos Anti-Moquillo en Caninos de Bucaramanga y su Área Metropolitana. Trabajo de Grado (Médico Veterinario), Universidad de Santander, Bucaramanga, Colombia. 2023. p. 15-19.
15. Cueva Salazar NM. Hipótesis neutrosófica para validar la eficacia y seguridad del propóleo en el tratamiento de la otitis bacteriana externa en caninos. *NSS*. 2024; 69(69): 41-48.
16. De la Torre S. Apitoxina: Liberador de histamina en el tratamiento del distemper canino. *Scribd*. 2020; p. 1-10. Último acceso 28/09//2024. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/459026531/APITOXINA-EN-EL-TRATAMIENTO-DEL-DISTEMPER-CANINO-docx>.
17. Domínguez O, Rodríguez B, Cruz A, García C, Nieto J, Soto C. Evaluation of the Antiviral Activity of Propolis from Native Bees (*Plebeia frontalis*) against Canine Distemper Virus. *Open J. Vet. Med*. 2020; 10(12): 207-218.
18. Elia G, Belloli C, Cirone F, Lucente MS, Caruso M, Martella V, Decaro N, Buonavoglia C, Ormas P. *In vitro* efficacy of ribavirin against canine distemper virus. *Antivir Res*. 2007; 77(2): 108-113.
19. Faúndez W, Narváez C, Burgos A. Anti-inflammatory effect of apitoxin and *Apis mellifera* on prostaglandin E2 in gingival crevicular fluid of patients with and without periodontal disease, submitted to apitherapy: preliminary test. *Rev. Chil. Periodontol*. 2011; 4(2): 64-68.
20. Flores E, Álvarez S, Haramati J, Viveros P, López R. Efecto del tratamiento de apitoxina (veneno de *Apis mellifera*) en la sobrevida de ratones BALB/c con Linfoma murino L-5178-Y. *e-Cucba*. 2019; 6(11): 18-22.
21. Gebhardt L. Alergia veneno himenópteros: perfil clínico y cambios inmunológicos en pacientes tratados con inmunoterapia específica. Trabajo de Grado

- (Médico). Universidad de Cantabria, Santander, España. 2021. p. 1- 46.
22. Greene C, Appel J. Enfermedades Infecciosas en Perros y Gatos. 2ª Ed. México D. F.: Ed. Mc Graw-Hill Interamericana; 2000. p. 236-252.
 23. Hwang D, Kim S, Bae H. Psoralen: Therapeutic Effects of Bee Venom on Immunological and Neurological Diseases. *Toxins*. 2015; 7: 2413-2421.
 24. Jaramillo R, Hidalgo E. Efectividad de la apitoxina como tratamiento complementario para el manejo del dolor en perros con enfermedades musculoesqueléticas. *ConcienciaDigital*. 2024; 7(1.2): 132-150.
 25. Jensen T, Nielsen L, Aasted B, Blixenkrone M. Early life DNA vaccination with the H gene of Canine distemper virus induces robust protection against distemper. *Vaccine*. 2009; 27(38): 5178-5183.
 26. Laboratorio Albeitar, Morales M. Aportaciones al diagnóstico serológico en moquillo. Albeitar. 2011; p. 1-6. Último acceso 01/08/2024. Disponible en: <http://www.albeitar.com/content.php?section=9&element=106>.
 27. Lenth R, Hervé M, Warton D. emmeans: Estimated marginal means, aka least-squares means. R package version 1.7.4. Último acceso 12/10/2024. Disponible en: <https://cran.r-project.org/web/packages/emmeans/index.html>.
 28. Márquez M, Álvarez E, Pérez M. Antibodies seroprevalence against Canine Distemper in non vaccinated dogs in two localities in Havana City. *Rev. Electrón. Vet.* 2006; VII (9):1-6.
 29. Martínez F, Álvarez M. Utilización de medicina complementaria en procesos degenerativos articulares. Tesis de Veterinario, Universidad Nacional de Rosario, Rosario, Argentina. 2016. p. 13-17.
 30. Medina-Arellano D, Chang D. Infusión de Manzanilla (*Matricaria chamomilla*) como tratamiento para la enfermedad periodontal canina. *Rev. Electrón. Vet.* 2017; 18(9): 1-21.
 31. Medina D, Camacho M, García M, Ortega A, Angulo F. Efecto de la tintura de propóleo vs clorhexidina en el tratamiento de la enfermedad periodontal en caninos domésticos. *Rev. Científica*. 2021; XXXI(3): 81-85.
 32. Mondino A, Gutierrez M, Delucchi L. Assessment of tibial nerve somatosensory evoked potentials in dogs with distemper. *Veterinaria (Montev.)*. 2019; 55(211-4): 21-28.
 33. Morales J. Anatomía clínica del perro y gato. 3ra ed. España Cospisterias Don Folio; s.l. 2009; pp 244.
 34. Ocampo SM. Determinación de enfermedades tratadas con apiterapia en el CETAOS durante los años 2011–2017. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, U.L., México. 2017. p. 1-100.
 35. Peña C, Pineda M, Hernández M, Rodríguez A. Toxinas Naturales: abejas y sus venenos. *AVFT*. 2006; 25(1): 6-10.
 36. Peña-Llontop C, Valverde L, Vértiz J, Acosta R, Chicchon J, Chimoy P. Niveles de inmunoglobulinas, proteínas totales, albúmina y parámetros hematológicos en jóvenes varones picados por *Apis mellifera*. *Medicina naturista*. 2023; 17(2): 15-21.
 37. Pérez O, Espinoza A, López E. Antimicrobial activity of *Apis mellifera* bee venom collected in northern Peru. *Antibiotics*. 2023; 12(4): 779.
 38. Pinotti M, Gollan A, Delgado A, Passeggi C, Occhi H, Blainq L, Canavesio M. Canine Distemper. *FAVE, Secc. Cienc. Vet.* 2009; 8(2): 29-45.
 39. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. 2022. Último acceso 12/10/2024. Disponible en: <https://www.r-project.org/>.
 40. Rebollar M, Morales A, González E, Ángeles A, Valladares B, Velásquez V, Rivero N, Zaragoza A. Análisis epidemiológico retrospectivo de Distemper canino en la ciudad de Pachuca de Soto, Estado de Hidalgo. *J. Selva Andina Amin. Sci.* 2020; 7(1): 40-46.
 41. Rubio A, Martínez R, Guzmán H, Chávez F, De la Colina G, Salazar J, Ramírez I, Aufrán de Morais H, Guerrero J. Guías para la vacunación de perros (caninos) y gatos (felinos) en Perú. *Rev. investig. vet. Peru*. 2018; 29(4): 1463-1464.
 42. Saltik H, Kale M. Evaluation of infection with N-protein specific immunoglobulin M and G in naturally occurring distemper in dogs. *Vet. Med. Czech* 2020; 65(4): 168-173.
 43. Schaubberger P, Walker A. _openxlsx: Read, Write and Edit xlsxFiles_. R package version 4.2.5.2. 2023. Última acceso: 10/09/2024. Disponible en: <https://CRAN.R-project.org/package=openxlsx>
 44. Tejada R. *Artemisia annua* contra la leishmaniosis canina: cuatro casos clínicos. *Rev. Fitoter.* 2016; 16(2): 1-16.
 45. Trejo L, Morales M, Marie D, Cruz E, Zapata P, Morán K, Rodríguez C. Anti-virus activity of canine distemper in vitro of fucoidan extracted from the brown algae *Cladosiphon okamuranus*. *Virusdisease*. 2014; 25(4): 474-480.
 46. Wickham H. ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. Tidyverse. 2016. Último acceso: 01/10/2024. Disponible en: <https://ggplot2.tidyverse.org>
 47. Zambrano PC. Estudio inmunocromatográfico y citológico de moquillo canino en perros de la ciudad de Manta. Tesis Magister en salud canina, Universidad Técnica de Machala, Machala, Ecuador. 2014. p. 6-24.