



Universidad Nacional Autónoma De México

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

“Respuesta a la primera exposición de perros entrenados para la detección de COVID-19 a muestras distintas (orina, sudor, cubrebocas y saliva) a las que fueron utilizadas para su entrenamiento (hisopos nasofaríngeos)”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

DIANA CORTÉS BECERRIL

Asesores:

Dra. Arantza Leticia Lassala Irueste

Dr. Carlos Guillermo Gutiérrez Aguilar



Ciudad Universitaria, Cd. Mx., 2024.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIAS

Esta tesis va dedicada a mamá y papá, quienes no han dudado nunca de mi capacidad. Este es uno de los muchos resultados de su constante sacrificio. ¡GRACIAS!

A mi abuelita Gloria, porque me quisiste, me amaste, y hasta el día de hoy sigues estando muy presente en mi vida.

A mi abuela Teresa, porque te prometí que lo lograría y estarías siendo parte de esto.

A mis abuelos: Alfonso y Mario.

A mi Nina, por ser la compañera más orejona y fiel.

A Javier García, porque siempre creíste en mí y fuiste parte del proceso. Sin tu ayuda durante este camino, no estaría aquí.

Por último, también quiero dedicar parte de mi tesis a mi hermano Daniel y a mi amigo Andrés "chapa", por hacerme reír cuando sentía que ya no podía.

*"Todo lo que siempre has querido
está al otro lado del miedo"*

George Addair

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, quiero agradecer al Dr. Carlos Gutiérrez y a la Dra. Arantza Lassala por permitirme formar parte de este equipo de trabajo, por nunca dejarme sola durante el proceso y por todo el apoyo que me brindaron durante la realización de mi tesis.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a mi facultad, por haberme puesto a tantas buenas personas en mi camino y haberme dado todas las herramientas para crecer como persona y construir la mujer que soy.

A los oficiales, instructores, manejadores y caninos del Centro de Adiestramiento de la Policía Militar, sin quienes este proyecto no hubiera sido posible.

Al Laboratorio Biomédica de Referencia S.A de C.V., por el compromiso y material proporcionado.

A los miembros de mi familia, amigos y conocidos, que nunca me dejaron sola en este viaje y me motivaron a continuar.

CONTENIDO

RESUMEN	- 1 -
INTRODUCCIÓN	- 2 -
REVISIÓN DE LITERATURA	- 4 -
Anatomía y fisiología del olfato.....	- 4 -
Sistema olfativo accesorio.	- 7 -
Aprovechamiento por el humano de la capacidad olfativa de algunas especies.....	- 7 -
Particularidades de la anatomía y fisiología del olfato en el perro.	- 11 -
Uso de perros como detectores de enfermedades	- 12 -
COVID-19	- 16 -
Surgimiento, características y patogenia del SARS-CoV-2.....	- 18 -
Métodos de diagnóstico.....	- 21 -
RT-PCR.....	- 21 -
Prueba de antígenos.....	- 22 -
Prueba de anticuerpos.....	- 23 -
Importancia del diagnóstico	- 23 -
Perros utilizados para el tamizaje de muestras de pacientes positivos a COVID-19.....	- 24 -
HIPÓTESIS	- 27 -
OBJETIVO	- 27 -
MATERIALES Y MÉTODOS	- 27 -
Lugar de realización.....	- 27 -
Recolección de muestras.....	- 28 -
Tipos de muestras.....	- 28 -
Métodos de recolección, inactivación de las partículas virales y almacenamiento de las muestras.	- 28 -
Recursos caninos.....	- 30 -
Área de trabajo.....	- 30 -
Proceso de aleatorización y acomodo de las muestras.....	- 31 -
Evaluación del interés de los perros hacia las muestras.....	- 33 -
Orden de presentación de los tipos de muestra.....	- 35 -
Análisis de datos.....	- 35 -

RESULTADOS	- 36 -
Intensidad de reacción e índice de reconocimiento ante la primera exposición de muestras. ...	- 36 -
Sensibilidad y especificidad de los perros en la detección de COVID-19 en diferentes tipos muestras (hisopados nasofaríngeos, cubrebocas, saliva, sudor y orina).....	- 39 -
DISCUSIÓN	- 42 -
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	- 48 -

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Figura 1.....	5
Figura 2.....	6
Figura 3.....	16
Figura 4.....	19
Figura 5.....	30
Figura 6.....	31
Figura 7.....	32
Figura 8.....	36
Figura 9.....	37
Figura 10.....	38
Figura 11.....	39
Figura 12.....	40
Figura 13.....	40
Figura 14.....	41
Cuadro 1.....	8
Cuadro 2.....	14
Cuadro 3.....	15
Cuadro 4.....	25
Cuadro 5.....	34

CORTÉS BECERRIL DIANA. Respuesta a la primera exposición de perros entrenados para la detección de COVID-19 a muestras distintas (orina, sudor, cubrebocas y saliva) a las que fueron utilizadas para su entrenamiento (hisopos nasofaríngeos). (Bajo la asesoría de la Dra. Arantza Leticia Lassala Irueste y el Dr. Carlos Guillermo Gutiérrez Aguilar).

El presente trabajo se realizó durante la pandemia de la enfermedad ocasionada por el SARS-CoV-2. El objetivo fue determinar la eficiencia en la discriminación de muestras positivas a COVID-19 de perros expuestos por primera vez a tipos de muestra diferentes al utilizado para su entrenamiento. El estudio se llevó a cabo en el Centro de Adiestramiento de la Policía Militar (CAPM). Para el estudio se utilizaron diez perros de la raza Pastor Belga Malinois, previamente entrenados para la detección de COVID-19 a partir de muestras de hisopados nasofaríngeos.

Se incluyeron muestras de diez pacientes determinados como positivos a SARS-CoV-2 por medio de PCR, a quienes se les solicitaron muestras de orina, sudor, cubrebocas y saliva. Se obtuvieron también los mismos tipos de muestra de 8 personas voluntarias negativas determinado por PCR. Antes de ser trasladadas al CAPM para su utilización en el estudio, las muestras fueron procesadas para inactivar las partículas virales potencialmente presentes. Para realizar la comparación de la respuesta de los perros hacia los distintos tipos de muestra, se utilizó a los hisopados nasofaríngeos como referencia.

La capacidad de los perros para discriminar el olor de COVID-19 en diferentes tipos de muestra (*i.e.* cubrebocas, orina, toallitas húmedas, hisopados nasofaríngeos y saliva) se examinó en una serie de 10 pruebas consecutivas por tipo de muestra. Las indicaciones acertadas (verdaderos positivos), las indicaciones erróneas (falsos positivos), así como el grado de interés de cada perro hacia las diferentes muestras, se anotaron en una bitácora para su posterior análisis, teniendo como resultados que la eficiencia de discriminación no difiere entre el hisopado nasofaríngeo y los demás tipos de muestra presentados por primera vez (cubrebocas, saliva, sudor y orina). Además, la sensibilidad y la especificidad en la discriminación de muestras fueron similares entre los hisopados nasofaríngeos y los demás tipos de muestras. Lo anterior indica que la firma de olor característica para COVID-19 está presente en diferentes fluidos corporales, lo que permite la toma de muestras de más fácil acceso, con un menor grado de invasividad y con un menor riesgo biológico (ya que se sabe que no hay eliminación de partículas virales en sudor, por ejemplo). La relativa portabilidad de los perros, incluso a zonas remotas, añade otra ventaja a la utilización de este tipo de ayudas diagnósticas para fortalecer la vigilancia epidemiológica.

Respuesta a la primera exposición de perros entrenados para la detección de COVID-19 a muestras distintas (orina, sudor, cubrebocas y saliva) a las que fueron utilizadas para su entrenamiento (hisopos nasofaríngeos).

INTRODUCCIÓN

El elemento más crítico para la vigilancia y control en la infección por SARS-CoV-2 en la población humana durante la pandemia fue sin duda el diagnóstico. De hecho, existe evidencia que indica que el 80% de los pacientes con COVID-19, con la capacidad de eliminar y transmitir el virus, eran asintomáticos (*Meza et al., 2020; Vila, Agustí y García, 2021*).

La prueba de referencia que se utilizaba entonces (y que sigue siendo utilizada) en todo el mundo para el diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 era la reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa en tiempo real (RT-PCR) (*Aguilar et al., 2020*). Para garantizar un resultado confiable, esta prueba requiere, sin embargo, de un laboratorio autorizado que cuente con las medidas de bioseguridad y normatividad adecuadas, además de equipo de protección y personal altamente capacitado para realizar una correcta toma y procesamiento de la muestra. Estas exigencias impidieron que la RT-PCR fuera realizada ubicuamente y a gran escala, además de que elevaban su costo general, por lo que no era accesible para todo el público. Algunos meses después de que la COVID-19 fuera declarada como emergencia de salud mundial, se desarrollaron nuevas alternativas diagnósticas: las pruebas rápidas. Estas pruebas podían ser aplicadas sin necesidad de equipo de laboratorio y tenían como principio la medición de antígenos o anticuerpos directamente en secreciones obtenidas de la cavidad nasal. Aunque su alcance diagnóstico fue mayor en la población, estas pruebas también presentaron limitaciones, ya que su sensibilidad para la medición de antígenos podía caer a niveles inferiores al 80% cuando los títulos virales eran bajos (*Fenollar et al., 2021*). Por otra parte, las pruebas de anticuerpos no eran eficientes en las etapas tempranas de la infección, lo que podía conducir a diagnósticos falsos negativos (*Aguilar*

et al., 2020). Seguía existiendo entonces una necesidad de buscar métodos de diagnóstico prácticos, rápidos, económicos, masivos y efectivos para la detección temprana y tamizaje de casos positivos, con el objetivo de reducir las tasas de mortalidad y el riesgo de transmisión viral entre la población.

Cuando un individuo contrae una determinada enfermedad, comienzan a producirse una serie de alteraciones a nivel metabólico que se reflejan en la generación de o en cambios en la concentración de compuestos orgánicos volátiles (COV), cuyo olor es particular y puede distinguirse incluso si el individuo padece una infección y/o una enfermedad simultánea o subyacente (*Shirasu y Touhara, 2011*). En efecto, los COV son comúnmente liberados del cuerpo en el aliento y están presentes en sangre, piel, saliva, heces y orina, reflejando la condición metabólica de una persona (*Amann et al., 2014*).

La capacidad de los perros para detectar enfermedades por medio del olfato se ha descrito tanto para enfermedades infecciosas como metabólicas e incluso cáncer (*Experimental Biology, 2019*), además de narcolepsia (*Domínguez et al., 2013*) y epilepsia (*Catala et al., 2019*), entre otras. El utilizar perros adiestrados para reconocer la firma de olor de una enfermedad por medio del olfato tiene algunas ventajas sobre otros métodos diagnósticos, tales como la movilidad, la rapidez en la discriminación de olores y los costos relativamente bajos (*Jeziarski et al., 2015*).

Diversos trabajos han demostrado que los perros son capaces de discriminar muestras de personas infectadas por SARS-CoV-2 con sensibilidades superiores al 90% (*Vesga et al., 2021; Grandjeana et al., 2020; Jendrny et al., 2021; Kantele et al., 2022; Twele et al., 2022*), llegando incluso hasta un 98% usando muestras de sudor (*Maurer et al., 2022*). Las muestras que han sido utilizadas para evaluar la eficiencia de los perros durante la realización de estos estudios han variado entre los diferentes grupos de investigación. En Alemania, E.U.A, Francia y el Líbano, por ejemplo, se utilizaron muestras de sudor corporal y axilar (*Jendrny et al., 2021; Maurer et al., 2022; Grandjeana et al., 2020*), mientras que en Finlandia se usaron hisopados de piel y muestras de orina (*Kantele et al., 2022; University of Helsinki, 2020*). También se usaron raspados traqueobronqueales y saliva en Alemania, México y Colombia (*Jendrny et al., 2020; Mancilla et al., 2022;*

Vesga et al., 2021), o hisopados nasofaríngeos, mascarillas y ropa en Irán (*Eskandari et al., 2021*).

La mayoría de los estudios han analizado la eficiencia de los perros para la detección de COVID-19, usando para el diagnóstico el mismo tipo de muestra que fue utilizada para el entrenamiento. Algunos investigadores incluyeron más de un tipo de muestra dentro del mismo trabajo, como es el caso de *Eskandari et al., 2021*, quienes utilizaron muestras de secreciones nasofaríngeas, prendas de vestir y mascarillas. No obstante, los perros se dividieron en grupos y se asignaron a un solo tipo de muestra, por lo que su eficiencia de detección fue evaluada en el mismo tipo de muestra con el que fueron entrenados.

Sería interesante, por lo tanto, determinar si el olor a COVID-19 puede ser discriminado por perros adiestrados en un tipo de muestra distinto al que se les está presentando. El objetivo de este estudio fue determinar si los perros entrenados para discriminar el olor característico de la COVID-19 en hisopados nasofaríngeos son capaces de reconocer este olor, con una eficiencia similar, durante su primera exposición a 4 tipos de muestras distintas (orina, sudor, cubrebocas y saliva) a las utilizadas para su entrenamiento (hisopados nasofaríngeos).

REVISIÓN DE LITERATURA

Anatomía y fisiología del olfato

Para garantizar el correcto funcionamiento de los sentidos, es imprescindible que las neuronas sensoriales capten y transmitan señales a regiones cerebrales especializadas, responsables del procesamiento de información, su discriminación y el desencadenamiento de una respuesta (*Buck y Axel, 1991*).

El sentido del olfato es mediado por el sistema olfativo, que en los mamíferos se divide en el sistema olfativo accesorio y el sistema olfativo principal (*Quignon et al., 2012*). El sistema olfativo principal contiene al epitelio respiratorio y al epitelio olfativo

(neuroepitelio) en la mucosa nasal, así como al bulbo olfatorio. Entre las células que componen el neuroepitelio (Figura 1) se encuentran las neuronas sensoriales olfativas, las cuales expresan receptores específicos que tienen la capacidad de unirse a una o, a lo sumo, a un grupo limitado de moléculas odorantes (Quignon *et al.*, 2012). La combinación en la activación de un conjunto de neuronas por la captación de las moléculas odorantes estimula el reconocimiento de un aroma (Buck y Axel, 1991).

Figura 1. Neuroepitelio olfativo

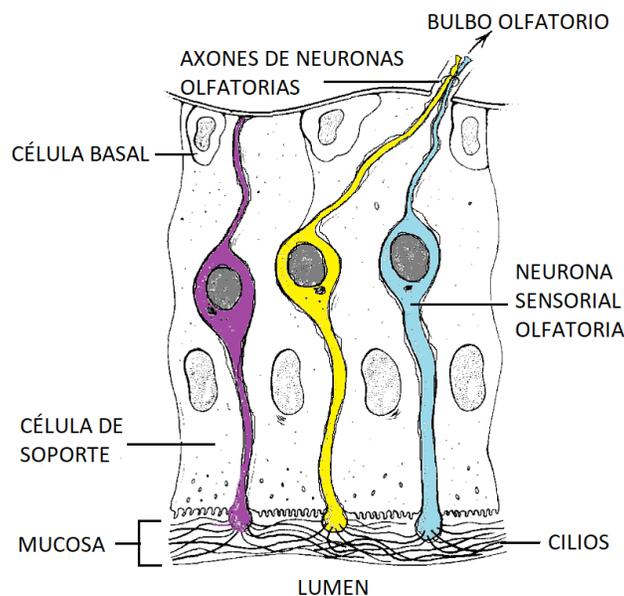
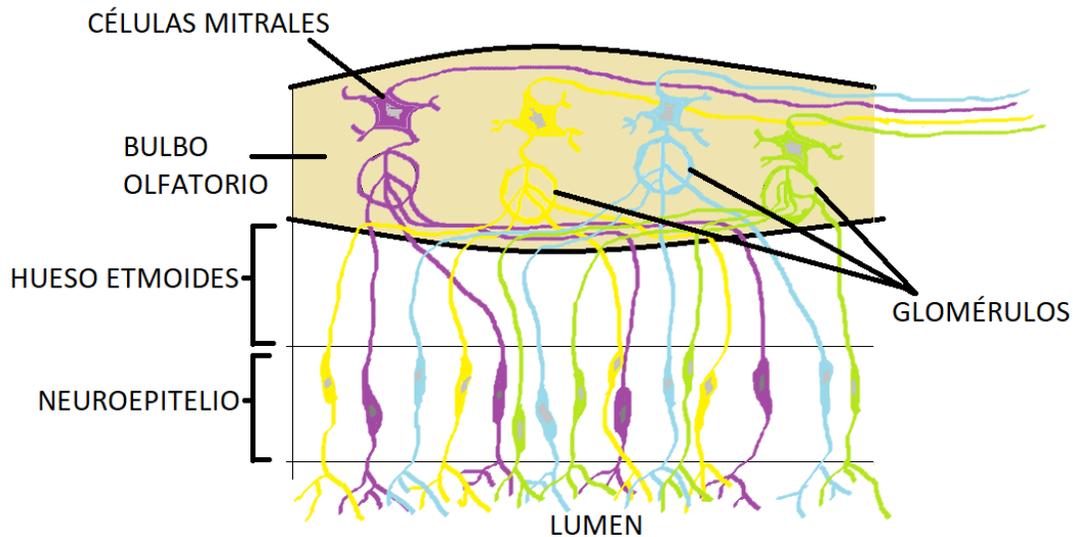


Imagen adaptada de Buck y Axel, 1991

El proceso de olfacción, que va desde la captación de un olor específico hasta la identificación y generación de una respuesta, consta de varias etapas. En la inicial, las neuronas del neuroepitelio olfativo, que proyectan sus cilios hacia el lumen de la cavidad nasal, captan las moléculas odoríferas disueltas en la mucosidad (Buck, 2004). Estas neuronas tienen un solo axón que se extiende y se comunica con el bulbo olfatorio (Figura 2). El bulbo olfatorio está formado por estructuras llamadas glomérulos, que a su vez se componen por el conjunto de axones de las neuronas sensoriales olfatorias que expresan el mismo receptor olfatorio. Los glomérulos establecen sinapsis con células de relevo conocidas como células mitrales que reciben información de un solo glomérulo y que

están ubicadas dentro del mismo bulbo. La función de las células mitrales es la de transmitir la señal a la corteza olfativa a través de sus axones, que forman el tracto olfatorio lateral. La señal llega finalmente a la corteza olfativa, que se localiza a lo largo de la región latero ventral del cerebro (*Quignon et al., 2012*).

Figura 2. Bulbo olfatorio



La corteza olfativa se divide en dos porciones: La primaria y la secundaria. La corteza olfativa primaria abarca diferentes áreas anatómicas que reciben información directamente del bulbo olfatorio e incluyen a la corteza piriforme, al tubérculo olfatorio, al núcleo olfatorio anterior, al complejo amigdalino y a la corteza entorrinal. Desde la corteza olfativa primaria, la información llega a la corteza olfativa secundaria, encargada de las respuestas emocionales, motivacionales y fisiológicas de un individuo (*Buck, 2004*). Esta corteza olfativa secundaria comprende la corteza orbitofrontal, el subnúcleo adicional de la amígdala, el hipotálamo, la ínsula, el tálamo y el hipocampo. (*Buck, 2004; Fuentes et al., 2011*).

La función olfatoria requiere, por lo tanto, de una compleja red neuronal y de la participación correcta de todas las estructuras involucradas en su proceso, ya que las funciones no son exclusivas de cada estructura. Por ejemplo, para que se pueda llevar a cabo la formación de la memoria olfativa, se requiere la participación del bulbo olfatorio,

la corteza piriforme, la corteza entorrinal e incluso del hipocampo (*Sánchez et al., 2005*). De hecho, se concluye que la inactivación o la lesión del bulbo olfatorio afectan por completo el recuerdo de la memoria olfativa a corto y a largo plazo. Es así como el reconocimiento, la transducción de señales al cerebro y la memorización de las moléculas odoríferas contribuyen a una mejor eficiencia del sentido del olfato en los animales y en los humanos.

Sistema olfativo accesorio.

Además de lo anteriormente descrito, existe un sistema olfativo accesorio que incluye al órgano vomeronasal (OVN) y al bulbo olfatorio accesorio. En algunas especies, el sistema olfativo accesorio juega un papel crucial en la comunicación mediante feromonas. No obstante, en el ser humano adulto no se ha encontrado evidencia de la existencia de un bulbo olfatorio accesorio que, de hecho, parece ser un remanente cuyo epitelio es muy distinto al epitelio de otras especies. Además, este carece de axones capaces de establecer una comunicación con el sistema nervioso central (*Meredith, 2001*).

Aprovechamiento por el humano de la capacidad olfativa de algunas especies.

Algunas especies de mamíferos, de insectos y de nematodos han demostrado gran agudeza olfatoria, por lo que han sido evaluados como biosensores en el ámbito de seguridad y/o salud pública (*Quignon et al., 2012*). En el cuadro 1 se muestran algunas de las especies cuyo olfato les proporciona la capacidad para detectar diversos olores y sustancias como personas, explosivos, e incluso enfermedades (cáncer, tuberculosis, brucelosis y malaria, entre otras). Cabe resaltar que los invertebrados parecen ser las especies que requieren un menor tiempo de entrenamiento para cumplir correctamente con las actividades de detección que se les asigne, gracias a su rápido aprendizaje. Algunas especies como los mosquitos y las moscas de la fruta muestran incluso una quimiotaxis natural hacia el olor despedido por personas que padecen malaria o cáncer

de mama respectivamente, con lo que no requieren de un entrenamiento previo (Sugimoto et al., 2022; Busula et al., 2017; Strauch et al., 2014). Sin embargo, existen desventajas en la utilización de insectos y nematodos como biosensores, ya que tienen un ciclo de vida corto, se requiere de muchos individuos para lograr datos confiables y se necesita de técnicos e ingenieros altamente capacitados para su crianza y manejo (Gouzerh et al., 2023), lo que además dificulta la implementación de programas a gran escala.

Las ratas africanas y los perros son los mamíferos más utilizados a nivel mundial como biodetectores bajo circunstancias muy diversas (Wasilewski et al., 2021; Gouzerh et al., 2023). Los perros, sin embargo, tienen una mayor distribución geográfica y una mejor aceptación general que los roedores. Tienen, además, una disposición natural para realizar constantes tareas de búsqueda, por lo que son fáciles de entrenar y pueden ser transportados sin mayor problema (Moser et al., 2019).

Cuadro 1. Especies animales que por su agudeza olfativa han sido utilizadas como biosensores, incluyendo sus ventajas y limitaciones.

Especie	Ejemplos de utilización como biodetectores	Referencias
Abejas	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Explosivos ✓ Drogas y sustancias ilegales ✓ Mieles adulteradas ✓ Larvas de mosca en frutas ✓ Tuberculosis 	<p>(Hadagali y Suan, 2017) (Gouzerh et al., 2023)</p>
	<p>Ventajas: Entrenamiento en menos de 2 días. Mantenimiento fácil y rentable. Menor peso que otros animales (Evitan activación de minas).</p> <p>Limitantes: Dificultad para rastrearlas. Ciclos de vida cortos. Pérdida de olores y de comportamientos aprendidos. Entrenamiento continuo de nuevas abejas. No vuelan de noche. No salen de su colmena durante vientos o lluvias fuertes.</p>	

Hormigas	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Cáncer ✓ Explosivos 	<p>(Piqueret et al., 2022) (Gouzerh et al., 2023)</p> <p>Ventajas: Mantenimiento fácil y rentable en condiciones controladas. Aprenden rápidamente a asociar un estímulo olfativo con una recompensa. Disponibles en un gran número.</p> <p>Limitantes: Se requiere de un número grande de individuos en el estudio para obtener datos confiables (al menos 30). Privados de la vida al final del procedimiento. Su entrenamiento y manejo requiere de personal altamente capacitado.</p>
Saltamontes	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Explosivos 	<p>(Saha et al., 2020)</p> <p>Ventajas: Se recuperan rápido de las cirugías para la implantación de electrodos. Pueden entrenarse con condicionamiento clásico¹. Transportan cargas pesadas.</p> <p>Limitantes: Se fatigan rápidamente y mueren. Su entrenamiento y manejo requiere de personal altamente capacitado.</p>
Mosquitos	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Malaria 	<p>(Cambau y Poljak, 2020) (Busula et al., 2017)</p> <p>Ventajas: Atracción natural por el huésped portador o infectado. No necesitan entrenamiento.</p> <p>Limitantes: Son necesarios muchos individuos. Su manejo requiere de personal altamente capacitado.</p>
Moscas de la fruta	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Cáncer de mama 	<p>(Strauch et al., 2014) (Gouzerh et al., 2023)</p> <p>Ventajas: No necesitan entrenamiento. (Quimiosensores naturales responsivos a olores de células de cáncer de mama humano).</p> <p>Limitantes: Son necesarios muchos individuos para una sola prueba. Privados de la vida después de cada prueba.</p>
Nemátodos	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Cáncer 	<p>(Sugimoto et al., 2022) (Gouzerh et al., 2023)</p> <p>Ventajas: Detectan hasta 15 diferentes tipos de cáncer. No necesitan entrenamiento. Mantenimiento fácil y rentable usando muestras de orina.</p>

¹ Condicionamiento clásico es cuando una conducta dada se asocia a un estímulo positivo.

	Fácil propagación en ambientes controlados.	
	Limitantes: Son necesarios muchos individuos para una sola prueba. Privados de la vida después de cada prueba. Inversión constante.	
<i>Elefantes africanos</i>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Explosivos ✓ Discriminación entre individuos humanos (Aplicaciones forenses). 	<p>(Wasilewski et al., 2021) (von Dürckheim et al., 2018)</p>
	Ventajas: Excelente memoria y capacidad olfativa. No necesitan entrenamiento constante.	
	Limitantes: No son accesibles. Mantenimiento costoso. Dificultad para transportarlos.	
<i>Ratas gigantes de África</i>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Tuberculosis ✓ Brucelosis ✓ Cáncer ✓ Explosivos 	<p>(Mwampashi et al., 2023) (Gouzerh et al., 2023)</p>
	Ventajas: Más rentables y sensibles que otras pruebas diagnósticas. Menor peso que otros animales (Evitan activación de minas).	
	Limitantes: Se requieren de al menos 20 individuos por prueba para obtener datos confiables.	
<i>Perros</i>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Explosivos ✓ Drogas y sustancias ilegales ✓ Personas desaparecidas ✓ Enfermedades (Cuadro 2,3 y 4) 	<p>(Moser et al., 2019) (Gouzerh et al., 2023)</p>
	Ventajas: Facilidad de interpretación del marcaje. Costos relativamente bajos. Facilidad para transportarlos. Disponibilidad gracias a que están ampliamente distribuidos. Disposición para realizar trabajos de búsqueda.	
	Limitantes: Tiempos de entrenamiento más prolongados (semanas).	

Particularidades de la anatomía y fisiología del olfato en el perro.

Como carnívoros, los perros necesitan un sentido del olfato agudo para cumplir necesidades vitales como la localización de alimento o el establecimiento de territorio y también lo requieren para reproducirse (*Kavoi y Jameela, 2011*). Es por ello que evolutivamente han desarrollado una gran capacidad para la discriminación de olores (*Buzek et al., 2022*).

La capacidad olfativa de los perros está relacionada en parte con las características anatómicas de su cavidad nasal y de algunas otras partes de la vía olfatoria (*Buzek et al., 2022*). En comparación con otros mamíferos, los perros tienen un epitelio olfatorio con una mayor superficie debido a que, tanto el epitelio respiratorio como el neuroepitelio se sobrepone y cubren los tres cornetes de cada fosa nasal, dando como resultado una mayor área revestida por mucosa, una disposición más densa de neuronas sensoriales olfatorias y, con ello, una mayor sensibilidad en la captación de olores (*Ho et al., 2023; Quignon et al., 2012*). Además, los perros sanos mantienen cierta humedad en su nariz, lo que contribuye a una mejor captura de las moléculas odoríferas (*Jenkins et al., 2018*).

Dado que la transducción de señales es también esencial para el funcionamiento del sentido del olfato, el bulbo olfatorio debe agregarse a la lista de las características anatómicas de importancia sobre la capacidad olfativa de los perros, ya que es la estructura responsable de que la transmisión de la información llegue desde la nariz hasta el cerebro. En el perro, tanto el bulbo como el tracto olfatorio tienen un mayor tamaño que en especies como las cabras o los humanos (*Kavoi y Jameela, 2011*).

Además de las características anatómicas, las diferencias en la capacidad olfativa entre especies, entre razas o incluso entre individuos, parecen estar determinadas por el número de genes funcionales y de pseudogenes relacionados a los receptores olfatorios (*Quignon et al., 2012*). Los perros tienen cerca de 300 millones de receptores que les otorgan la capacidad para distinguir olores indetectables para otros animales y para el humano (*Buzek et al., 2022; Quignon et al., 2005*). Los polimorfismos de los genes de los receptores olfatorios son, asimismo, fundamentales para determinar la sensibilidad para

detectar olores, ya que existen estudios que señalan que un número mayor de genes no es por sí mismo determinante para el rendimiento olfativo (*Lesniak et al., 2008, Ho et al., 2023*). Se ha observado, por ejemplo, que la sustitución de glicina por arginina en la posición 59 del gen cOR52N9 y de alanina por treonina en la posición 198 del gen cOR9S13 (ambos genes miembros de la familia de receptores olfatorios), pueden tener un impacto significativo en la capacidad olfativa de los perros. Existe entonces una posible relación entre un genotipo particular en un locus específico y la habilidad de los perros para detectar de manera más precisa ciertos compuestos orgánicos volátiles (*Lesniak et al., 2008*). Esta evidencia sugiere que los polimorfismos en los genes de receptores olfativos pueden ser utilizados como marcadores de selección durante la cría de perros rastreadores (*Lesniak et al., 2008*).

Lo anteriormente expuesto indica que la morfometría de los principales componentes que intervienen en el proceso de olfacción en el perro, así como las particularidades genéticas de la especie, contribuyen al excelente desempeño olfativo que la caracteriza.

Uso de perros como detectores de enfermedades.

Los perros entrenados para olfato han sido utilizados para desempeñar múltiples trabajos de detección que son valiosos para el humano, entre los que destaca la detección de drogas, la localización de explosivos, y la búsqueda y rescate de personas desaparecidas, sobrevivientes o de cadáveres.

Recientemente, los perros han sido utilizados también como herramienta para el tamizaje diagnóstico de algunas enfermedades que afectan al ser humano, ya que son capaces de detectar variaciones en los compuestos orgánicos volátiles (COV) que produce el organismo (*Cornu et al., 2011; Dehlinger et al., 2013; Maa et al., 2021*). Los COV son compuestos gaseosos o volátiles que se generan de forma continua en los seres vivos y, comúnmente, son liberados del cuerpo en el aliento. Están presentes en sangre, orina, heces, sudor, saliva, e incluso en la leche, y reflejan la condición metabólica de un organismo (*Amann et al., 2014*). En el ser humano, se han logrado identificar hasta 1840

COV (154 en sangre, 279 en orina, 381 en heces, 532 en secreciones cutáneas o sudor, 359 en saliva, 256 en leche, y hasta 872 compuestos volátiles en el aliento) (*de Lacy Costello et al., 2014*).

Las variaciones en las concentraciones de los COV indican diferencias a nivel fisiológico y también pueden ser utilizados como biomarcadores para el seguimiento de una patología (*Amann et al., 2014; de Lacy Costello et al., 2014*). En efecto, cuando un individuo contrae una enfermedad, se producen alteraciones a nivel metabólico que se reflejan en la generación o cambios en la concentración de COV cuyo olor es distintivo y puede percibirse incluso cuando el individuo padece una enfermedad simultánea o subyacente (*Shirasu y Touhara, 2011*).

La capacidad de los perros para detectar enfermedades por medio del olfato se ha descrito tanto para trastornos crónicos (epilepsia y narcolepsia), como para enfermedades infecciosas o metabólicas (Cuadro 2) e incluso cáncer (Cuadro 3), entre otras. Incluso existen organizaciones dedicadas a promover el adiestramiento, disponibilidad y utilización de los perros a nivel en campo para que actúen como sistemas de alerta para notificar a sus propietarios con anticipación en caso de inminentes crisis de hipoglucemia o hiperglucemia provocadas por enfermedades como la diabetes, o bien, de convulsiones (en el caso de epilepsia), que les permitan tomar las medidas pertinentes con tiempo (*Rodriguez, 2022*). Más aún, los resultados obtenidos en los diferentes estudios indican que el uso de animales para la detección de enfermedades puede alcanzar una eficacia mejor o similar a los métodos de diagnóstico tradicionales de referencia (*Bijland et al., 2013*). Los investigadores que han trabajado en la eficiencia de los perros sobre trastornos como la epilepsia o la narcolepsia en humanos, por ejemplo, refieren sensibilidades y especificidades en la detección por encima del 80%, mientras que para la detección de la malaria y bacteriuria se ha alcanzado una sensibilidad del 71.65% y 100% respectivamente (*Guest et al., 2019; Maurer et al., 2016*).

El utilizar perros adiestrados para reconocer la firma de olor de una enfermedad por medio de su olfato tiene ventajas sobre otros métodos diagnósticos como son la alta eficiencia, la movilidad, la facilidad de interpretación y los costos relativamente bajos

(Jezierski et al., 2015). Adicionalmente, los perros son capaces de percibir a los COV a partir de distintos tipos de muestra con sensibilidad y especificidad que pueden alcanzar el 100% (Cuadros 2 y 3). Diversas publicaciones informan la detección de una enfermedad utilizando un solo tipo de muestra (Gordon et al., 2008, Cornu et al., 2011, Elliker et al., 2014 y Taverna et al., 2015), pero en otros estudios se utilizan diferentes tipos de muestras para evaluar la eficiencia de los perros para detectar una misma enfermedad (Horvath et al., 2010; Sonoda et al., 2011; Admundsen et al., 2014; Catala et al., 2019). La cantidad y el tiempo de almacenamiento de las muestras, el número de perros utilizados en los estudios y la frecuencia de los entrenamientos son factores que pueden explicar las variaciones en los resultados (Cornu et al., 2011; Taverna et al., 2015).

Cuadro 2. Sensibilidad, especificidad y tasa de éxito de perros utilizados en la detección de trastornos crónicos, enfermedades infecciosas y metabólicas en el humano, utilizando distintos tipos de muestra.

	Ref	Muestra utilizada	Sensibilidad	Especificidad
<i>Epilepsia</i>	<i>Catala et al., 2019</i>	Aliento y sudor	86.8%	98%
	<i>Maa et al., 2021</i> (<i>Epilepsia periodo ictal e interictal</i>)	Sudor	65%	88%
	<i>Maa et al., 2021</i>	Sudor	82%	100%
<i>Narcolepsia</i>	<i>Domínguez et al., 2013</i>	Sudor	92%	86%
<i>Bacteriuria:</i> <i>E. Coli</i>	<i>Maurer et al., 2016</i>	Orina	99.6%	91.5%
<i>Enterococcus</i>		Orina	100%	93.9%
<i>Klebsiella</i>		Orina	100%	95.1%
<i>S. aureus</i>		Orina	100%	96.3%
<i>Malaria</i>	<i>Guest et al., 2019</i>	Olor de pies	71.65%	90.65%
<i>Hipoglucemia</i>	<i>Dehlinger et al., 2013</i>	Hisopados de piel	55.5%	52.8%
	<i>Hardin et al., 2015</i>	Sudor y aliento exhalado	77.6%	95.8%
	<i>Los et al., 2017</i>	Sobre la persona	36%	No se indica

	<i>Gonder-Frederick et al., 2017</i>	Sobre la persona	57%	49.3%
	<i>Rooney et al., 2019</i>	Sobre la persona	83%	No se indica
	<i>Wilson et al., 2019</i>	Sobre la persona	55.9%	No se indica
<i>Hiper glucemia</i>	<i>Rooney et al., 2019</i>	Sobre la persona	67%	No se indica
	<i>Wilson et al., 2019</i>	Sobre la persona	36.5%	No se indica

Cuadro 3. Sensibilidad, especificidad y tasa de éxito de perros utilizados en la detección de diferentes tipos de cáncer en el humano.

	Ref	Muestra(s) utilizada(s)	Sensibilidad	Especificidad	Tasa de éxito
<i>Cáncer de vejiga</i>	<i>Willis et al., 2004</i>	Orina			41%
	<i>Willis et al., 2011</i>	Orina	64%	56%- 92%	
<i>Cáncer de pulmón</i>	<i>McCulloch et al., 2006</i>	Aliento exhalado	99%	99%	
	<i>Ehmann et al., 2012</i>	Aliento exhalado	71%	93%	
	<i>Admundsen et al., 2014</i>	Aliento exhalado (antes de broncoscopia)	55.6 -100%	8.3 - 33.3%	
		Orina	60 - 90%	25 - 29.2%	
	<i>Fischer et al., 2018</i>	Aliento exhalado			88- 100%
<i>Junqueira et al., 2019</i>	Suero sanguíneo	96.7%	97.5%		
<i>Cáncer de mama</i>	<i>McCulloch et al., 2006</i>	Aliento exhalado	88%	98%	
	<i>Gordon et al., 2008</i>	Orina	22%	No se indica	
<i>Cáncer de próstata</i>	<i>Gordon et al., 2008</i>	Orina	18%	No se indica	
	<i>Cornu et al., 2011</i>	Orina	91%	91%	
	<i>Elliker et al., 2014</i>	Orina	19%	73%	

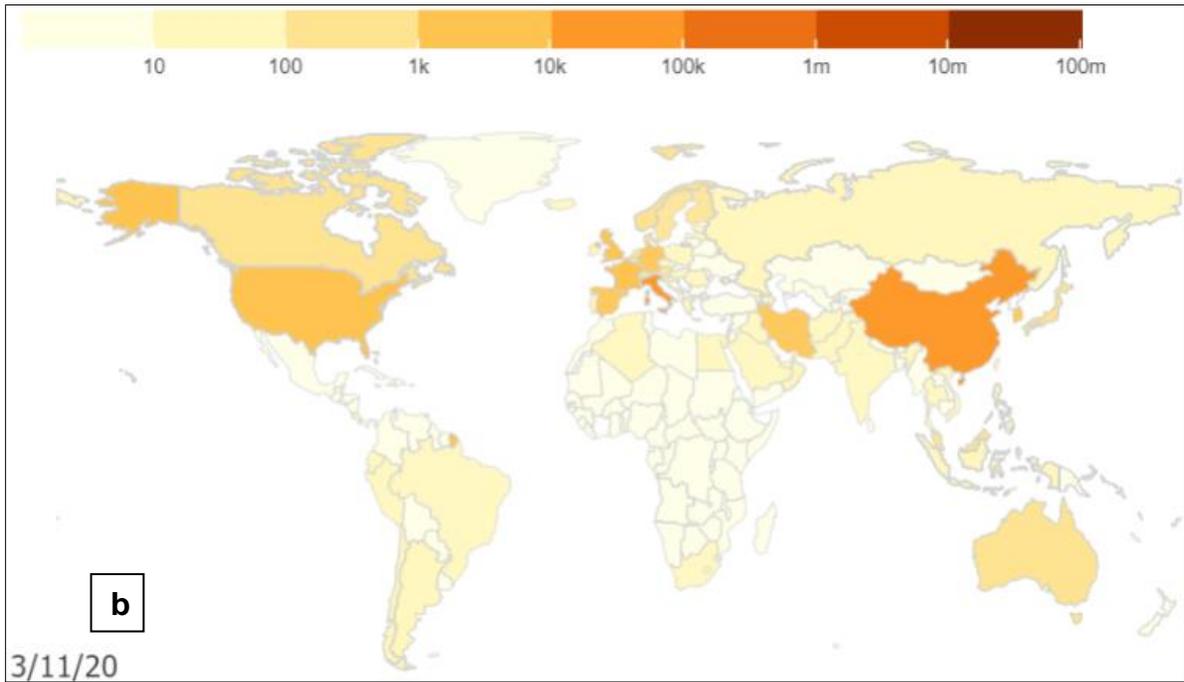
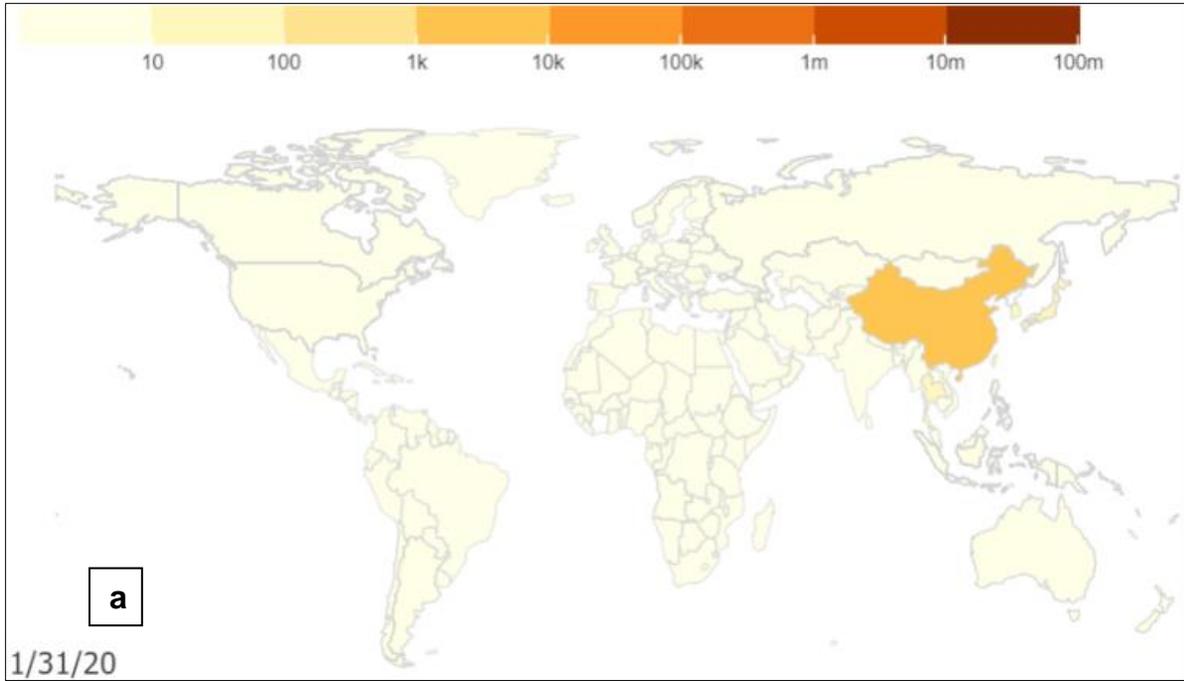
	<i>Taverna et al., 2015</i>	Orina	99.3%	98.1%
Carcinoma de ovario	<i>Horvath et al., 2008</i>	Tejidos histopatológicos de carcinoma ovárico	100%	97.5%
	<i>Horvath et al., 2010</i>	Sangre (plasma)	100%	98%
		Tejidos histopatológicos de carcinoma ovárico	100%	95%
Cáncer colorrectal	<i>Sonoda et al., 2011</i>	Heces	97%	99%
		Aliento exhalado	91%	99%
Cáncer de colon	<i>Schoon et al., 2020</i>	Heces		>70%

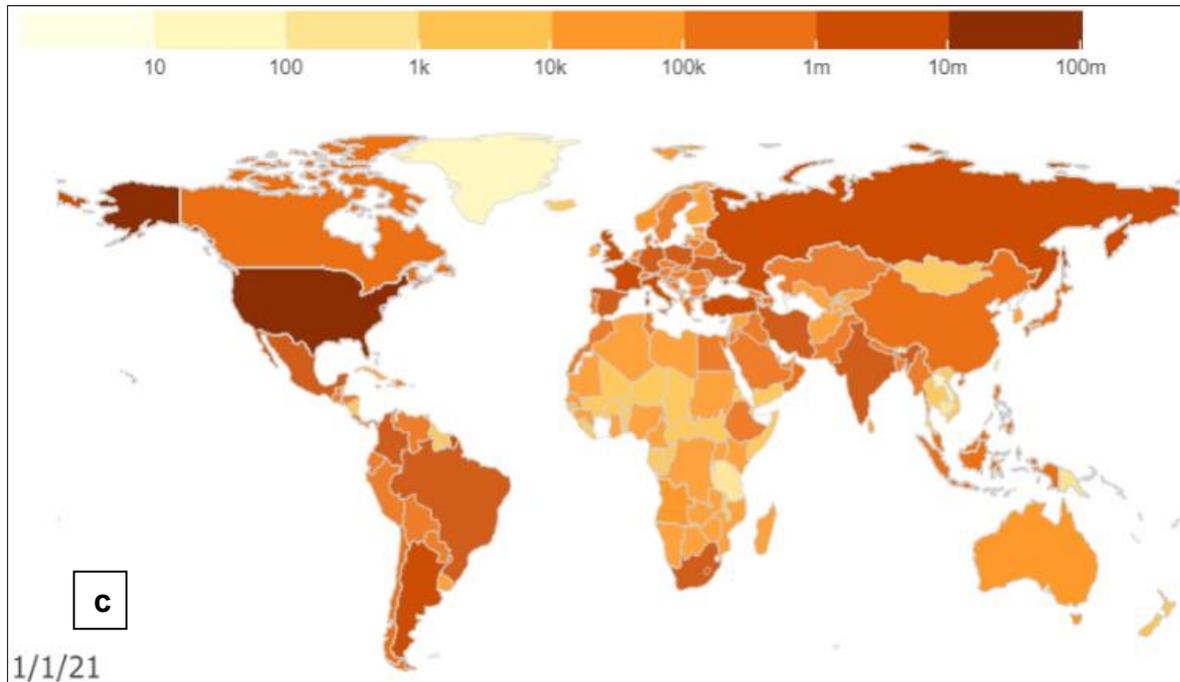
COVID-19

A la enfermedad que inició como un brote de neumonía en Wuhan (China) en diciembre del 2019 y que rápidamente se diseminó a nivel mundial, se le denominó COVID-19. El agente causal es un coronavirus de reciente surgimiento en la población humana al que se le denominó coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo de tipo 2 (SARS-CoV-2) (*Zhu et al., 2020*).

La alta tasa de infectividad del SARS-CoV-2 llevó a un aumento acelerado de casos de COVID-19, enfermedad para la que no existían medicamentos antivirales específicos, ni vacunas para la protección de la población, lo que llevó a la Organización Mundial de la Salud (OMS) a declararla pandemia el 11 de marzo de 2020 (Figura 3).

Figura 3. Representación del número de casos acumulados de COVID-19 en la población humana al inicio (a), momento de la declaración de la pandemia (b) y al año del surgimiento de la enfermedad (c).





Tomada de Johns Hopkins University & Medicine, 2023

La pandemia de la COVID-19 significó un impacto drásticamente negativo para el sistema de salud y la economía de los países, cuyas implicaciones continúan hasta el día de hoy (*Akbulaev et al., 2020*). Conforme la pandemia iba en aumento, se acentuaron las implicaciones geopolíticas, sociales, educacionales (*Hamid et al., 2020*), de salud física y mental debido a la constante preocupación por el bienestar personal (*Hossain et al., 2020*). De hecho, a pesar de que ya han transcurrido 3 años desde el surgimiento de la COVID-19 y de que ya se tienen diferentes vacunas para su prevención y control, siguen reportándose casos nuevos diariamente en distintos países del mundo (*Organización Mundial de la Salud, 2023*).

Surgimiento, características y patogenia del SARS-CoV-2.

Los coronavirus se encuentran naturalmente distribuidos en diversas aves y mamíferos, incluidos los humanos (*Zhu et al., 2020*). Existen 6 coronavirus capaces de afectar a los humanos y que pueden ser potencialmente mortales, entre los que destacan el SARS-

CoV-1 y el síndrome respiratorio por coronavirus de Oriente Medio (MERS-CoV) (*Zhu et al., 2020; Oliva, 2020*).

El SARS-CoV-2 fue inicialmente aislado a partir de muestras bronco-alveolares de 3 personas que padecían neumonía y que estuvieron presentes en el mercado de mariscos en Wuhan (China) a finales de 2019 (*Zhu et al., 2020*). Se piensa que el virus original mutó y fue transferido desde su huésped natural (el murciélago), a algún huésped intermedio y de ahí saltó hacia el humano, probablemente por contacto directo, ya que huéspedes intermedios como los pangolines son vendidos ilegalmente en los mercados de China (*Guo et al., 2020; Oliva, 2020*). De hecho, se sabe que el genoma del coronavirus original del murciélago (RaVG13) y el SARS-CoV-2 tienen una similitud del 96.2% (*Oliva, 2020*).

El SARS-CoV-2 pertenece al género de los Betacoronavirus, subgénero Sarbecovirus. Es un virus ARN envuelto y, al igual que el SARS-CoV, puede causar infecciones respiratorias, entéricas, hepáticas y neurológicas, que son potencialmente fatales (*Guo et al. 2020; Oliva, 2020*).

Estructuralmente, los coronavirus tienen forma esférica, y están rodeados por una cápside que contiene glicoproteínas que se proyectan hacia el exterior en forma de picos y que facilitan su adhesión a las células huésped (Figura 4) (*Dietz et al., 2020*). La proteína S del SARS-CoV-2 es una proteína estructural del virus que se une al receptor ACE2 (enzima convertidora de angiotensina 2), presente en la membrana de células del endotelio respiratorio y de otros órganos en los humanos (*Zhou et al., 2020; Oliva, 2020*). Es así que el SARS-CoV-2 puede llegar a los pulmones a través de las mucosas y, en algunos casos, a sangre, ocasionando viremia y afectando a todos los órganos que expresen ACE2 en sus células, lo que puede desencadenar una respuesta inflamatoria sistémica (*Oliva, 2020*).

Figura 4. Micrografía electrónica de partículas de SARS-CoV-2.



Tomada de National Institute of Allergy and Infectious Diseases, 2020

Una vez que el coronavirus se une a la célula blanco, utiliza la maquinaria celular para replicar su material genético en el citoplasma de la célula, permitiendo la formación y liberación de nuevas partículas virales completas capaces de infectar más células (Oliva, 2020).

La principal forma de transmisión del virus de SARS-CoV-2 es por inhalación de gotas o aerosoles que emiten los pacientes infectados cuando estornudan, tosen o hablan (Zhang et al., 2020). El contacto directo con superficies contaminadas (Storm et al., 2020) o la transmisión vía fecal-oral (Salazar et al., 2020) se han mencionado también como posibles vías de transmisión.

El tiempo que transcurre desde la infección por el SARS-CoV-2 en el humano, hasta la aparición de los primeros síntomas es de 5 a 7 días (Quesada et al., 2021). Los síntomas más frecuentes de la enfermedad causada por el virus (COVID-19) son similares a los de un resfriado común, como fiebre, tos, dolor de garganta y de cabeza, fatiga, dificultad para respirar e, incluso, diarrea. (Guo et al., 2020; Aguilar et al., 2020). En algunas ocasiones, la enfermedad puede agravarse y evolucionar hacia una neumonía atípica u

originar al síndrome respiratorio agudo severo o una insuficiencia multiorgánica, pudiendo ocasionar la muerte (*Guo et al., 2020; Akbulaev et al., 2020*). El daño alveolar difuso es la lesión patológica clásica encontrada en la mayoría de los pacientes fallecidos que padecieron de la presentación grave de COVID-19 (*Oliva, 2020*).

Métodos de diagnóstico.

La prueba de referencia para el diagnóstico clínico de COVID-19 es la reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa en tiempo real (RT-PCR en tiempo real), ya que es la técnica con mayor sensibilidad y especificidad para la identificación del virus SARS-CoV-2 (*Organización Mundial de la Salud, 2022*). Existen también las pruebas rápidas que identifican ya sea partículas virales o anticuerpos contra las mismas, y que han sido ampliamente utilizadas y recomendadas por la OMS (*Organización Mundial de la Salud, 2022*), sin embargo, su sensibilidad y especificidad pueden disminuir en etapas tempranas de la infección o cuando los títulos virales son bajos (*Fenollar et al., 2021*).

RT-PCR

La prueba de referencia considerada como estándar de oro y que se utiliza en todo el mundo para el diagnóstico directo de la infección por SARS-CoV-2 es la RT-PCR (*Aguilar et al., 2020; Guo et al., 2020; Contini et al., 2023*). Los ensayos de RT-PCR en tiempo real consisten en la identificación del material genético del virus (ARN viral) presente en secreciones de las vías respiratorias superiores, tomando como muestras hisopados nasofaríngeos u orofaríngeos, esputo, lavados endotraqueales o bronco-alveolares en secreciones de vías respiratorias inferiores. Sin embargo, la toma de muestras de hisopados es invasiva y resulta difícil cuando se trata de niños o adultos mayores (*Organización Mundial de la Salud, 2020*).

Para garantizar un resultado confiable, la RT-PCR requiere de personal calificado, equipo de protección adecuado, protocolos bien establecidos, laboratorios autorizados e instrumentos altamente especializados y costosos. El personal que se encuentre

participando durante el proceso de diagnóstico del virus SARS-CoV-2 (desde la obtención de muestras, transporte, procesamiento y hasta la lectura de las pruebas) debe ser altamente capacitado, pues se han informado de casos donde los resultados han sido falsos negativos debido a problemas o errores del personal durante algún paso del procedimiento (*Sidiq et al., 2020*). El uso incorrecto de los hisopos, por ejemplo, o de los instrumentos necesarios para la prueba, pueden causar errores en el diagnóstico (*Aguilar et al., 2020*). Además de personal calificado, para llevar a cabo una RT-PCR se requiere de un lugar de operación especial como lo es un laboratorio con nivel de bioseguridad 2 o un complejo equivalente que tenga algún dispositivo de contención primaria para la manipulación de las muestras antes de llevar a cabo cualquier inactivación (*Organización Mundial de la Salud, 2020*). Las exigencias técnicas de la prueba de RT-PCR representan por lo tanto restricciones que pudieran impedir que este método sea realizado ubicuamente y a gran escala, y elevan su costo general, por lo que puede no ser accesible para todo el público (*Sidiq et al., 2020*). Otro inconveniente del uso de la RT-PCR es la posibilidad de aumentar el riesgo de contagio a causa del tiempo necesario para completar el análisis y emitir resultados, que puede ser de varias horas a días (*Peeling et al., 2021*)

Prueba de antígenos

Otra alternativa que se utiliza comúnmente y con mayor alcance general para la detección de la COVID-19 son las pruebas rápidas que miden antígenos. A diferencia de la RT-PCR, las pruebas de antígenos proporcionan normalmente resultados en un intervalo de 15 a 30 minutos (*Peeling et al., 2021*). Un resultado positivo consiste en la detección de la presencia de proteínas virales (antígenos) del SARS-CoV-2, generalmente en muestras de hisopados obtenidos de la cavidad nasal (*Organización Mundial de la Salud, 2020*).

Las ventajas de las pruebas de antígenos como la rapidez y facilidad de interpretación en sus resultados, así como su implementación a gran escala, hacen que este método de diagnóstico pueda resolver algunos de los inconvenientes del uso de la RT-PCR (*Fenollar et al., 2021*). Sin embargo, y a pesar de que las pruebas rápidas de antígenos

puedan ser muy específicas (95 – 100%, *Fenollar et al., 2021; Cortés et al., 2021*), su sensibilidad es menor que la de las pruebas de RT-PCR (*Peeling et al., 2021*). La sensibilidad cae, además, a niveles inferiores al 80% cuando los títulos virales son bajos (más de 25 ciclos en el PCR) (*Fenollar et al., 2021*).

Prueba de anticuerpos

Por otra parte, también se han utilizado las pruebas rápidas de anticuerpos o serológicas, que detectan los anticuerpos contra el virus causante de la COVID-19 en suero, plasma o sangre, pero no son eficientes en las etapas tempranas de la infección, lo que podría conducir a un diagnóstico falso negativo. (*Aguilar et al., 2020*).

Importancia del diagnóstico

El sistema médico no puede cambiar por sí solo la situación y evolución de las enfermedades en la población, y requiere de estrategias que incluyan a diversas instituciones y sectores sociales y gubernamentales (*Skegg et al., 2021*).

Para las infecciones virales, la genética del virus, el número de huéspedes originales e intermediarios, y la probabilidad de interacción entre animales y humanos, son algunos de los factores que impactan la presentación de mutaciones y el surgimiento de nuevas variantes, lo que pudiera acelerar, consolidar o potenciar a la problemática existente (*Zhu et al., 2020*). Para las enfermedades emergentes, la situación se agrava aún más por la ausencia de métodos apropiados de detección y diagnóstico (*Mesa et al., 2004*).

El elemento más crítico para la vigilancia y control de enfermedades en la población humana es, sin duda, el diagnóstico. En el caso de COVID-19, se estableció que el 80% de los pacientes infectados eran asintomáticos, pero tenían la capacidad de eliminar y transmitir el virus (*Meza et al., 2020; Vila, Agustí y García, 2021*). Las limitantes ya mencionadas de las pruebas diagnósticas empleadas impidieron la identificación oportuna de pacientes positivos, lo que permitió la continuación de la propagación del virus y el aumento exponencial del número de casos. La pandemia destacó la importancia que tiene la búsqueda de métodos prácticos, oportunos, rápidos, económicos, masivos y efectivos para la detección temprana, con el objetivo de reducir las tasas de mortalidad y

el riesgo de transmisión viral entre la población. Esto incluye el desarrollo y valoración de nuevas técnicas o ayudas diagnósticas con amplia accesibilidad que permitan un tamizaje rápido de casos positivos para ser posteriormente confirmados por las tecnologías consideradas como el estándar de referencia, que a menudo se ven restringidas en cuanto a su disponibilidad y costo.

Perros utilizados para el tamizaje de muestras de pacientes positivos a COVID-19.

La capacidad olfativa de los perros y su demostrada aptitud como detectores de diversas enfermedades (cuadros 2 y 3), además de la necesidad de contar con pruebas diagnósticas de mayor alcance durante la pandemia, despertaron el interés de investigadores en diferentes países por evaluar a esta especie como ayuda diagnóstica para el COVID-19. Los perros, además, no se infectan de manera natural por el virus (*Cabrera et al., 2022*), por lo que no sufren peligro de desarrollar COVID-19 (*Shi et al., 2020*), ni pueden transmitir el virus a los seres humanos (*Organización Panamericana de la Salud, 2020*). Los trabajos realizados mostraron que los perros son capaces de discriminar muestras de personas infectadas por SARS-CoV-2 con sensibilidades superiores al 90%, independientemente del tipo de muestra utilizado (cuadro 4).

Los estudios se llevaron a cabo con grupos de 3 a 10 perros y evaluaron su eficiencia en la detección hacia muestras positivas (cuadro 4). Los perros pastores y labradores fueron los más utilizados, lo que podría relacionarse a sus características de comportamiento, temperamento, resistencia, y docilidad (*Angeletti et al., 2021; van der Waaij et al., 2008*), pero también se incluyeron animales de raza Pitbull (*Vesga et al., 2021*), Jack Russell Terrier (*Grandjean et al., 2020*) y Cocker Spaniel (*Guest et al., 2022*). Esto muestra que la capacidad olfativa de los perros no solo depende de la genética, sino también del entrenamiento que reciban (*Ho et al., 2023*). Los tiempos de entrenamiento para aprender a discriminar el olor característico de la enfermedad variaron entre 3 días (en perros previamente adiestrados, *Twele et al., 2022*), y 4 meses y medio (en perros sin exposición

previa a muestras positivas a COVID-19, *Mancilla et al., 2022*). El método de entrenamiento empleado en todos los estudios fue el de refuerzo positivo².

El tipo de muestra utilizado varió entre estudios, incluyendo sudor, saliva, orina, secreciones respiratorias o traqueobronquiales, ropa y mascarillas (cuadro 4). La sensibilidad de discriminación más alta (98%) se obtuvo con muestras de sudor u olor corporal (*Maurer et al., 2022*). Esta evidencia indica que el olor de COVID-19 es característico, por lo que sería razonable pensar que, independientemente del tipo de muestra que se utilice para adiestrar a los perros, estos deben ser capaces de reconocer la firma de olor en cualquier otro tipo de muestra que se les presente. En la mayoría de los trabajos se utilizó el mismo tipo de muestra para entrenar a los perros que la que se les presentó para la discriminación de muestras positivas a COVID-19 (cuadro 4). Algunos investigadores incluyeron más de un tipo de muestra dentro del mismo estudio (*Eskandari et al., 2021*), no obstante, los perros se dividieron en grupos y se asignaron a un solo tipo de muestra, por lo que su eficiencia de detección fue evaluada en el mismo tipo de muestra con el que fueron entrenados. Utilizar muestras de características diferentes a las que se usaron en el aprendizaje de los perros pudiera mejorar su agudeza olfativa al ampliar su capacidad de discriminación. Evaluar si los perros responden de manera eficiente a tipos de muestras que le son desconocidas, podría también expandir las posibilidades para utilizarlos de manera práctica a nivel de campo. En efecto, la versatilidad y utilidad de los perros detectores radica en su capacidad para utilizar sus habilidades en situaciones del mundo real, donde las muestras pueden variar en composición y características.

Cuadro 4. Estudios realizados para determinar la eficiencia de los perros en la detección de diferentes tipos de muestras positivas a COVID-19.

² Condicionamiento operante con refuerzo positivo es el entrenamiento donde se permite que el perro tome la iniciativa en la búsqueda y cuando produce una indicación positiva se le premia con juego o alimento.

Referencia	Número de perros en el estudio	Tipo de muestra utilizada	Número de muestras (+) y (-)	Duración del entrenamiento	Sensibilidad	Especificidad
<i>Vesga et al., 2021</i>	6	Secreciones respiratorias	12 (+) 100 (-)	7 semanas	95.5%	99.6%
<i>Jendry et al., 2020</i>	8	Saliva y secreciones traqueobronquiales	190 (+) 822 (-)	1 semana	82.63%	96.35%
<i>Grandjean et al., 2020</i>	6	Sudor axilar	95 (+) 82 (-)	1 a 3 semanas	76 – 100% Tasa de éxito	
<i>Eskandari et al., 2021</i>	3	Secreciones faríngeas	26 (+) 54 (-)	7 semanas	65%	89%
	3	Ropa y mascarillas	50 (+) 70 (-)	7 semanas	86%	92.9%
<i>Esleer et al., 2021</i>	9	Orina	14 (+) 54 a 56 (-)	3 semanas y media	71%	98.5%
<i>Mendel et al., 2021</i>	4	Mascarillas (aliento exhalado)	24 (+) 10 (-)	1 mes	97.5/91.5% *precisión/Valor Predictivo Positivo	
<i>Hag-Ali et al., 2021</i>	4	Sudor axilar	41 (+) 3249 (-)	6 semanas	83.3%	99.2%
<i>Angeletti et al., 2021</i>	3	Sudor axilar	20 (+) 15 (-)	1 mes	86.6% *Tasa de éxito	
<i>Jendry et al., 2021</i>	10	Saliva (tipo de muestra utilizada para el entrenamiento)	249 (+) 1197 (-)	8 días	82%	96%
		Orina	117 (+) 477 (-)		95%	98%
		Sudor	113 (+) 418 (-)		91%	94%
<i>Mancilla et al., 2022</i>	4	Sudor corporal	69 (+) 69 (-)	18 semanas	68.5%	74%
	3	Saliva	54 (+) 74 (-)	13 semanas	73.6%	63.6%
<i>Kantele et al., 2022</i>	4	Hisopados de piel	114 (+) 306 (-)	No se menciona	92%	91%
<i>Maurer et al., 2022</i>	3	Sudor corporal	52 (+) 208 (-)	1 mes y 2 semanas	98%	92%
<i>Guest et al., 2022</i>	6	Olor corporal (calcetines)	200 (+) 200 (-)	2 meses	85.01%	83.21%
<i>Twele et al., 2022</i>	3	Saliva, orina y sudor	19 (+) 106 (-)	3 días (perros con entrenamiento previo)	86.9%	88.1%
			14 (+) 49 (-)		94.4%	96.1%
					*Fase prolongada	

HIPÓTESIS

La intensidad de reacción desplegada por los perros entrenados para detectar COVID-19 en su primera exposición a tipos de muestra diferentes a los utilizados para su entrenamiento (orina, sudor u olor corporal, cubrebocas y saliva) serán similares a los obtenidos con el tipo de muestra (hisopados nasofaríngeos) con el que fueron adiestrados.

OBJETIVO

Determinar la eficiencia en la discriminación de muestras positivas a COVID-19 de perros expuestos por primera vez a tipos de muestra diferentes al utilizado para su entrenamiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de realización.

El presente trabajo se llevó a cabo en el Centro de Adiestramiento de la Policía Militar (CAPM) ubicado en el campo militar 1-A, General de división Álvaro Obregón, Ciudad de México. Las actividades realizadas con animales en este estudio fueron sancionadas por el Comité Interno para el Cuidado y Uso de los Animales (CICUA) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) con el número de protocolo 095B. Igualmente, la toma de muestras de pacientes y las actividades ejecutadas en el Hospital Central Militar estuvieron aprobadas por el Comité de Investigación (oficio C.Inv.-090) y el Comité de Ética para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio del Hospital Central Militar (oficio BIO-01/2021) de la Secretaría de la Defensa Nacional (SEDENA).

Recolección de muestras.

La recolección de muestras de personas positivas o negativas a COVID-19 (pacientes, voluntarios y personal del hospital) se realizó en el Hospital Central Militar (HCM) y en el Laboratorio Biomédica de Referencia S.A.P.I de C.V (LBR) según las rutinas y los protocolos vigentes en los mismos.

Tipos de muestras.

Las muestras de orina, sudor u olor corporal, cubrebocas (Kn95) y saliva se recolectaron en el Hospital Central Militar de diez pacientes positivos y 8 voluntarios negativos a SARS-CoV-2, diagnosticados por medio de PCR a partir de hisopados nasofaríngeos en el laboratorio del mismo hospital. Los cuatro tipos de muestra se recolectaron de manera simultánea en cada una de las 18 personas participantes.

Las muestras de hisopados nasofaríngeos utilizadas como referencia (10 alícuotas positivas y 8 negativas) se obtuvieron de pacientes que acudieron a diagnóstico al laboratorio Biomédica de Referencia S.A.P.I de C.V, mismo que caracterizó su estatus de positividad o negatividad mediante PCR. Estas muestras fueron utilizadas como referencia durante el estudio, ya que fue este tipo de muestra, de este laboratorio, el que se utilizó para adiestrar a los perros.

En todos los casos, los donantes de muestra firmaron una carta de consentimiento informado de participación en el proyecto, previa explicación de los objetivos y metas del estudio.

Métodos de recolección, inactivación de las partículas virales y almacenamiento de las muestras.

La obtención de hisopados nasofaríngeos se llevó a cabo por personal capacitado de los laboratorios en el HCM y en Biomédica de Referencia. Una vez recolectada la muestra, el hisopo se cortaba y la punta se introducía en un tubo que contenía 1ml de solución salina fisiológica. En el HCM, la orina se recolectó en frascos de 50 ml con tapa. Los cubrebocas fueron utilizados por los pacientes por un mínimo de 3 horas antes de

recogerse y se colocaron en bolsas sellables de plástico individuales. La saliva se obtuvo pidiéndole a los voluntarios escupir en tubos de centrífuga de 15 ml. El sudor u olor corporal se recogió con una toallita húmeda de poliéster o polipropileno libre de fragancia, frotando zonas del cuello, brazos y áreas expuestas del pecho durante aproximadamente 30 segundos. Posteriormente, las toallitas se guardaron en bolsas de plástico de manera individual. Todos los contenedores de las muestras (frascos, tubos y bolsas plásticas) fueron desinfectados por fuera con alcohol al 70% para su traslado al laboratorio.

Las muestras de orina, cubrebocas, saliva e hisopados nasofaríngeos fueron sometidas a procesos de inactivación de las partículas virales para que pudieran ser procesadas y utilizadas de manera segura tanto en el laboratorio, como durante el entrenamiento y las pruebas de campo. La inactivación no fue necesaria en las toallitas que recogieron olor corporal, ya que no se ha logrado la amplificación de RNA viral de muestras obtenidas a partir de piel (*Fathizadeh et al., 2020; Arslan et al., 2021*) por lo que su manejo no representaba riesgo.

Las partículas virales en orina y cubrebocas fueron inactivadas mediante exposición a luz ultravioleta durante 2 horas y 30 minutos respectivamente en una campana de flujo laminar, ya que se ha informado que la irradiación de medios de cultivo (a lo largo de 15 a 60 minutos), o superficies secas (9 segundos) (*Duan et al., 2003; Darnell et al., 2004, Storm et al., 2020*) reduce la infectividad in vitro a niveles inferiores a los detectables del coronavirus causante de SARS-CoV.

La inactivación viral de las muestras de saliva e hisopados nasofaríngeos se realizó añadiendo al tubo una solución detergente inodora de Nonidet® P-40 (Octilfenoxipolietoxietanol) al 2 % en un volumen 1:1. El Nonidet® P-40 ha sido utilizado con anterioridad para la inactivación de coronavirus (*Darnell et al., 2004; Essler et al., 2021*).

Una vez inactivadas, las muestras líquidas se alicuotaron en tubos 500 µl con tapa, debidamente identificados. Finalmente, tanto los tubos como las bolsas de plástico

conteniendo los 4 tipos de muestra, se almacenaron a -20°C hasta el momento de su utilización.

Recursos caninos.

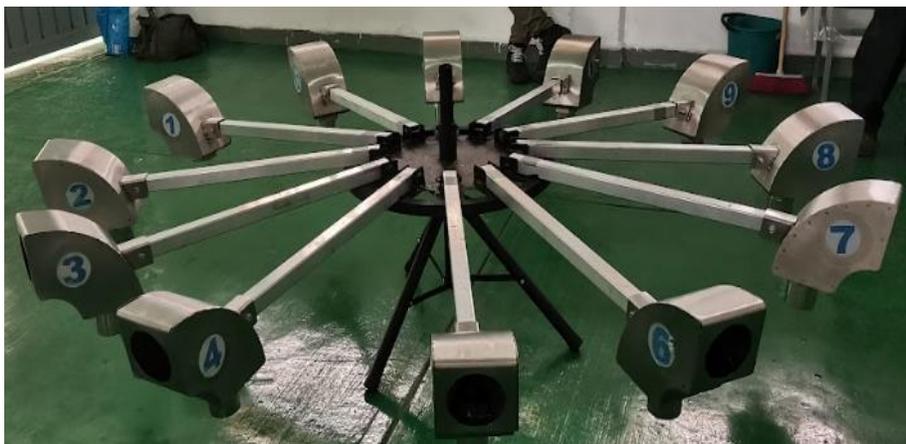
Diez perros de la raza Pastor Belga Malinois (nueve pertenecientes a la SEDENA y uno a la UNAM) previamente entrenados para la detección de COVID-19 a partir de muestras de hisopos nasofaríngeos se utilizaron en este estudio. El cuidado, alimentación, y aseo de cada perro estuvo a cargo exclusivamente de su manejador, quien también fue el responsable de llevar, acompañar, anunciar las órdenes y manifestar la señal de su perro durante los ejercicios y pruebas realizados.

Área de trabajo.

La presentación de las muestras y registro de la respuesta de los perros se llevó a cabo en un área cerrada, con buena ventilación, destinada únicamente a realizar el estudio y así evitar distracciones y contaminación con otros olores que pudieran interferir en los resultados.

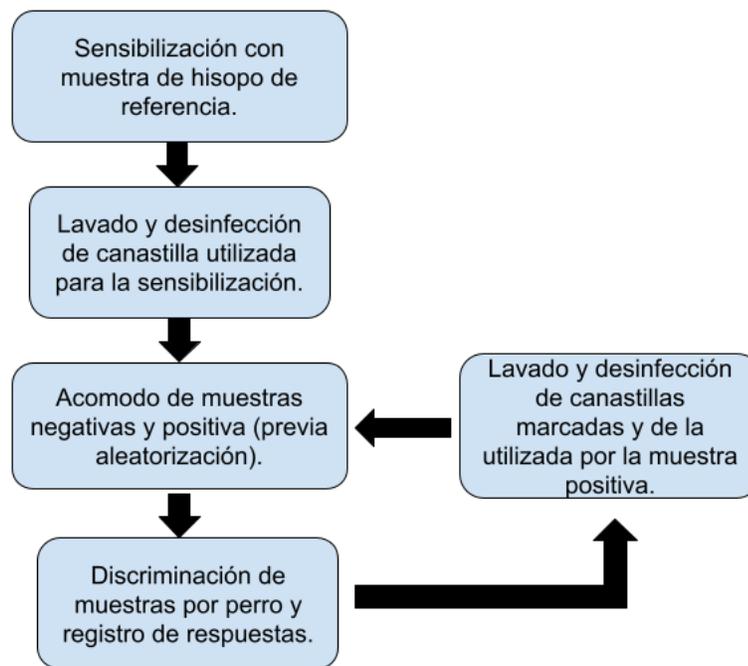
Las muestras se introdujeron en una plataforma giratoria de acero inoxidable con 12 brazos y una canastilla al final de cada uno (Figura 5). Esta disposición permitió la colocación de muestras de tal manera que el perro pudiera acercarse y olerlas libremente, pero sin llegar a tener contacto directo con ellas.

Figura 5. Fotografía de la plataforma giratoria o “carrusel” utilizado para la colocación de los diferentes tipos de muestras.



Antes de iniciar la primera prueba con cada tipo de muestra, los perros fueron sensibilizados con una muestra de hisopado nasofaríngeo positiva a COVID-19 (del banco de muestras con los que se habían entrenado anteriormente), para recordarles el olor presente en muestras positivas. Esto se hacía utilizando uno de los brazos y canastillas del carrusel. Después de la sensibilización, se extraía la muestra de hisopado nasofaríngeo, se limpiaba y desodorizaba la canastilla con vapor y se presentaba al perro con los diferentes tipos de muestras problema. (Figura 6).

Figura 6. Diagrama de flujo para cada prueba consecutiva en los diferentes tipos de muestra.



Para evitar la contaminación de las canastillas con olores dejados por las muestras, por el paso de los perros o por la manipulación de los colocadores, se realizó su limpieza y desodorizaron con una pistola de vapor entre una prueba y otra.

Proceso de aleatorización y acomodo de las muestras.

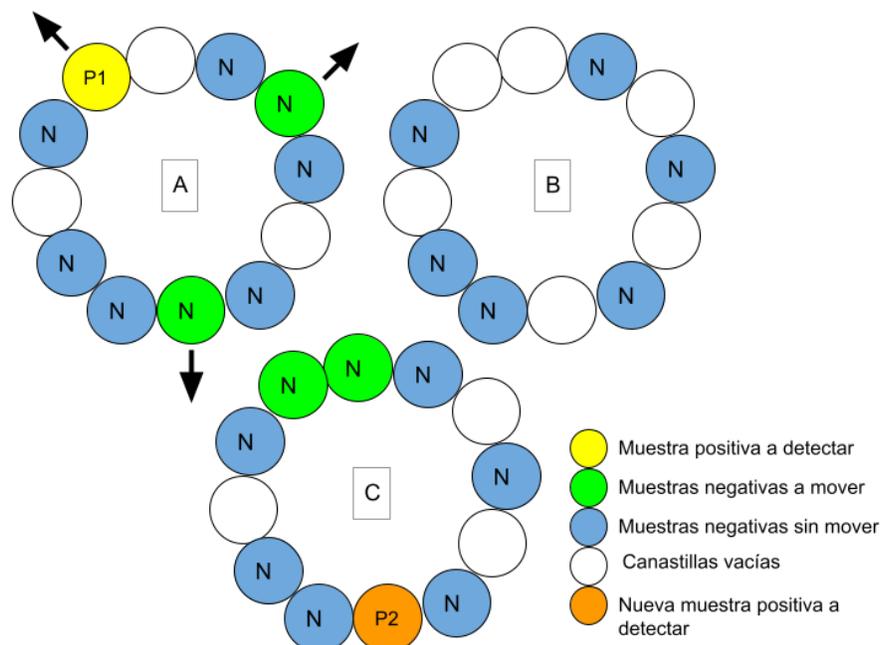
La capacidad de los perros para discriminar el olor de COVID-19 en diferentes tipos de muestra (*i.e.* orina, sudor, cubrebocas, saliva e hisopados nasofaríngeos) se examinó en

una serie de 10 pruebas consecutivas por tipo de muestra. A esta serie de 10 pruebas se le denominó sesión.

Cada prueba se conformó de un carrusel que contenía 1 muestra positiva que se utilizó una sola vez, 8 muestras negativas del mismo tipo que la positiva, y tres canastillas vacías, cuya disposición era aleatoria. Para realizar todas las aleatorizaciones de este trabajo, se utilizó la función de aleatorización de las hojas de cálculo Microsoft Excel.

Después de cada prueba, se retiraron la muestra positiva y dos negativas (Figura 7A). Con esto quedaban seis canastillas libres para la introducción de nuevas muestras (Figura 7B). El posicionamiento de las muestras para la siguiente prueba se realizó de acuerdo con una aleatorización previa, sustituyendo la muestra positiva anterior por una nueva y recolocando las mismas 2 muestras negativas que se habían retirado, pero colocándolas en posiciones distintas a las que se encontraban anteriormente (Figura 7C). Los 10 perros concluyeron 10 pruebas en igual número de muestras positivas distintas por cada tipo. Entre un perro y otro se vaciaron todas las canastillas del carrusel y se procedió a una nueva aleatorización para el acomodo de las muestras.

Figura 7. Representación gráfica de la sustitución de una muestra positiva y reacomodo (previa aleatorización) de dos negativas dentro del carrusel entre cada prueba.



Representación del carrusel en tres tiempos consecutivos. A) las flechas indican las muestras tanto positiva (amarillo) como negativas (verde) que serán retiradas después de cada prueba. El color azul representa las seis muestras negativas que permanecerán en el mismo lugar para la prueba siguiente, dentro de un mismo ejercicio. En cada prueba hay una muestra positiva nueva. El acomodo de todas las muestras en el carrusel y la selección de las dos negativas para cambio de posición se determinó por una aleatorización previa. B) muestra los espacios vacíos en el carrusel (blanco) que resultan del retiro de la muestra positiva y dos negativas que precede a la siguiente prueba. C) se presenta la nueva disposición de las muestras para la siguiente prueba (la muestra positiva es distinta a la utilizada en la prueba anterior).

Evaluación del interés de los perros hacia las muestras.

Para evaluar el interés de los perros a la primera exposición hacia muestras diferentes a las utilizadas para su entrenamiento, se utilizaron las variables denominadas “intensidad de reacción” e “índice de reconocimiento”.

Para la intensidad de reacción se utilizó la siguiente escala:

Valor 0. Sin interés, el perro ignora la muestra.

Valor 1. Poco interés, la muestra le llama la atención al perro, que puede hacer una pausa breve o voltear hacia la canastilla al pasar, pero no se detiene a revisar la muestra.

Valor 2. Mucho interés, el perro hace una pausa, se detiene y revisa la canastilla, pero no se sienta y continúa con su búsqueda.

Valor 3. Este nivel de interés se considera como una indicación: Es decir, que el perro marca inequívocamente la canastilla al sentarse y señalarla con la nariz sostenidamente hasta recibir una instrucción de su manejador para romper la indicación. Esta indicación podía darse en cualquier muestra, resultando en un diagnóstico verdadero o falso positivo a COVID-19.

Dentro de una prueba, el perro tuvo oportunidad de dar un máximo de 3 vueltas completas al carrusel para hacer la indicación. Cuando una indicación se daba hacia una muestra positiva la prueba se concluía, siempre y cuando se completara al menos una vuelta al

carrusel. Cuando una indicación se daba hacia una muestra negativa, la prueba continuaba hasta que el perro hiciera la indicación hacia la muestra positiva o se concluyeran las tres vueltas. Si el perro no realizaba una indicación hacia una muestra particular (positiva o negativa) dentro de las 3 vueltas permitidas, se consideró a esa muestra como negativa (verdadera o falsa negativa) a COVID-19. La intensidad de reacción dentro de cada vuelta al carrusel para las indicaciones acertadas (verdaderos positivos) y las indicaciones erróneas (falsos positivos) se anotaron en una bitácora para cada perro.

Para el índice de reconocimiento, se desarrolló una escala categórica en la que se evaluaron conjuntamente la intensidad de reacción de cada vuelta realizada por el perro y la capacidad de reconocer la muestra positiva dentro de una prueba (número de vueltas completadas al carrusel -máximo 3- necesarias para hacer la indicación) (Cuadro 5). La calificación dentro de esta escala tiene una relación directa con la intensidad de reacción e inversa con el número de vueltas que el perro realiza para hacer la indicación, de manera que el puntaje fue mayor cuanto antes se hiciera la indicación. A cada vuelta al carrusel se le consideró como una olfacción de la muestra.

Cuadro 5. Índice de reconocimiento de los perros de diferentes tipos de muestras positivas a COVID-19, considerando el número de olfacciones realizadas (vueltas al carrusel) para hacer una indicación y la intensidad de reacción. Si el perro no realizó una indicación hacia una muestra positiva dentro de las 3 vueltas permitidas, el índice de reconocimiento fue de cero.

Intensidad de reacción			Índice de reconocimiento
1ra vuelta	2da vuelta	3ra vuelta	
3			10
2	3		9
1	3		8
0	3		7

2	2	3	6
1	2	3	5
1	1	3	4
0	2	3	3
0	1	3	2
0	0	3	1

Orden de presentación de los tipos de muestra.

El estudio se realizó en cinco sesiones. En el primer día, se evaluó la intensidad de reacción y el índice de reconocimiento de los perros a muestras positivas de hisopos nasofaríngeos provenientes del LBR. En los siguientes cuatro días, se evaluó la intensidad de reacción y el índice de reconocimiento de los perros a un tipo diferente de muestra cada día (cubre bocas, saliva, orina y toallitas con olor corporal).

Análisis de datos.

La intensidad de reacción (escala 0 a 3) de los perros hacia los diferentes tipos de muestra fue registrada por tres evaluadores distintos de manera independiente y la moda fue utilizada para el análisis. Cuando no existió moda, se procedió a eliminar los valores extremos, quedando únicamente el valor intermedio para los análisis.

La “intensidad de reacción” mostrada hacia los diferentes tipos de muestras se analizó por Kruskal Wallis. El “índice de reconocimiento” a los diferentes tipos de muestra y el efecto de aprendizaje a través del número de muestras presentadas (entre la primera y la décima muestra del mismo tipo en un ejercicio) se analizó por regresión lineal simple donde la variable dependiente fue “índice de reconocimiento” y las variables independientes fueron tipo de muestra, número de muestra y la interacción.

Para la estimación de la sensibilidad, se consideró una prueba exitosa cuando la indicación ocurrió dentro de las primeras dos vueltas. La sensibilidad (verdaderos positivos / verdaderos positivos + falsos negativos) y especificidad (verdaderos negativos

/ verdaderos negativos + falsos positivos) en la detección de COVID-19 en los distintos tipos de muestra se comparó contra la sensibilidad y especificidad obtenidas en muestras de hisopos nasofaríngeos a través de una regresión logística.

RESULTADOS

Intensidad de reacción e índice de reconocimiento ante la primera exposición de muestras.

La **intensidad de reacción** (escala 0-3) que tuvieron los perros a la primera exposición de una muestra positiva de cubrebocas, saliva, sudor u olor corporal y orina fue de mucho interés (corresponde al 2 en esta escala), y similar ($p>0.10$) a la reacción presentada hacia las muestras de hisopados nasofaríngeos (Figura 8A).

Igualmente, el **índice de reconocimiento**, que considera la escala de interés y el número de vueltas completadas para realizar una indicación (ver cuadro 5; escala 1-10), fue similar entre los hisopos nasofaríngeos y los cuatro nuevos tipos de muestras estudiados (Figura 8B). Se observó también que existen variaciones en la calificación alcanzada entre perros para cada tipo de muestra presentada (Figura 9). Al promediar los valores de cada perro, se determinó que entre la muestra de hisopado nasofaríngeo y los demás tipos de muestra (cubrebocas, saliva, sudor y orina), la calificación en la escala no difiere.

Figura 8. Intensidad de reacción (A) e índice de reconocimiento (B) en perros que fueron expuestos por primera vez a tipos de muestras diferentes a la usada para su entrenamiento.



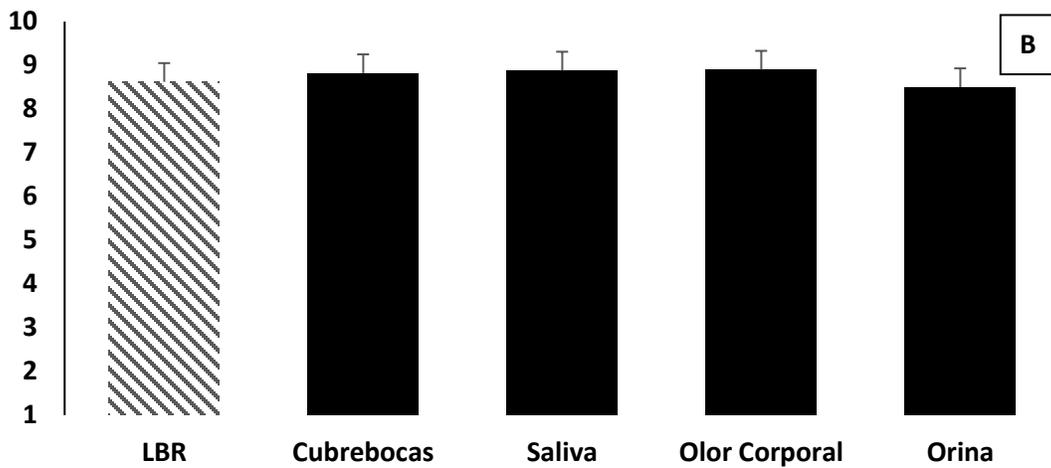
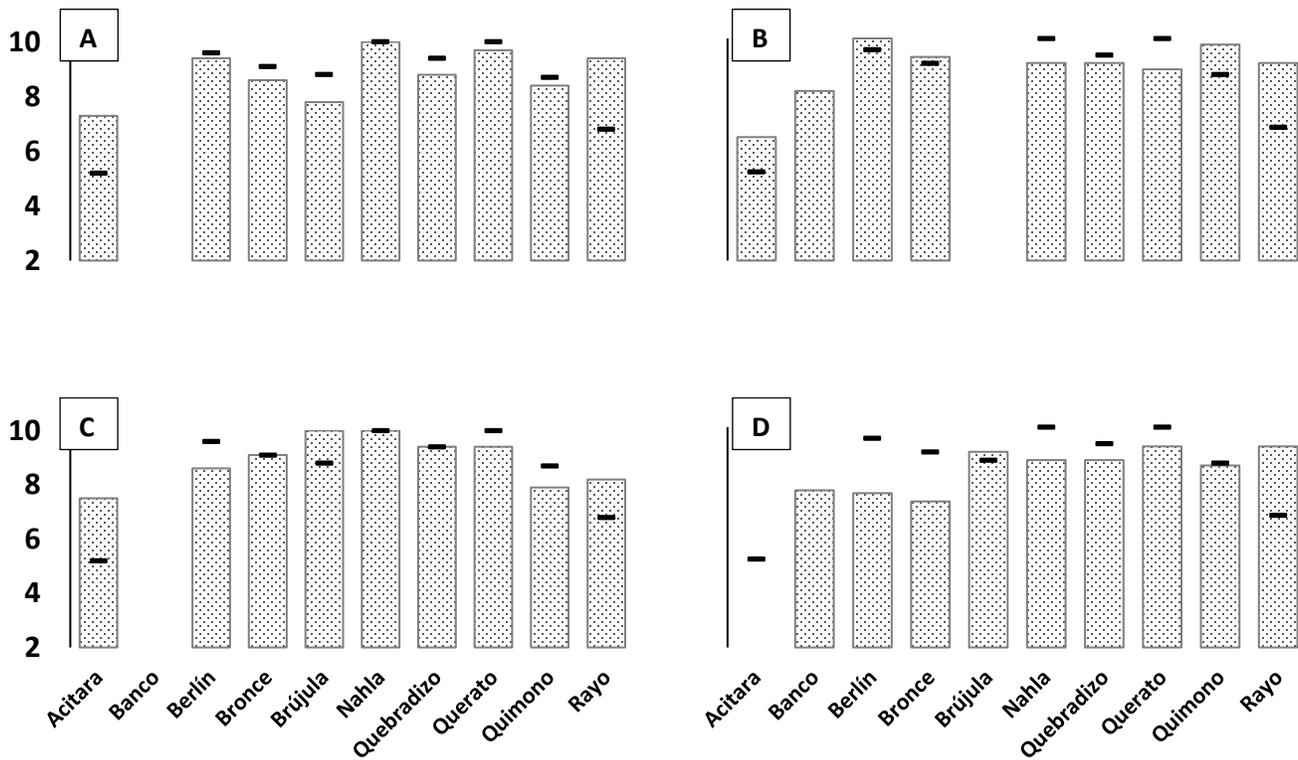
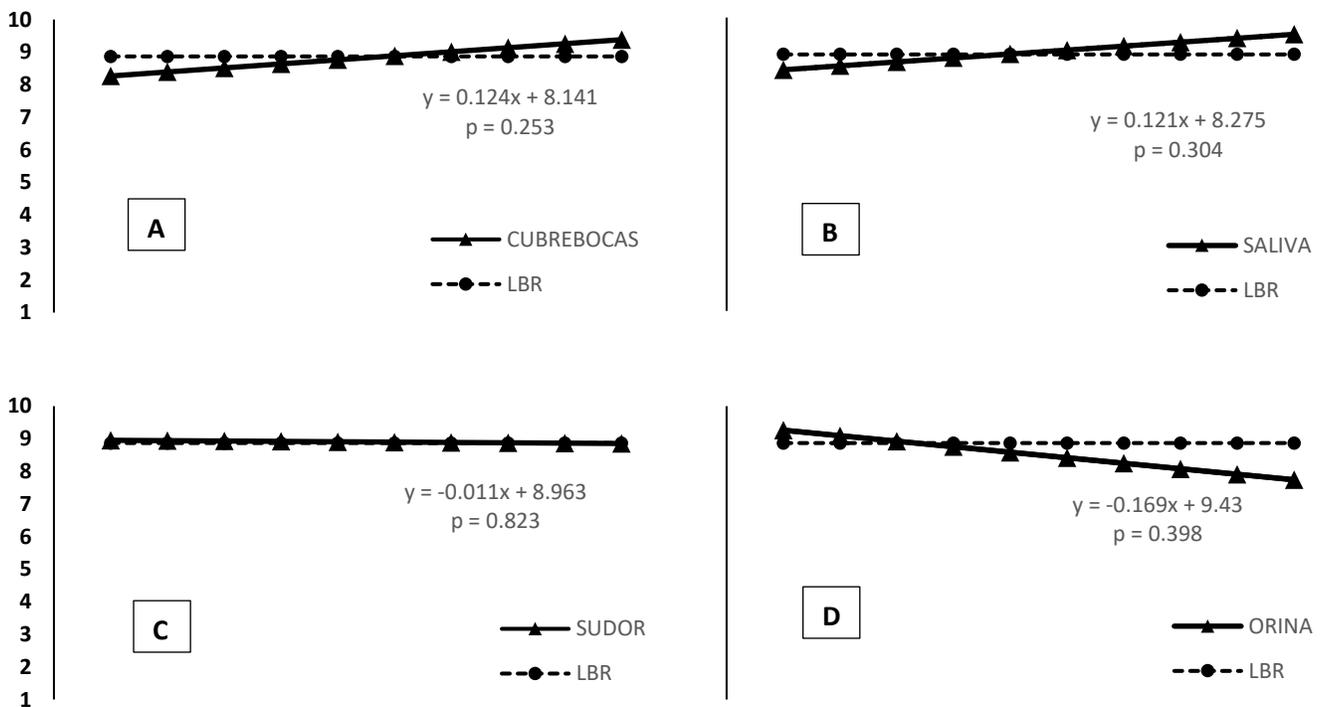


Figura 9. Índice de reconocimiento de cada perro en su primera exposición hacia cubrebocas (A), saliva (B), sudor (C), y orina (D). Las columnas representan la calificación hacia los diferentes tipos de muestras, mientras que la línea horizontal en cada columna (resaltada en color negro) muestra la calificación obtenida hacia hisopados nasofaríngeos.



Para conocer si existió algún efecto en el índice de reconocimiento de los perros conforme incrementaba el número de muestras presentadas del mismo tipo en la progresión de un ejercicio, se llevó a cabo un análisis de regresión y se observó que los perros se comportaron de manera similar en todos los tipos de muestra utilizados (hisopos, cubrebocas, saliva, sudor y orina) Se apreció, asimismo, que no hubo mejora en su desempeño a lo largo de la sesión (Figura 10).

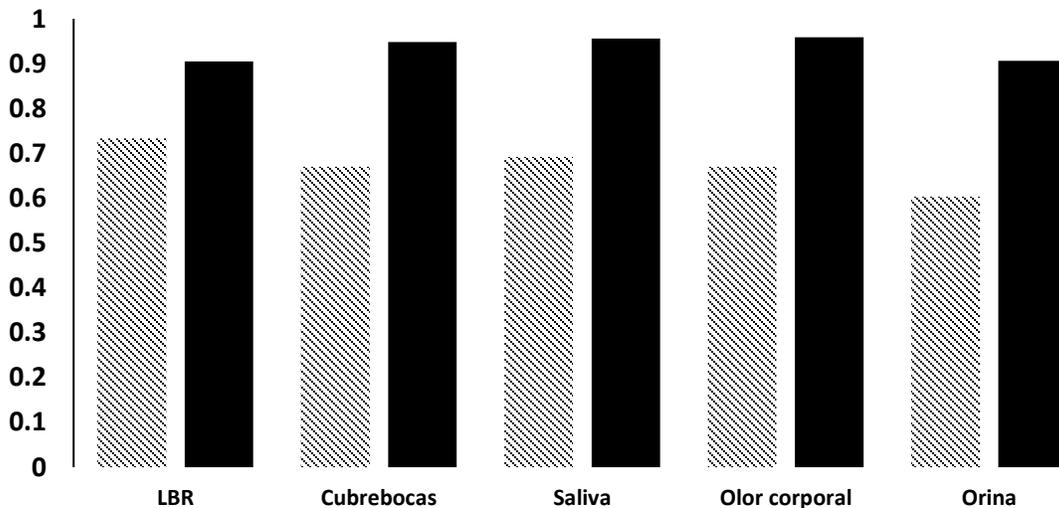
Figura 10. Efecto de la progresión del número de muestra dentro de un ejercicio sobre el índice de reconocimiento presentados por los perros. La línea punteada representa el resultado obtenido a los hisopados nasofaríngeos. La línea sólida representa Cubrebocas (A), saliva (B), sudor (C), orina (D).



Sensibilidad y especificidad de los perros en la detección de COVID-19 en diferentes tipos muestras (hisopados nasofaríngeos, cubrebocas, saliva, sudor y orina).

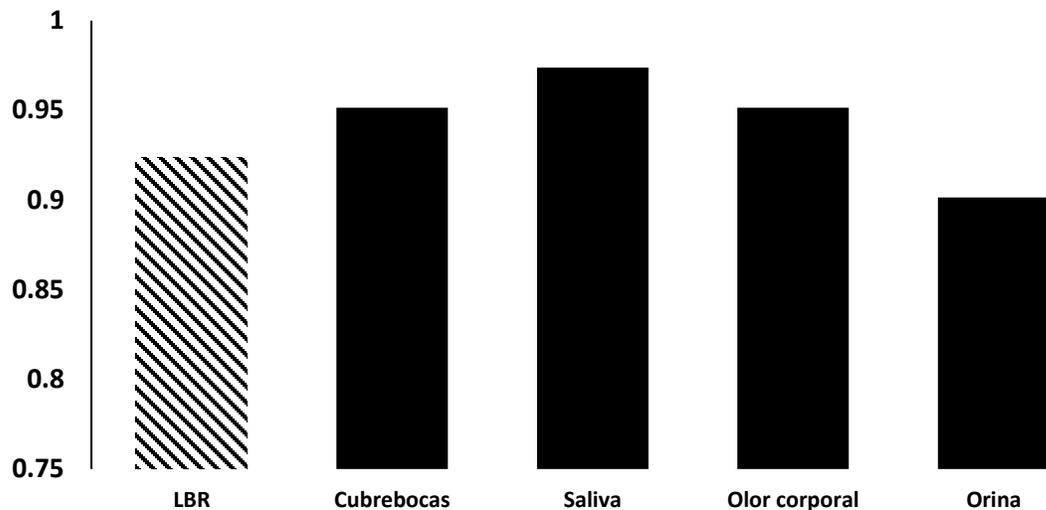
La sensibilidad (Figura 11) y especificidad (Figura 12) de los perros en la discriminación de muestras positivas a COVID-19 no difiere ($p>0.05$) entre los hisopados nasofaríngeos (Se=90.46 y Sp=92.36%) y los demás tipos de muestras presentados por primera vez (cubrebocas Se=94.79% y Sp=95.14%, saliva Se=95.62 y Sp=97.38%, sudor Se=95.85 y Sp=95.14% y orina Se=90.6 y Sp=90.14%). Cuando los perros tuvieron la oportunidad de revisar las muestras en una segunda ocasión o vuelta, la sensibilidad aumentó por encima del 90%. También se destacó que la especificidad máxima durante la detección se alcanzó con las muestras de saliva (97.38%, Figura 12).

Figura 11. Sensibilidad de los perros en la detección de COVID-19 en la primera exposición a diferentes tipos de muestras positivas a COVID-19 y al completar dos vueltas al carrusel.



Sensibilidad en la detección de COVID-19 alcanzada por los perros en la primera vuelta (barras con franjas diagonales), y al completar dos vueltas (barras color negro) al carrusel.

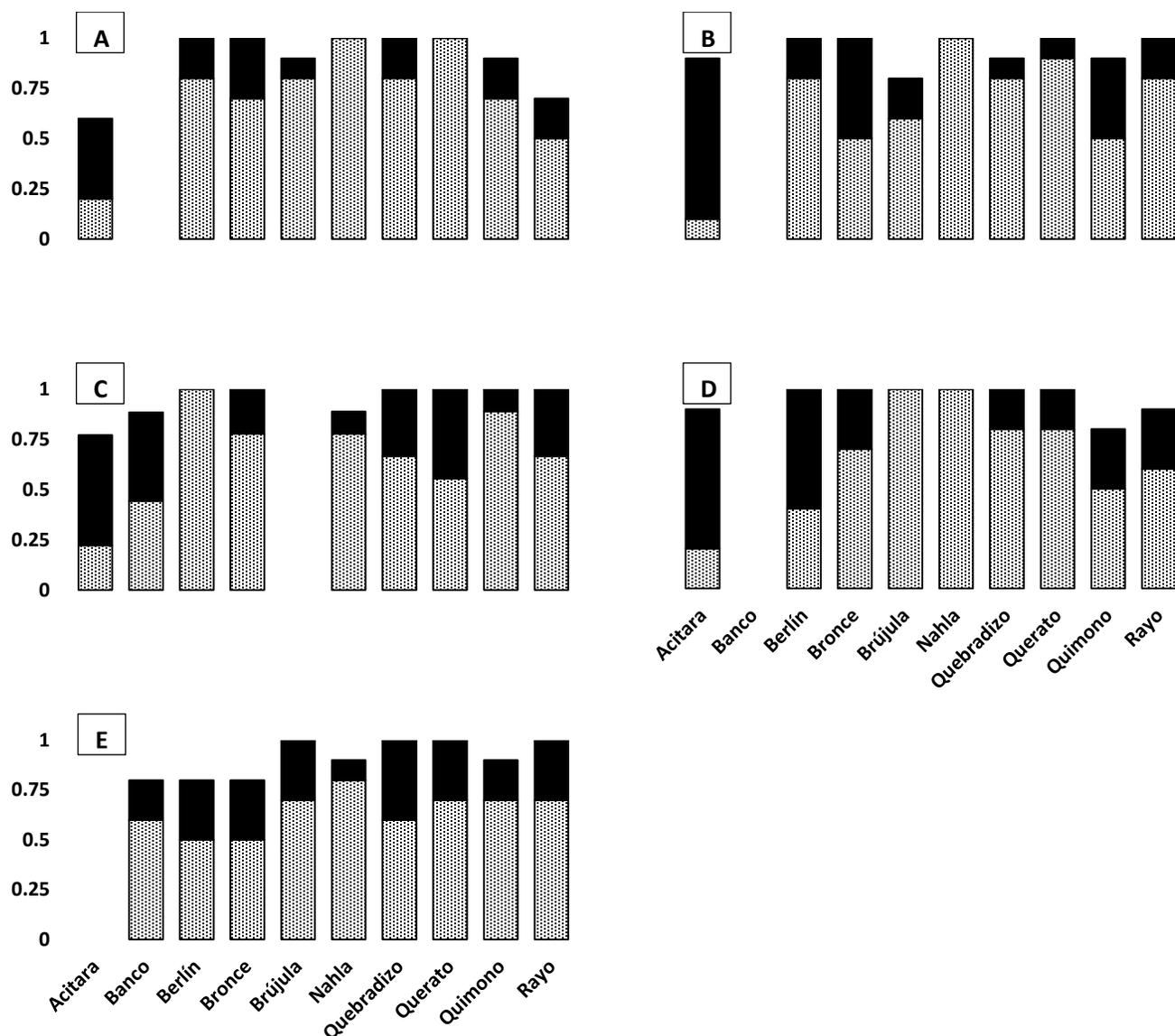
Figura 12. Especificidad de los perros en la detección de COVID-19 en su primera exposición a diferentes tipos de muestras.



Especificidad en la detección de COVID-19 alcanzada por los perros para diferentes tipos de muestras. No se encontraron diferencias entre los diferentes tipos de muestra (barras negras) y los hisopados nasofaríngeos (barra con líneas, $p=0.05$).

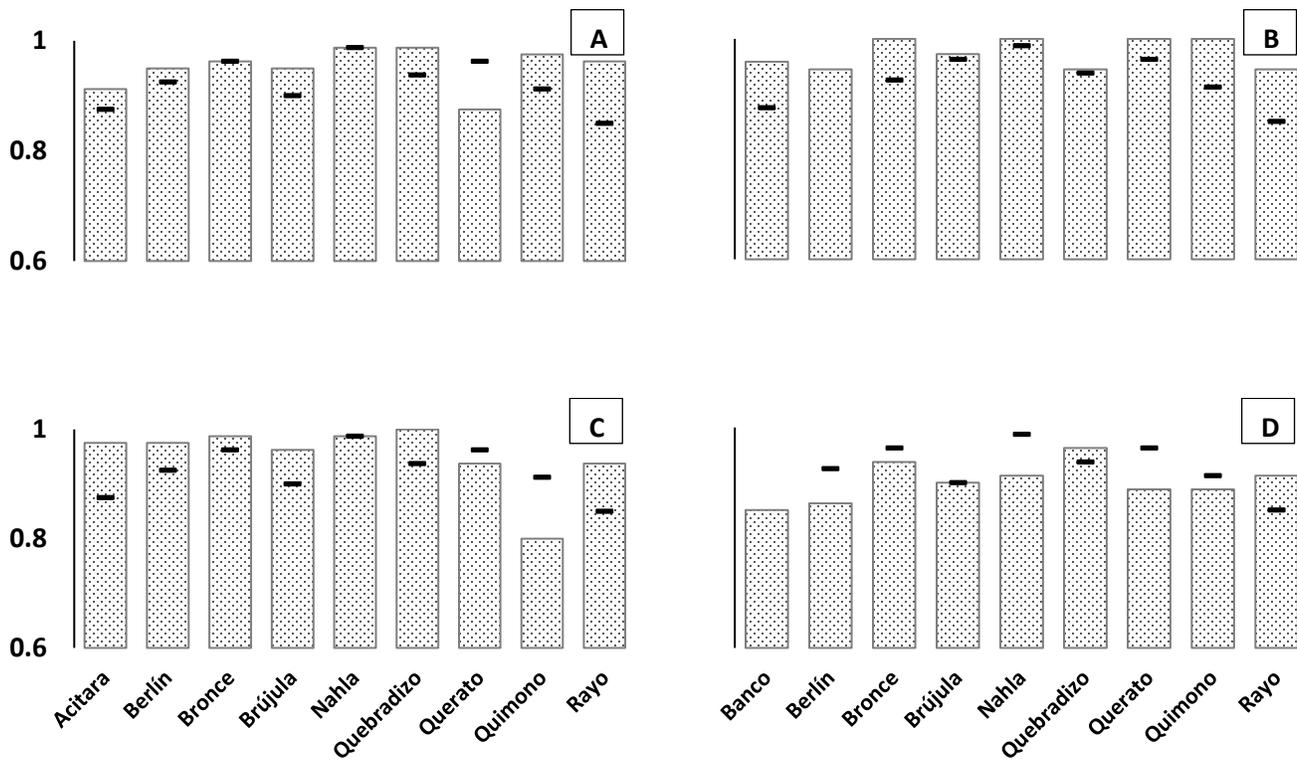
La sensibilidad y especificidad de los perros hacia la discriminación de diferentes tipos de muestras positivas a COVID-19 fue heterogéneo. Se pudo apreciar, por ejemplo, que hubo perros cuya sensibilidad fue similar para todos los tipos de muestra e incluso superior al 90 % desde su primer contacto, mientras que otros necesitaban completar una segunda vuelta al carrusel para que su sensibilidad fuera similar o superior a la resultante de la discriminación de hisopados nasofaríngeos del LBR (Figura 13). Cuando se observó la especificidad individual hacia los diferentes tipos de muestras, estas diferencias entre perros también se vieron reflejadas (Figura 14).

Figura 13. Sensibilidad individual hacia la discriminación de COVID-19 de perros expuestos por primera o segunda vez a diferentes tipos de muestra.



Las columnas representan la sensibilidad alcanzada por cada perro en la primera vuelta (relleno punteado), y al completar dos vueltas (relleno color negro) durante la detección de muestras positivas a COVID-19. Hisopados nasofaríngeos del LBR (A), cubrebocas (B), saliva (C), sudor (D), y orina (E).

Figura 14. Especificidad individual hacia la discriminación de COVID-19 de perros expuestos a diferentes tipos de muestra.



Las columnas representan la especificidad de cada perro hacia cubrebocas (A), saliva (B), sudor (C), y orina (D). La línea horizontal presente en cada columna (resaltada en color negro) muestra la especificidad que tuvieron hacia hisopados nasofaríngeos del LBR.

DISCUSIÓN

Este estudio reveló que los perros entrenados para detectar COVID-19 a través de muestras de hisopados nasales pueden identificar el aroma característico de la enfermedad en muestras de orina, olor corporal, cubrebocas y saliva, sin haber tenido entrenamiento o contacto previo con estos sustratos. Esta capacidad de detección en los diferentes tipos de muestra sugiere que los compuestos volátiles específicos asociados al SARS-CoV-2 no se encuentran solamente en las secreciones nasales, sino que están presentes en distintas excreciones y secreciones corporales. Para evaluar la eficiencia en la detección, en este estudio se desarrolló e implementó, además, una escala de calificación basada en el comportamiento olfativo de los perros que considera la intensidad con la que reaccionan hacia una muestra positiva y aporta un índice de

reconocimiento de la misma. Esta herramienta ayuda al manejador a interpretar de manera más precisa las señales del animal, optimizando la sensibilidad de la prueba olfativa. La intensidad de reacción y el índice de reconocimiento obtenidos por los perros en este estudio fueron similares para los cinco tipos de muestra evaluados.

Los perros empleados en este trabajo fueron entrenados para la detección de COVID-19 a partir de muestras de hisopos nasofaríngeos, con los que alcanzaron sensibilidad y especificidad superiores a 95% (datos no publicados). Posteriormente, continuaron su trabajo en la detección de COVID-19 por más de 4 meses, sin ser expuestos a muestras de pacientes que no fueran de hisopados nasofaríngeos. En su primer contacto con tipos de muestra distintos en este estudio, la sensibilidad promedio de los perros fue de 90.6% a muestras positivas de orina, 95.85% para sudor, 95.62% en saliva y 94.79% en cubrebocas, similar en todos los casos a la que se obtuvo para las muestras de hisopados nasofaríngeos que se utilizaron como testigo de referencia (90.46%). Recientemente, otros trabajos han confirmado la capacidad de los perros para detectar el olor de la COVID-19 en distintos tipos de muestras, como secreciones del aparato respiratorio (*Vesga et al., 2021, Eskandari et al., 2021, Jendrny et al., 2020*), saliva (*Jendrny et al., 2020*), cubrebocas (*Mendel et al., 2021*), ropa (*Eskandari et al., 2021*), sudor (*Angeletti et al., 2021, Hag-Ali et al., 2021, Grandjean et al., 2020, Mancilla et al., 2022*) y orina (*Kantele et al., 2022*), obteniendo sensibilidades superiores al 90%. Sin embargo, estos estudios evaluaron a perros que fueron entrenados y examinados utilizando el mismo tipo de muestra, dejando sin respuesta si el olor a COVID-19 es consistente entre diferentes tipos de muestra, o si los perros son capaces de identificar un olor común entre éstas.

De hecho, hasta el momento de la realización de este trabajo no se había informado que los perros que hubieran sido entrenados sobre un tipo de muestra fueran capaces de detectar el olor en tipos de muestra distintos en su primer contacto. El que los perros puedan reconocer un olor común en distintos sustratos podría deberse a que el virus SARS-COV2 está afectando a células en diferentes partes del cuerpo (*Peiris et al., 2021*). En efecto, en diversos estudios se confirma la presencia de ARN viral en muestras de líquido cefalorraquídeo (*Franco et al., 2021*), líquido bronco-alveolar, esputo, hisopos

nasofaríngeos, heces, sangre (*Wang et al., 2020*) y orina (*Peng et al., 2020*). Alternativamente, el virus pudiera estar afectando a un órgano o tejido en particular que produce compuestos orgánicos volátiles característicos (COVs) en respuesta a este proceso patológico, mismos que difunden o son transferidos a través de la circulación a otros órganos, pudiendo ser eliminados en sitios distintos al de su punto de procedencia. Estos COVs pueden ser detectados por especies con alta agudeza olfativa, como los caninos o los roedores (*Bijland et al., 2013, Amann et al., 2014, Buljubasic and Buchbauer, 2015, Angle et al., 2016, Cambau y Poljak, 2020*).

Ciertamente, el origen bioquímico de los COVs no se entiende del todo. En un estudio reciente, se identificaron un total de 2746 COVs distintos en el cuerpo humano sano, con un 13.8% identificados en la sangre, 54.19% en la respiración, 16.13% en las heces, 10.56% en la leche, 19.99% en la saliva, 7.14% en el semen, 22.69% en la piel, y 16.17% en la orina (*Drabinska et al., 2021*). De estos, solo catorce COVs fueron comunes a todos los fluidos estudiados (*Drabrinska et al., 2021*). Por otra parte, se ha propuesto que ocurren cambios en la producción de COVs en los individuos enfermos que parecen ser específicos de la enfermedad (*Amann et al., 2014*). Se sabe también que la transferencia de COV desde su punto de origen hacia otras partes del cuerpo es posible, sin embargo, los COVs están expuestos a alteraciones o transformaciones durante el trayecto a causa de los procesos metabólicos inherentes de los órganos que atraviesan (pulmón, hígado, riñón, piel, etc), o de los procesos enzimáticos específicos de su metabolización. Esto puede resultar en cambios en las concentraciones de los COVs existentes o en la formación de nuevos COVs, lo que produciría perfiles de COVs que pudieran diferir entre tipos de muestra (*Amann et al., 2014*), lo que resalta lo extraordinario que resulta que los perros puedan detectar el olor de COVID-19 con tan alta eficiencia en todos los tipos de muestra estudiados.

Otros trabajos realizados después de haber iniciado nuestra investigación han mostrado también que el aroma de COVID-19 puede ser detectado por los perros en muestras para las que no fueron entrenados. *Jendrny et al., 2021*, por ejemplo, evaluaron 10 perros adiestrados para discriminar COVID-19 en muestras de saliva, obteniendo sensibilidades

incluso mayores para muestras positivas de orina y sudor (82%, 95% y 91%, respectivamente). En su trabajo utilizaron, sin embargo, un total de solo 93 muestras en forma repetida (incluyendo muestras positivas y negativas), para contabilizar un total de 5308 exposiciones, cabiendo la posibilidad de que los perros memorizaran las muestras positivas. Por otra parte, *Essler et al., 2021* expusieron a 9 perros, previamente entrenados para detectar COVID-19 en muestras de orina (sensibilidad 71%), a muestras de saliva en 2 ensayos diferentes, encontrando que 6/9 perros identificaron las muestras positivas de COVID-19 en el primer ensayo y 4/9 en el segundo. Cabe mencionar que, aunque 3 perros no hicieron la indicación adecuada hacia las muestras positivas, mostraron cambios conductuales que hicieron suponer a los investigadores que habían reconocido apropiadamente el olor de COVID-19. Similarmente, *Devillier et al., 2022*, entrenaron 4 perros sobre muestras de sudor, obteniendo una sensibilidad del 89.6% y, posteriormente, evaluaron la transferencia de su rendimiento a muestras de cubrebocas, obteniendo una sensibilidad de 83.1% en 262 presentaciones de 98 muestras (28 de ellas positivas). Los trabajos de *Jendry et al., 2021* y *Devillier et al., 2022* mencionan un alto número de presentaciones de muestras, ya que a cada vez que utilizaron una muestra la contabilizan como una presentación independiente, sin embargo, en ambos casos se repitió el uso de muestras, lo que pudiera haber permitido que los perros las memorizaran. En contraste, tanto en el estudio de *Essler et al., 2021*, como en el presente trabajo, las muestras positivas se utilizaron en una sola ocasión para cada perro. Además, las evaluaciones realizadas durante este estudio se llevaron a cabo en un periodo corto, lo que permite asegurar que los perros estaban efectivamente reconociendo un olor característico a COVID-19, y que fueron capaces de detectarlo en tipos de muestra diferentes al usado durante su entrenamiento.

En este estudio, la sensibilidad diagnóstica de los perros reportada para los tipos de muestra diferentes al usado durante el entrenamiento fue calculada en una sola sesión con 10 ejercicios de búsqueda e igual número de muestras positivas. La sensibilidad diagnóstica obtenida representa entonces la reacción de los perros a la primera exposición a un tipo de muestra desconocido. Más aún, con el fin de evaluar la capacidad

de identificación de los perros hacia el olor a COVID-19 en los diferentes tipos de muestra, se diseñó una escala llamada “intensidad de reacción” que, a través de las pautas de comportamiento, evalúa la manera en la que reacciona el perro hacia el olor de cada muestra. Para mitigar las posibles diferencias debidas a una interpretación subjetiva de la manifestación conductual, las pautas en la reacción de los perros fueron calificadas por tres evaluadores distintos y se utilizó la moda de las calificaciones para el análisis. El uso de esta escala de calificación indicó que todos los tipos de muestra, independientemente de su origen corporal, despertaron una intensidad de reacción de muy alto interés (nivel 2 o 3) que, además, fue similar para todos los tipos de muestra presentados. Adicionalmente, se observó que los perros tienen una alta intensidad de reacción dentro de los diferentes tipos de muestra desde la primera muestra positiva a la que fueron expuestos y que esta intensidad no se modificó para las 10 muestras positivas presentadas a lo largo de una sesión. Esto, desde luego, no significa que los perros no sean capaces de aprender y mejorar su desempeño con la exposición repetida a nuevos tipos de muestra, sin embargo, dicha evaluación quedó fuera del alcance de este trabajo. Aun cuando otros investigadores han desarrollado métodos para la cuantificación sistemática de pautas conductuales que asisten en la selección de perros para el trabajo de olfato (CARAT y Brownell-Marsolais), no tenemos conocimiento de que exista un trabajo similar donde la reacción hacia el olor de una enfermedad o sustancia haya sido evaluada por conductas diferentes a la de una indicación. La necesidad de una escala que considere las pautas conductuales de interés además de la indicación queda de manifiesto en trabajos como el de *Essler et al., 2021*, quienes mencionan que durante los ejercicios de búsqueda, algunos perros que no llegaron a indicar sobre la muestra, presentaron cambios de comportamiento indicativos de un mayor o menor grado de reconocimiento del olor a COVID-19. De manera similar, la segunda escala desarrollada en este estudio y denominada “índice de reconocimiento”, aumenta la información que se tiene sobre el perro al incorporar el número de oportunidades que éste toma para identificar a la muestra positiva. El significado de dicho comportamiento puede sugerir una característica individual al perro, i.e. la confianza que tiene sobre la indicación, o bien, estar relacionado a la intensidad de olor de la muestra o a algún otro

motivo. Consecuentemente, es necesario realizar más estudios para determinar el alcance de ambas escalas utilizadas ya que, al lograr reconocer e incorporar las diferentes pautas de comportamiento, se mejora la sensibilidad con la que los perros son evaluados, lo que a la postre permite un uso más eficiente de los perros como herramienta de ayuda diagnóstica. Este estudio aporta, por lo tanto, nuevas herramientas para ser utilizadas durante el entrenamiento y la evaluación de los perros destinados a trabajos de olfato.

El reconocimiento de la capacidad de los perros para detectar enfermedades inició con casos incidentales a partir de la observación de mascotas que olfateaban insistentemente un lunar en la pierna de sus dueños que, después de un examen patológico, fue diagnosticado como melanoma (*Church y Williams, 2001*). A partir de ello, otros trabajos han corroborado la capacidad de los perros para detectar diferentes tipos de cáncer, entre ellos cáncer de pulmón (*Hackner et al., 2016, Riedlova et al., 2022*), de ovario (*Kane et al., 2022*), de mama (*McCulloch et al., 2006*), y de próstata (*Jeong et al., 2022*). Además del cáncer, se ha demostrado que los perros pueden detectar la presencia de enfermedades parasitarias (malaria, *Guest et al., 2019*), bacterianas (*Maurer et al., 2016*) y metabólicas (hipoglicemia, *Hardin et al., 2015*; epilepsia, *Catalá et al., 2019*). Durante la pandemia de COVID-19 quedó de manifiesto que los perros pueden también detectar enfermedades virales.

Este estudio reafirma que el olor característico a COVID-19 está presente en diferentes fluidos corporales, lo que permite un tamizaje diagnóstico en muestras que pueden ser obtenidas de manera más accesible y con un menor grado de invasividad que los hisopados nasofaríngeos. Además, la capacidad de los perros para identificar muestras de pacientes positivos a COVID-19 a través del olfato se mantiene consistente entre los distintos tipos de muestra presentados. Esto indica que la eficacia de los perros no se ve afectada si inicialmente fueron entrenados con un tipo de muestra diferente al que posteriormente se les pide discriminar. La portabilidad relativa de los perros a zonas remotas representa otra ventaja de este tipo de ayudas diagnósticas, potenciando la vigilancia epidemiológica en zonas remotas y menos urbanizadas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguilar Ramírez, P., Enriquez Valencia, Y., Quiroz Carrillo, C., Valencia Ayala, E., de León Delgado, J., Pareja Cruz, A., 2020. Pruebas diagnósticas para la COVID-19: la importancia del antes y el después. *Horizonte Medico* 20, e1231. Disponible en http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-558X2020000200014

Akbulaev, N., Mammadov, I., Aliyev, V., 2020. Economic Impact of COVID-19. *SSRN Journal* 164, 113 – 126. Disponible en <https://doi.org/10.2139/ssrn.3649813>.

Amann, A., Costello, B. de L., Miekisch, W., Schubert, J., Buszewski, B., Pleil, J., Ratcliffe, N., Risby, T., 2014. The human volatilome: volatile organic compounds (VOCs) in exhaled breath, skin emanations, urine, feces and saliva. *Journal of Breath Research*. 8, 034001. Disponible en <https://doi.org/10.1088/1752-7155/8/3/034001>.

Amundsen, T., Sundstrøm, S., Buvik, T., Gederaas, O.A., Haaverstad, R., 2014. Can dogs smell lung cancer? First study using exhaled breath and urine screening in unselected patients with suspected lung cancer. *Acta Oncologica* 53, 307–315. Disponible en <https://doi.org/10.3109/0284186X.2013.819996>.

Angeletti, S., Travaglino, F., Spoto, S., Chiara Pasarella, M., Mansi, G., De Cesaris, M., Sarteà, S., Giovanetti, M., Fogolari, M., Plescia, D., Macera, M., Antonelli Incalzi, R., Ciccozzi, M. 2021. COVID-19 sniffer dog experimental training: Which protocol and which implications for reliable identification?. *Journal of Medical Virology* 93, 5924–5930. Disponible en <https://doi.org/10.1002/jmv.27147>.

Angle, C., Waggoner, L.P., Ferrando, A., Haney, P., Passler, T., 2016. Canine Detection of the Volatilome: A Review of Implications for Pathogen and Disease Detection. *Front. Vet. Sci.* 3. 7. Disponible en <https://doi.org/10.3389/fvets.2016.00047>.

Arslan, B., Bercin, S., Aydogan, S., Islamoglu, Y., Dinc, B., 2021. SARS-CoV-2 is not found in the sweat of COVID-19 positive patients. *Ir J Med Sci.* 191, 27- 29. Disponible en <https://doi.org/10.1007/s11845-021-02537-y>.

Bijland, L.R., Bomers, M.K., Smulders, Y.M., 2013. Smelling the diagnosis. A review on the use of scent in diagnosing disease. *The Journal of Medicine* 71, 300–307. Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23956311/>.

Brownell, D.A., Marsolais, M., 2000. The Brownell-Marsolais scale: a proposal for the quantitative evaluation of Sar/ disaster k9 candidates.

Buck, L., Axel, R., 1991. A Novel Multigene Family May Encode Odorant Receptors: A Molecular Basis for Odor Recognition. *Cell* 65, 175–187. Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1840504/>.

Buck, L.B., 2004. Unraveling the sense of smell (Nobel lecture). *Angew Chem* 38, 6128-6140. Disponible en <https://doi.org/10.1002/anie.200501120>

Buljubasic, F., Buchbauer, G., 2015. The scent of human diseases: a review on specific volatile organic compounds as diagnostic biomarkers. *Flavour & Fragrance J* 30, 5–25. Disponible en <https://doi.org/10.1002/ffj.3219>.

Busula, A.O., Bousema, T., Mweresa, C.K., Masiga, D., Logan, J.G., Sauerwein, R.W., Verhulst, N.O., Takken, W., de Boer, J.G., 2017. Gametocytemia and Attractiveness of *Plasmodium falciparum*-Infected Kenyan Children to *Anopheles gambiae* Mosquitoes. *The Journal of Infectious Diseases* 216, 291–295. Disponible en <https://doi.org/10.1093/infdis/jix214>.

Buzek, A., Serwańska-Leja, K., Zaworska-Zakrzewska, A., Kasproicz-Potocka, M., 2022. The Shape of the Nasal Cavity and Adaptations to Sniffing in the Dog (*Canis familiaris*) Compared to Other Domesticated Mammals: A Review Article. *Animals* 12, 517. Disponible en <https://doi.org/10.3390/ani12040517>.

Cabrera, A., González-Álvarez, D., Gutiérrez, L.A., Díaz, F.J., Forero, D., Rodas, J.D., 2022. Infección natural por SARS-CoV-2 en gatos y perros domésticos de personas con diagnóstico de COVID-19 en el Valle de Aburrá, Antioquia. *Biomédica* 42, 48–58. Disponible en <https://doi.org/10.7705/biomedica.6407>.

Cambau, E., Poljak, M., 2020. Sniffing animals as a diagnostic tool in infectious diseases. *Clinical Microbiology and Infection* 26, 431–435. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.10.036>.

Catala, A., Grandgeorge, M., Schaff, J.L., Cousillas, H., Hausberger, M., Cattet, J., 2019. Dogs demonstrate the existence of an epileptic seizure odour in humans. *Scientific Reports* 9, 4103. Disponible en <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40721-4>.

Church, J., Williams, H., 2001. Another sniffer dog for the clinic? *The Lancet* 358, 930. Disponible en <https://www.thelancet.com/action/showPdf?pii=S01406736%2801%29060652>.

Contini, C., Rotondo, J.C., Perna, B., Guarino, M., De Giorgio, R., 2023. Special Issue: Advances in SARS-CoV-2 Infection. *Microorganisms* 11, 1048. Disponible en <https://doi.org/10.3390/microorganisms11041048>.

Cornu, J.-N., Cancel-Tassin, G., Ondet, V., Girardet, C., Cussenot, O., 2011. Olfactory Detection of Prostate Cancer by Dogs Sniffing Urine: A Step Forward in Early Diagnosis. *European Urology* 59, 197–201. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2010.10.006>.

Cortés, J.A., Costa, M.P., Canals, M., Pulgar, M., Mata, A., Carrasco, A., 2021. Evaluación de la prueba diagnóstica de detección rápida de antígeno de covid-19 (Panbio Covid rapid test)

en atención primaria. *Medicina de Familia. SEMERGEN* 47, 508–514. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.semerg.2021.06.001>.

Darnell, M.E.R., Subbarao, K., Feinstone, S.M., Taylor, D.R., 2004. Inactivation of the coronavirus that induces severe acute respiratory syndrome, SARS-CoV. *Journal of Virological Methods* 121, 85–91. Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15350737/>.

de Lacy Costello, B., Amann, A., Al-Kateb, H., Flynn, C., Filipiak, W., Khalid, T., Osborne, D., Ratcliffe, N.M., 2014. A review of the volatiles from the healthy human body. *J. Breath Res.* 8, 014001. Disponible en <https://doi.org/10.1088/1752-7155/8/1/014001>.

Dehlinger, K., Tarnowski, K., House, J.L., Los, E., Hanavan, K., Bustamante, B., Ahmann, A.J., Ward, W.K., 2013. Can Trained Dogs Detect a Hypoglycemic Scent in Patients With Type 1 Diabetes? *Diabetes Care* 36, e98–e99. Disponible en <https://doi.org/10.2337/dc12-2342>.

Devillier, P., Gallet, C., Salvator, H., Lecoq-Julien, C., Naline, E., Roisse, D., Levert, C., Breton, E., Galtat, A., Decourtray, S., Prevel, L., Grassin-Delyle, S., Grandjean, D., 2022. Biomedical detection dogs for the identification of SARS-CoV-2 infections from axillary sweat and breath samples. *J. Breath Res.* 16, 037101. Disponible en <https://doi.org/10.1088/1752-7163/ac5d8c>.

Dietz, L., Horve, P.F., Coil, D.A., Fretz, M., Eisen, J.A., Van Den Wymelenberg, K., 2020. 2019 Novel Coronavirus (COVID-19) Pandemic: Built Environment Considerations To Reduce Transmission. *mSystems* 5, e00245-20. Disponible en <https://doi.org/10.1128/mSystems.00245-20>.

Dominguez Ortega, L., Díaz Gállego, E., Pozo, F., Cabrera García-Armenter, S., Serrano Comino, M., Dominguez Sanchez, E., 2013. Narcolepsia y olor: resultados preliminares. *SEMERGEN - Medicina de Familia* 39, 348–353. Disponible en <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1138359313001160#>.

Drabińska N, Flynn C, Ratcliffe N, Belluomo I, Myridakis A, Gould O, Fois M, Smart A, Devine T, Costello BL. 2021. A literature survey of all volatiles from healthy human breath and bodily fluids: the human volatilome. *J Breath Res.* 15, 034001. Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33761469/>.

Duan, S.M., Zhao, X.S., Wen, R.F., Huang, J.J., Pi, G.H., Zhang, S.X., Han, J., Bi, S.L., Ruan, L., Dong, X.P., SARS Research Team, 2003. Stability of SARS coronavirus in human specimens and environment and its sensitivity to heating and UV irradiation. *Biomed Environ Sci* 16, 246–255. Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14631830/>.

Ehmann, R., Boedeker, E., Friedrich, U., Sagert, J., Dippon, J., Friedel, G., Walles, T., 2012. Canine scent detection in the diagnosis of lung cancer: revisiting a puzzling phenomenon. *European Respiratory Journal* 39, 669–676. Disponible en <https://doi.org/10.1183/09031936.00051711>.

Elliker, K.R., Sommerville, B.A., Broom, D.M., Neal, D.E., Armstrong, S., Williams, H.C., 2014. Key considerations for the experimental training and evaluation of cancer odour detection dogs: lessons learnt from a double-blind, controlled trial of prostate cancer detection. *BMC Urol* 14, 22. Disponible en <https://doi.org/10.1186/1471-2490-14-22>.

Eskandari, E., Ahmadi Marzaleh, M., Roudgari, H., Hamidi Farahani, R., Nezami-Asl, A., Laripour, R., Aliyazdi, H., Dabbagh Moghaddam, A., Zibaseresht, R., Akbarialiabad, H., Yousefi Zoshk, M., Shiri, H., Shiri, M., 2021. Sniffer dogs as a screening/diagnostic tool for COVID-19: a proof of concept study. *BMC Infect Dis* 21, 243. Disponible en <https://doi.org/10.1186/s12879-021-05939-6>.

Essler, J.L., Kane, S.A., Nolan, P., Akaho, E.H., Berna, A.Z., DeAngelo, A., Berk, R.A., Kaynaroglu, P., Plymouth, V.L., Frank, I.D., Weiss, S.R., Odom John, A.R., Otto, C.M., 2021. Discrimination of SARS-CoV-2 infected patient samples by detection dogs: A proof of concept study. *PLoS ONE* 16, e0250158. Disponible en <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0250158>.

Experimental Biology, 2019. Study shows dogs can accurately sniff out cancer in blood. [Documento electrónico]. ScienceDaily. Disponible en <https://www.sciencedaily.com/releases/2019/04/190408114304.htm> [consultado el 16.11.21].

Fathizadeh, H., Taghizadeh, S., Safari, R., Khiabani, S.S., Babak, B., Hamzavi, F., Ganbarov, K., Esposito, S., Zeinalzadeh, E., Dao, S., Köse, Ş., Kafil, H.S., 2020. Study presence of COVID-19 (SARS-CoV-2) in the sweat of patients infected with Covid-19. *Microbial Pathogenesis* 149, 104556. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7534876/>.

Fenollar, F., Bouam, A., Ballouche, M., Fuster, L., Prudent, E., Colson, P., Tissot-Dupont, H., Million, M., Drancourt, M., Raoult, D., Fournier, P.-E., 2021. Evaluation of the Panbio COVID-19 Rapid Antigen Detection Test Device for the Screening of Patients with COVID-19. *Journal of Clinical Microbiology* 59, e02589-20. Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33139420/>.

Fischer-Tenhagen, C., Johnen, D., Nehls, I., Becker, R., 2018. A Proof of Concept: Are Detection Dogs a Useful Tool to Verify Potential Biomarkers for Lung Cancer? *Front. Vet. Sci.* 5, 52. Disponible en <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00052>.

Franco, P., Bellesi, Y., Nocent, E., Strappa, A., Galeano, M.L., Sbruzzi, A., Ibarra, M., 2021. Detección de SARS-CoV-2 en líquido cefalorraquídeo en un paciente pediátrico. Reporte de un caso. *Arch Argent Pediat* 119, e58–e60. Disponible en <https://doi.org/10.5546/aap.2021.e58>.

Fuentes, A., Fresno, M.J., Santander, H., Valenzuela, S., Gutiérrez, M.F., Miralles, R., 2011. Sensopercepción olfatoria: una revisión. *Rev. méd. Chile* 139, 362–367. Disponible en <https://doi.org/10.4067/S0034-98872011000300013>.

Gonder-Frederick, L.A., Grabman, J.H., Shepard, J.A., Tripathi, A.V., Ducar, D.M., McElgunn, Z.R., 2017. Variability of Diabetes Alert Dog Accuracy in a Real-World Setting. *J Diabetes Sci Technol* 11, 714–719. Disponible en <https://doi.org/10.1177/1932296816685580>.

Gordon, R.T., Schatz, C.B., Myers, L.J., Kosty, M., Gonczy, C., Kroener, J., Tran, M., Kurtzhals, P., Heath, S., Koziol, J.A., Arthur, N., Gabriel, M., Hemping, J., Hemping, G., Nesbitt, S., Tucker-Clark, L., Zaayer, J., 2008. The Use of Canines in the Detection of Human Cancers. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine* 14, 61–67. Disponible en <https://doi.org/10.1089/acm.2006.6408>.

Gouzerh, F., Ganem, G., Pichevin, A., Dormont, L., Thomas, F., 2023. Ability of animals to detect cancer odors. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer* 1878, 188850. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2022.188850>.

Grandjean, D., Sarkis, R., Lecoq-Julien, C., Benard, A., Roger, V., Levesque, E., Bernes Luciani, E., Maestracci, B., Morvan, P., Gully, E., Berceau Falancourt, D., Haufstater, P., Herin, G., Cabrera, J., Muzzin, Q., Gallet, C., Bacqué, H., Broc, J.M., Thomas, L., Lichaa, A., Moujaes, G., Saliba, M., Kuhn, A., Galey, M., Berthail, B., Lapeyre, L., Capelli, A., Renault, S., Bachir, K., Kovinge, A., Comas, E., Stainmesse, A., Etienne, E., Voeltzel, S., Mansouri, S., Berceau Falancourt, M., Dami, A., Charlet, L., Ruau, E., Issa, M., Grenet, C., Billy, C., Tourtier, J.P., Desquilbet, L., 2020. Can the detection dog alert on COVID-19 positive persons by sniffing axillary sweat samples? A proof-of-concept study. *PLoS ONE* 15, e0243122. Disponible en <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0243122>.

Guest, C., Dewhirst, S.Y., Lindsay, S.W., Allen, D.J., Aziz, S., Baerenbold, O., Bradley, J., Chabildas, U., Chen-Hussey, V., Clifford, S., Cottis, L., Dennehy, J., Foley, E., Gezan, S.A., Gibson, T., Greaves, C.K., Kleinschmidt, I., Lambert, S., Last, A., Morant, S., Parker, J.E.A., Pickett, J., Quilty, B.J., Rooney, A., Shah, M., Somerville, M., Squires, C., Walker, M., Logan, J.G., COVID Dogs Research Team. 2022. Using trained dogs and organic semi-conducting sensors to identify asymptomatic and mild SARS-CoV-2 infections: an observational study. *Journal of Travel Medicine* 29, taac043. Disponible en <https://doi.org/10.1093/jtm/taac043>.

Guest, C., Pinder, M., Doggett, M., Squires, C., Affara, M., Kandeh, B., Dewhirst, S., Morant, S.V., D'Alessandro, U., Logan, J.G., Lindsay, S.W., 2019. Trained dogs identify people with malaria parasites by their odour. *The Lancet Infectious Diseases* 19, 578–580. Disponible en [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(19\)30220-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(19)30220-8).

Guo, Y.R., Cao, Q.-D., Hong, Z.S., Tan, Y.Y., Chen, S.D., Jin, H.J., Tan, K.S., Wang, D.Y., Yan, Y., 2020. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak – an update on the status. *Military Med Res* 7, 11. Disponible en <https://doi.org/10.1186/s40779-020-00240-0>.

Hackner, K., Errhalt, P., Mueller, M.R., Speiser, M., Marzluf, B.A., Schulheim, A., Schenk, P., Bilek, J., Doll, T., 2016. Canine scent detection for the diagnosis of lung cancer in a screening-

like situation. *J. Breath Res.* 10, 046003. Disponible en <https://doi.org/10.1088/1752-7155/10/4/046003>.

Hadagali, M.D., Suan, C.L., 2017. Advancement of sensitive sniffer bee technology. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 97, 153–158. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.09.006>.

Hag-Ali, M., AlShamsi, A.S., Boeijen, L., Mahmmod, Y., Manzoor, R., Rutten, H., Mweu, M.M., El-Tholoth, M., AlShamsi, A.A., 2021. The detection dogs test is more sensitive than real-time PCR in screening for SARS-CoV-2. *Commun Biol* 4, 686. Disponible en <https://doi.org/10.1038/s42003-021-02232-9>.

Hamid, R., SENTRYO, I., Hasan, S., 2020. Online learning and its problems in the Covid-19 emergency period. *J. Prim. Edukasia* 8, 86–95. Disponible en <https://doi.org/10.21831/jpe.v8i1.32165>.

Hardin, D.S., Anderson, W., Cattet, J., 2015. Dogs Can Be Successfully Trained to Alert to Hypoglycemia Samples from Patients with Type 1 Diabetes. *Diabetes Ther* 6, 509–517. Disponible en <https://doi.org/10.1007/s13300-015-0135-x>.

Ho, U.-H., Pak, S.-H., Kim, K., Pak, H.-S., 2023. Efficient screening of SNP in canine OR52N9 and OR9S25 as assistant marker of olfactory ability. *Journal of Veterinary Behavior* 60, 51–55. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.jveb.2022.12.008>.

Horvath, G., Andersson, H., Paulsson, G., 2010. Characteristic odour in the blood reveals ovarian carcinoma. *BMC Cancer* 10, 643. Disponible en <https://doi.org/10.1186/1471-2407-10-643>.

Horvath, G., Järverud, G.A.K., Järverud, S., Horváth, I., 2008. Human Ovarian Carcinomas Detected by Specific Odor. *Military Medical Research* 7, 76–80. Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18505901/>.

Hossain, M.M., Tasnim, S., Sultana, A., Faizah, F., Mazumder, H., Zou, L., McKyer, E.L.J., Ahmed, H.U., Ma, P., 2020. Epidemiology of mental health problems in COVID-19: a review. *F1000Res* 9, 636. Disponible en <https://doi.org/10.12688/f1000research.24457.1>

Jendry, P., Schulz, C., Twele, F., Meller, S., von Köckritz-Blickwede, M., Osterhaus, A.D.M.E., Ebberts, J., Pilchová, V., Pink, I., Welte, T., Manns, M.P., Fathi, A., Ernst, C., Addo, M.M., Schalke, E., Volk, H.A., 2020. Scent dog identification of samples from COVID-19 patients – a pilot study. *BMC Infect Dis* 20, 536. Disponible en <https://doi.org/10.1186/s12879-020-05281-3>.

Jendry, P., Twele, F., Meller, S., Schulz, C., von Köckritz-Blickwede, M., Osterhaus, A.D.M.E., Ebberts, H., Ebberts, J., Pilchová, V., Pink, I., Welte, T., Manns, M.P., Fathi, A., Addo, M.M., Ernst, C., Schäfer, W., Engels, M., Petrov, A., Marquart, K., Schotte, U., Schalke, E.,

Volk, H.A., 2021. Scent dog identification of SARS-CoV-2 infections in different body fluids. *BMC Infect Dis* 21, 707. Disponible en <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06411-1>.

Jenkins, E.K., DeChant, M.T., Perry, E.B., 2018. When the Nose Doesn't Know: Canine Olfactory Function Associated With Health, Management, and Potential Links to Microbiota. *Front. Vet. Sci.* 5, 56. Disponible en <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00056>.

Jeong, S., Kim, D., Kim, W.-J., Kim, G., 2022. Detection of volatile organic compounds from human prostate cancer cell using canine olfaction. *Journal of Veterinary Behavior* 49, 80–84. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.jveb.2021.10.010>.

Jeziński, T., Walczak, M., Ligor, T., Rudnicka, J., Buszewski, B., 2015. Study of the art: canine olfaction used for cancer detection on the basis of breath odour. Perspectives and limitations. *J. Breath Res.* 9, 027001. <https://doi.org/10.1088/1752-7155/9/2/027001>

Johns Hopkins University & Medicine. 2023. Cumulative cases over time. Where COVID-19 cases have been reported across the globe. [Documento electrónico]. Disponible en <https://coronavirus.jhu.edu/data/animated-world-map>. [consultado el 18.04.23].

Junqueira, H., Quinn, T.A., Biringer, R., Hussein, M., Smeriglio, C., Barrueto, L., Finizio, J., Huang, X.Y. "Michelle," 2019. Accuracy of Canine Scent Detection of Non–Small Cell Lung Cancer in Blood Serum. *The Journal of the American Osteopathic Association* 119, 413–418. Disponible en <https://doi.org/10.7556/jaoa.2019.077>.

Kane, S.A., Lee, Y.E., Essler, J.L., Mallikarjun, A., Preti, G., Plymouth, V.L., Verta, A., DeAngelo, A., Otto, C.M., 2022. Canine discrimination of ovarian cancer through volatile organic compounds. *Talanta* 250, 123729. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.123729>.

Kantele, A., Paajanen, J., Turunen, S., Pakkanen, S.H., Patjas, A., Itkonen, L., Heiskanen, E., Lappalainen, M., Desquilbet, L., Vapalahti, O., Hielm-Björkman, A., 2022. Scent dogs in detection of COVID-19: triple-blinded randomised trial and operational real-life screening in airport setting. *BMJ Glob Health* 7, e008024. Disponible en <https://gh.bmj.com/content/7/5/e008024.long>.

Kavoi, B.M., Jameela, H., 2011. Comparative Morphometry of the Olfactory Bulb, Tract and Stria in the Human, Dog and Goat. *Int. J. Morphol.* 29, 939–946. Disponible en <https://doi.org/10.4067/S0717-95022011000300047>.

Lesniak, A., Walczak, M., Jeziński, T., Sacharczuk, M., Gawkowski, M., Jaszczak, K., 2008. Canine Olfactory Receptor Gene Polymorphism and Its Relation to Odor Detection Performance by Sniffer Dogs. *Journal of Heredity* 99, 518–527. Disponible en <https://doi.org/10.1093/jhered/esn057>.

Los, E.A., Ramsey, K.L., Guttman-Bauman, I., Ahmann, A.J., 2017. Reliability of Trained Dogs to Alert to Hypoglycemia in Patients With Type 1 Diabetes. *J Diabetes Sci Technol* 11, 506–512. Disponible en <https://doi.org/10.1177/1932296816666537>.

Maa, E., Arnold, J., Ninedorf, K., Olsen, H., 2021. Canine detection of volatile organic compounds unique to human epileptic seizure. *Epilepsy & Behavior* 115, 107690. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2020.107690>.

Maa, E.H., Arnold, J., Bush, C.K., 2021. Epilepsy and the smell of fear. *Epilepsy & Behavior* 121, 108078. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2021.108078>.

Mancilla Tapia, J.M., Lozano Esparza, V., Orduña, A., Osuna Chávez, R.F., Robles Zepeda, R.E., Maldonado Cabrera, B., Bejar Cornejo, J.R., Ruiz León, I., González Becuar, C.G., Hielm-Björkman, A., Novelo González, A., Vidal Martínez, V.M., 2022. Dogs Detecting COVID-19 From Sweat and Saliva of Positive People: A Field Experience in Mexico. *Frontiers in Medicine*. 9, 837053. Disponible en <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.837053>.

Maurer, M., McCulloch, M., Willey, A.M., Hirsch, W., Dewey, D., 2016. Detection of Bacteriuria by Canine Olfaction. *Open Forum Infectious Diseases* 3, ofw051. Disponible en <https://doi.org/10.1093/ofid/ofw051>.

Maurer, M., Seto, T., Guest, C., Somal, A., Julian, C., 2022. Detection of SARS-CoV-2 by Canine Olfaction: A Pilot Study. *Open Forum Infectious Diseases* 9, ofac226. Disponible en <https://doi.org/10.1093/ofid/ofac226>.

McCulloch, M., Jezierski, T., Broffman, M., Hubbard, A., Turner, K., Janecki, T., 2006. Diagnostic Accuracy of Canine Scent Detection in Early- and Late-Stage Lung and Breast Cancers. *Integr Cancer Ther* 5, 30–39. Disponible en <https://doi.org/10.1177/1534735405285096>.

Mendel, J., Frank, K., Edlin, L., Hall, K., Webb, D., Mills, J., Holness, H.K., Furton, K.G., Mills, D., 2021. Preliminary accuracy of COVID-19 odor detection by canines and HS-SPME-GC-MS using exhaled breath samples. *Forensic Science International: Synergy* 3, 100155. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.fsisyn.2021.100155>.

Meredith, M., 2001. Human Vomeronasal Organ Function: A Critical Review of Best and Worst Cases. *Chemical Senses* 26, 433–445. Disponible en <https://doi.org/10.1093/chemse/26.4.433>.

Mesa Ridel, G.M., Rodriguez Luis, I., Teja, J., 2004. Las enfermedades emergentes y reemergentes: un problema de salud en las Américas. *Rev Panam Salud Publica* 15, 285–287. Disponible en <https://doi.org/10.1590/S1020-49892004000400014>.

Meza Calvache, J.M., Estrada Rodríguez, A.D., Chabusa Martínez, C.B., Velasco Paucar, V.A., 2020. Utilidad de Pruebas de cadena de polimerasa, pruebas rápidas y Tomografías en

pacientes con Covid-19. *Journal of American Health* 3, 32–39. Disponible en <https://doi.org/10.37958/jah.v3i2.28>.

Moser, A.Y., Bizo, L., Brown, W.Y., 2019. Olfactory Generalization in Detector Dogs. *Animals* 9, 702. Disponible en <https://doi.org/10.3390/ani9090702>.

Mwampashi, R., Cutright, E., Fast, C.D., Bonfoh, B., Kazwala, R.R., Mathew, C., 2023. Scent detection of *Brucella abortus* by African giant pouched rats (*Cricetomys ansorgei*). *BMC Vet Res* 19, 226. Disponible en <https://doi.org/10.1186/s12917-023-03786-y>.

National Institute of Allergy and Infectious Diseases, 2020. Novel Coronavirus SARS-CoV-2. [Documento electrónico]. Disponible en <https://www.flickr.com/photos/nihgov/49666507616/in/album72157713108522106/>. [consultado el 08.05.23].

Oliva Marín, J.E., 2020. SARS-CoV-2: origen, estructura, replicación y patogénesis. *Alerta Revista científica Del Instituto Nacional De Salud* 3, 79- 86. Disponible en <https://doi.org/10.5377/alerta.v3i2.9619>.

Organización Mundial de la Salud. 2020. Pruebas diagnósticas para el SARS-CoV-2. [Documento electrónico]. Disponible en <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/334254/WHO-2019-nCoV-laboratory-2020.6-eng.pdf?sequence=1> [consultado el 22.04.23].

Organización Mundial de la Salud. 2022. Reseña normativa de la OMS: Pruebas de detección de la COVID-19. [Documento electrónico]. Disponible en https://www.who.int/es/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-Policy_Brief-Testing-2022.1 [consultado el 20.04.23].

Organización Mundial de la Salud. 2023. WHO Coronavirus (COVID-19). Dashboard. [Documento electrónico]. Disponible en <https://covid19.who.int/> [consultado el 25.04.23].

Organización Panamericana de la Salud. 2020. La COVID-19. Comunicado conjunto sobre el nuevo coronavirus y los perros y gatos [Documento electrónico]. Disponible en <https://www.paho.org/es/documentos/covid-19-comunicado-conjunto-sobre-nuevo-coronavirus-perros-gatos> [consultado el 01.06.22].

Peeling, R.W., Olliaro, P.L., Boeras, D.I., Fongwen, N., 2021. Scaling up COVID-19 rapid antigen tests: promises and challenges. *The Lancet Infectious Diseases* 21, e290–e295. Disponible en [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(21\)00048-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(21)00048-7).

Peiris, S., Mesa, H., Aysola, A., Manivel, J., Toledo, J., Borges-Sa, M., Aldighieri, S., Reveiz, L., 2021. Pathological findings in organs and tissues of patients with COVID-19: A systematic review. *PLoS ONE* 16, e0250708. Disponible en <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0250708>.

Peng, L., Liu, J., Xu, W., Luo, Q., Chen, D., Lei, Z., Huang, Z., Li, X., Deng, K., Lin, B., Gao, Z., 2020. SARS-CoV-2 can be detected in urine, blood, anal swabs, and oropharyngeal swabs specimens. *Journal of Medical Virology* 92, 1676–1680. Disponible en <https://doi.org/10.1002/jmv.25936>.

Piqueret, B., Bourachot, B., Leroy, C., Devienne, P., Mehta-Grigoriou, F., d'Ettoire, P., Sandoz, J.-C., 2022. Ants detect cancer cells through volatile organic compounds. *iScience* 25, 103959. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.103959>.

Quesada, J.A., López, A., Gil, V.F., Arriero, J.M., Gutiérrez, F., Carratala, C., 2021. Período de incubación de la COVID-19: revisión sistemática y metaanálisis. *Revista Clínica Española* 221, 109–117. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.rce.2020.08.005>.

Quignon, P., Giraud, M., Rimbault, M., Lavigne, P., Tacher, S., Morin, E., Retout, E., Valin, A.-S., Lindblad-Toh, K., Nicolas, J., Galibert, F., 2005. The dog and rat olfactory receptor repertoires. *Genome Biol* 6, R83. Disponible en <https://doi.org/10.1186/gb-2005-6-10-r83>.

Quignon, P., Rimbault, M., Robin, S., Galibert, F., 2012. Genetics of canine olfaction and receptor diversity. *Mamm Genome* 23, 132–143. Disponible en <https://doi.org/10.1007/s00335-011-9371-1>.

Riedlova, P., Tavandzis, S., Kana, J., Tobiasova, M., Jasickova, I., Roubec, J., 2022. Olfactometric diagnosis of lung cancer by canine scent – A double-blinded study. *Complementary Therapies in Medicine* 64, 102800. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2022.102800>.

Rodriguez, N., 2022. Ladridos que salvan vidas: perros de alerta médica para personas con diabetes y epilepsia. [Documento electrónico]. *El Diario*. Disponible en https://www.eldiario.es/aragon/sociedad/ladridos-salvan-vidas-perros-alerta-medica-personas-diabetes-epilepsia_1_8663038.html [consultado el 15.03.22].

Rooney, N.J., Guest, C.M., Swanson, L.C.M., Morant, S.V., 2019. How effective are trained dogs at alerting their owners to changes in blood glycaemic levels?: Variations in performance of glycaemia alert dogs. *PLoS ONE* 14, e0210092. Disponible en <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210092>.

Saha, D., Mehta, D., Altan, E., Chandak, R., Traner, M., Lo, R., Gupta, P., Singamaneni, S., Chakrabarty, S., Raman, B., 2020. Explosive sensing with insect-based biorobots. *Biosensors and Bioelectronics: X* 6, 100050. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.biosx.2020.100050>.

Salazar, D., Uzquiano, M., Rivera, G., Velasco, E., 2020. Mecanismos de transmisión del SARS-CoV-2. *ACTA NOVA* 9, 773–792. Disponible en http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1683-07892020000200008.

Sánchez-Andrade, G., James, B.M., Kendrick, K.M., 2005. Neural Encoding of Olfactory Recognition Memory. *J. Reprod. Dev.* 51, 547–558. Disponible en <https://doi.org/10.1262/jrd.17031>.

Schoon, G.A.A., De Jonge, D., Hilverink, P., 2020. How dogs learn to detect colon cancer—Optimizing the use of training aids. *Journal of Veterinary Behavior* 35, 38–44. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.jveb.2019.10.006>.

Shi, J., Wen, Z., Zhong, G., Yang, H., Wang, C., Huang, B., Liu, R., He, X., Shuai, L., Sun, Z., Zhao, Y., Liu, P., Liang, L., Cui, P., Wang, J., Zhang, X., Guan, Y., Tan, W., Wu, G., Chen, H., Bu, Z., 2020. Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS–coronavirus 2. *Science* 368, 1016–1020. Disponible en <https://doi.org/10.1126/science.abb7015>.

Shirasu, M., Touhara, K., 2011. The scent of disease: volatile organic compounds of the human body related to disease and disorder. *Journal of Biochemistry* 150, 257–266. <https://doi.org/10.1093/jb/mvr090>.

Sidiq, Z., Hanif, M., Dwivedi, K.K., Chopra, K.K., 2020. Benefits and limitations of serological assays in COVID-19 infection. *Indian Journal of Tuberculosis* 67, S163–S166. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.ijtb.2020.07.034>.

Skegg, D., Gluckman, P., Boulton, G., Hackmann, H., Karim, S.S.A., Piot, P., Woopen, C., 2021. Future scenarios for the COVID-19 pandemic. *The Lancet* 397, 777–778. Disponible en [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00424-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00424-4).

Sonoda, H., Kohnoe, S., Yamazato, T., Satoh, Y., Morizono, G., Shikata, K., Morita, M., Watanabe, A., Morita, M., Kakeji, Y., Inoue, F., Maehara, Y., 2011. Colorectal cancer screening with odour material by canine scent detection. *Gut* 60, 814–819. Disponible en <https://doi.org/10.1136/gut.2010.218305>.

Storm, N., McKay, L.G.A., Downs, S.N., Johnson, R.I., Birru, D., De Samber, M., Willaert, W., Cennini, G., Griffiths, A., 2020. Rapid and complete inactivation of SARS-CoV-2 by ultraviolet-C irradiation. *Sci Rep* 10, 22421. Disponible en <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79600-8>.

Strauch, M., Lüdke, A., Münch, D., Laudes, T., Galizia, C.G., Martinelli, E., Lavra, L., Paolesse, R., Ulivieri, A., Catini, A., Capuano, R., Di Natale, C., 2014. More than apples and oranges - Detecting cancer with a fruit fly's antenna. *Sci Rep* 4, 3576. Disponible en <https://doi.org/10.1038/srep03576>.

Sugimoto, T., Okuda, Y., Shima, A., Sugiura, N., Kondo, N., Ishihara, G., Hirotsu, T., di Luccio, E., 2022. A new detection method for canine and feline cancer using the olfactory system of nematodes. *Biochemistry and Biophysics Reports* 32, 101332. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2022.101332>.

Suzanne Clothier. 2023. CARAT Ethology of the individual. [Documento electrónico]. Disponible en <https://suzanneclothier.com/carat/>. [consultado el 14.11.23].

Taverna, G., Tidu, L., Grizzi, F., Torri, V., Mandressi, A., Sardella, P., La Torre, G., Cocciolone, G., Seveso, M., Giusti, G., Hurle, R., Santoro, A., Graziotti, P., 2015. Olfactory System of Highly Trained Dogs Detects Prostate Cancer in Urine Samples. *Journal of Urology* 193, 1382–1387. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.juro.2014.09.099>.

Twele, F., ten Hagen, N.A., Meller, S., Schulz, C., Osterhaus, A., Jendryn, P., Ebberts, H., Pink, I., Drick, N., Welte, T., Schalke, E., Volk, H.A., 2022. Detection of Post-COVID-19 Patients Using Medical Scent Detection Dogs—A Pilot Study. *Frontiers in Medicine*. 9, 877259. Disponible en <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.877259>.

University of Helsinki, 2020. The Finnish COVID dogs' nose knows! [Documento electrónico]. Disponible en <https://www.helsinki.fi/en/news/healthier-world/finnish-covid-dogs-nose-knows>. [consultado el 16.11.21].

van der Waaij, E.H., Wilsson, E., Strandberg, E., 2008. Genetic analysis of results of a Swedish behavior test on German Shepherd Dogs and Labrador Retrievers. *Journal of Animal Science* 86, 2853–2861. Disponible en <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0616>.

Vesga, O., Agudelo, M., Valencia-Jaramillo, A.F., Mira-Montoya, A., Ossa-Ospina, F., Ocampo, E., Čiuoderis, K., Pérez, L., Cardona, A., Aguilar, Y., Agudelo, Y., Hernández-Ortiz, J.P., Osorio, J.E., 2021. Highly sensitive scent-detection of COVID-19 patients in vivo by trained dogs. *PLoS ONE* 16, e0257474. Disponible en <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0257474>.

Vila Muntadas, M., Agustí Sunyer, I., Agustí García-Navarro, A., 2021. Pruebas diagnósticas COVID-19: importancia del contexto clínico. *Medicina Clínica* 157, 185–190. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2021.03.007>.

von Dürckheim, K.E.M., Hoffman, L.C., Leslie, A., Hensman, M.C., Hensman, S., Schultz, K., Lee, S., 2018. African elephants (*Loxodonta africana*) display remarkable olfactory acuity in human scent matching to sample performance. *Applied Animal Behaviour Science* 200, 123–129. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2017.12.004>.

Wang, W., Xu, Y., Gao, R., Lu, R., Han, K., Wu, G., Tan, W., 2020. Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. *JAMA* 323, 1843–1844. Disponible en <https://doi.org/10.1001/jama.2020.3786>.

Wasilewski, T., Gębicki, J., Kamysz, W., 2021. Bio-inspired approaches for explosives detection. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 142, 116330. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.trac.2021.116330>.

Willis, C.M., Britton, L.E., Harris, R., Wallace, J., Guest, C.M., 2011. Volatile organic compounds as biomarkers of bladder cancer: Sensitivity and specificity using trained sniffer dogs. *CBM* 8, 145–153. Disponible en <https://doi.org/10.3233/CBM-2011-0208>.

Willis, C.M., Church, S.M., Guest, C.M., Cook, W.A., McCarthy, N., Bransbury, A.J., Church, M.R.T., Church, J.C.T., 2004. Olfactory detection of human bladder cancer by dogs: proof of principle study 329. Disponible en <https://www.bmj.com/content/329/7468/712.long>.

Wilson, C., Morant, S., Kane, S., Pesterfield, C., Guest, C., Rooney, N.J., 2019. An Owner-Independent Investigation of Diabetes Alert Dog Performance. *Front. Vet. Sci.* 6, 91. Disponible en <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00091>.

Zhang, R., Li, Y., Zhang, A.L., Wang, Y., Molina, M.J., 2020. Identifying airborne transmission as the dominant route for the spread of COVID-19. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 117, 14857–14863. Disponible en <https://doi.org/10.1073/pnas.2009637117>.

Zhou, M., Zhang, X., Qu, J., 2020. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): a clinical update. *Front. Med.* 14, 126–135. Disponible en <https://doi.org/10.1007/s11684-020-0767-8>.

Zhu, N., Zhang, D., Wang, W., Li, X., Yang, B., Song, J., Zhao, X., Huang, B., Shi, W., Lu, R., Niu, P., Zhan, F., Ma, X., Wang, D., Xu, W., Wu, G., Gao, G.F., Tan, W., 2020. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med* 382, 727–733. Disponible en <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001017>.