



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
HOSPITAL INFANTIL DEL ESTADO DE SONORA

**DETECCIÓN CANINA DE COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES LIBERADOS DURANTE CRISIS EPILÉPTICAS EN
PACIENTES DEL HOSPITAL INFANTIL DEL ESTADO DE SONORA**

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
ESPECIALIDAD EN PEDIATRÍA

PRESENTA:
DRA. ARIANNA PAOLA PEIRO SÁNCHEZ

DR. HÉCTOR MANUEL ESPARZA LEDEZMA
DIRECTOR DEL HOSPITAL INFANTIL DEL ESTADO DE
SONORA

DRA. ALBA ROCÍO BARRAZA LEÓN
DIRECTOR DE ENSEÑANZA, INVESTIGACIÓN Y
CALIDAD

DR. JAIME GABRIEL HURTADO VALENZUELA
PROFESOR TITULAR DE LA ESPECIALIDAD DE
PEDIATRÍA

DR. ALEJANDRO DURÁN DE LA RE
DIRECTOR DE TESIS

HERMOSILLO, SONORA

JUNIO 2024



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
HOSPITAL INFANTIL DEL ESTADO DE SONORA

**DETECCIÓN CANINA DE COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES LIBERADOS DURANTE CRISIS EPILÉPTICAS EN
PACIENTES DEL HOSPITAL INFANTIL DEL ESTADO DE SONORA**

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
ESPECIALIDAD EN PEDIATRÍA

PRESENTA:
DRA. ARIANNA PAOLA PEIRO SÁNCHEZ

HERMOSILLO, SONORA, MÉXICO

JUNIO 2024

AGRADECIMIENTOS

Externo un agradecimiento a todas y cada una de las personas que han sido parte de mi formación.

Agradezco especialmente a mis padres que siempre me han apoyado e impulsado a cumplir mis metas y sueños. Gracias por siempre creer en mí.

Agradezco a mis hermanos por su paciencia y apoyo.

Agradezco a mis maestros que han sido un pilar fundamental para mi crecimiento profesional.

Agradezco a todo el personal de esta institución por todas las enseñanzas profesionales y humanas.

Gracias a mis compañeros y amigos por su comprensión y apoyo en este camino.

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
MARCO TEÓRICO.....	3
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN.....	7
OBJETIVOS GENERALES Y ESPECÍFICOS.....	8
MATERIAL Y MÉTODOS.....	8
CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	9
CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.....	10
DEFINICIÓN DE VARIABLES.....	11
FUENTE DE DATOS Y PROCEDIMIENTOS DE RECOLECCIÓN.....	13
PLAN DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	16
CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	17
RESULTADOS.....	17
DISCUSIÓN.....	22
ANEXO.....	23
BIBLIOGRAFÍA.....	24

RESUMEN

Introducción: La epilepsia es una de las enfermedades neurológicas más comunes que afecta aproximadamente a 50 millones de personas en todo el mundo. Se ha demostrado que los perros entrenados en la detección de crisis convulsivas pueden anticipar la presencia de crisis en minutos e incluso horas antes de presentarse; con un rango de advertencia de una detección positiva de olor entre 6 a 177 minutos, con una duración promedio de 68.2 minutos. Predecir las crisis convulsivas antes de su manifestación clínica, representa gran ventaja para lograr establecer conductas terapéuticas tempranas y oportunas y así, modificar de manera favorable el curso de la enfermedad.

Objetivo: Demostrar la sensibilidad y especificidad de la detección de compuestos orgánicos volátiles que preceden las crisis convulsivas en pacientes con epilepsia del Hospital infantil del Estado de Sonora mediante perros de servicio entrenados.

Material y métodos: Se realizó un estudio analítico comparativo que incluyó a pacientes pediátricos de entre 6 meses a 17 años de edad que acudieron al servicio de Urgencias del Hospital Infantil del Estado de Sonora con una crisis epiléptica activa, en el periodo de mayo a diciembre del 2022 de los cuales se obtuvieron muestras de sudor, sangre y saliva. Para su posterior presentación a un can entrenado con el fin de lograr la discriminación de muestras de pacientes sanos y pacientes durante una crisis y determinar el número de aciertos y tiempo de detección.

Aspectos éticos: Este estudio cumple con los criterios establecido en la Declaración de Helsinki 1964 con última revisión de 2014, Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud.

Resultados: Se obtuvo un porcentaje mayor de detección en muestras de sangre, sin embargo el tiempo de detección fue menor en muestras de saliva. Al realizar pruebas con solamente muestras negativas, el can regresó con el entrenador en el 100% de las pruebas.

Palabras clave: epilepsia, perro de servicio, crisis convulsiva, compuestos orgánicos volátiles (VOC's), pediatría.

MARCO TEÓRICO

La epilepsia es el trastorno crónico del sistema nervioso central más común, según la Organización Mundial de la Salud, existen alrededor de 50 millones de personas con la enfermedad en el mundo, afectando a todos los grupos etarios con mayor incidencia en la población infantil.

En América Latina se comunica una tasa en este grupo etario de 6.6-17 por cada 1.000 personas, mientras que en México dicha estadística fluctúa entre 10.8 y 20/1.000; sin embargo, en Sonora, un estado al noroeste del país, no se conoce con precisión su prevalencia.[18]

Según la Liga Internacional contra la Epilepsia se define a la epilepsia como: al menos dos crisis no provocadas producidas con un intervalo mayor a 24 horas de separación; una crisis no provocada y una probabilidad de presentar nuevas crisis durante los 10 años siguientes similar al riesgo general de recurrencia (al menos el 60 % tras dos crisis no provocadas); diagnóstico de un síndrome epiléptico.

Algunos especialistas en epilepsia han escuchado anécdotas de sus pacientes diciendo que sus mascotas caninas muestran algún comportamiento premonitorio antes de que su dueño presente una convulsión.

La ILAE (International League Against Epilepsy) y Epilepsy Foundation of America, reconocen el uso de “Perros de Servicio” (Seizure Dogs), como herramientas para la detección de crisis convulsivas en pacientes epilépticos. En EEUU los perros pueden ser entrenados como perros de servicio que la ley protege para ser utilizados por su servicio en espacios públicos. Estos perros pueden ser entrenados para diversos servicios que incluyen la detección de las crisis, protección del paciente, alertar al

cuidador o activar una alarma.

Se ha demostrado que el cuerpo humano cambia la configuración de su olor durante el periodo de enfermedad, se ha utilizado esta información como un marcador para la detección de algunas enfermedades [1-3]. Los perros cuentan con la habilidad innata de detectar partículas a una concentración de 0.001 partes por millón (1×10^{-12}) [4].

La identificación de estos perfiles de olor específico para algunas enfermedades es posible por la discriminación de “Compuestos Orgánicos Volátiles” VOC’s por sus siglas en ingles. Los compuestos volátiles orgánicos son una clase de químicos a base de carbono con una alta presión de vapor a temperatura ambiente. Estos son liberados por medio del aliento, saliva y sudor. El sudor de las glándulas apocrinas se deriva del líquido extracelular, que a su vez es un reflejo de la química del plasma sanguíneo; es importante mencionar que el sudor es específicamente la fuente principal del olor de las axilas, y la liberación del mismo por parte de la glándula apocrina se desencadena por el miedo o la excitación sexual. Esta relación entre el sistema límbico y las redes epilépticas, que se encuentran relacionadas con frecuencia en la señalización autonómica puede ser responsable de los cambios premonitorios en la liberación apocrina que se observa durante una crisis convulsiva [15].

La proposición de la existencia de distintos VOC’S asociados a las convulsiones está respaldada por informes de cambios fisiológicos y actividad eléctrica excesiva en el cerebro que preceden a las convulsiones epilépticas [21]. Investigaciones anteriores indican que estos son activados por el sistema nervioso autónomo y el eje hipotalámico-pituitario-suprarrenal (HPS) y provocan aumento en la frecuencia cardíaca y respiratoria. Los VOC’s que se disuelven en la sangre y la saliva, se exhalan

como parte del proceso respiratorio o bien, se expulsan como emanaciones de sudor.

Con anterioridad, se ha demostrado que los VOC's son indicadores de una amplia variedad de enfermedades que incluyen la presencia de cánceres, cólera, fibrosis quística, diabetes, enfermedades cardíacas, hepáticas, preeclampsia, enfermedad renal así como tuberculosis y últimamente en pacientes epilépticos.

Dadas las extraordinarias capacidades olfativas de los perros, es lógico plantear la hipótesis de que los VOC's también pueden actuar como desencadenante de alteraciones en los comportamientos de los perros, y de esta manera ser identificados específicamente por los mismos.

Los compuestos que se encuentran en los perfiles de olor de pacientes epilépticos incluyen: mentona, metil-acetato, 3-etoxido-3,7-dimetil-1,6-octadieno, alcafor, valenceno, beta-cubeno y 4-terc-butilciclohexilo. No se sabe específicamente la función que realizan estas sustancias en el escenario clínico; pero se cree que pueden llegar a ser un biomarcador importante en la predicción de una crisis convulsiva.

En un estudio realizado por Catala y sus colaboradores en 2019, demuestran que es posible la detección de estos compuestos orgánicos volátiles, obtenidos de sudor y saliva de pacientes epilépticos durante crisis convulsivas, utilizando perros entrenados, encontrando en su estudio una sensibilidad del 86.8% y una especificidad del 98%, lo que demuestra una buena detección en esta enfermedad. También se comenta que actualmente se desconoce cuáles son los VOC's que se presentan durante una crisis convulsiva [5].

En otro estudio realizado en el Centro Médico de Salud y Epilepsia de Denver, Colorado por Edward Maa y colaboradores en el año de 2020, demostraron que, en

298 muestras de sudor de pacientes epilépticos, los perros entrenados tenían una probabilidad de 93.7% de distinguir entre muestras de sudor de pacientes que cursaban con crisis convulsivas con las de los pacientes del grupo control en las que se encontraban aparentemente sanos. En una segunda parte del estudio, los perros identificaron la presencia única de olor a convulsiones antes del evento en 78.7% de todas las convulsiones capturadas, con una probabilidad del 82.2% de predecir una crisis convulsiva [18].

Maa y colaboradores en el año de 2021 realizaron un estudio en donde se compararon muestras de sudor de sujetos que no tenían antecedente de epilepsia o convulsiones en dos entornos distintos, un episodio de miedo y otro de ejercicio y lo compararon con muestras de sudor de pacientes durante una crisis convulsiva y otros aromas como distractores en un paradigma de opción múltiple para comprender mejor la confiabilidad de las respuestas de los perros entrenados. Los perros lograron identificar el olor de muestras de sudor de los pacientes durante una crisis convulsiva con una sensibilidad de 82% y una especificidad de 100% (sin falsos positivos) de entre todas las opciones ofrecidas. Además, hubo un 92% de acuerdo entre todos los miembros del equipo de perros para detección de olores.

También los perros entrenados lograron identificar de manera consistente y precisa el sudor perfumado por miedo de igual manera como su aroma a convulsiones, lo que implica que la mentona, es un VOC común en ambas afecciones, lo cual podría implicar que además de presentarse en convulsiones humanas, los circuitos de la red de miedo pueden compartir una anatomía en común, además de que la mentona no solo estaría demostrada como un biomarcador de convulsiones tempranas, sino una

feromona humana de alarma recientemente descrita [14].

Se ha demostrado que estos perros entrenados en la detección de crisis convulsivas pueden anticipar la presencia de crisis en minutos e incluso horas antes de presentarse; de hecho, se ha comprobado que el rango de advertencia de una detección positiva de olor antes de una crisis convulsiva varía entre 6 a 177 minutos, con una duración promedio de 68.2 minutos [15].

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

La epilepsia es una de las enfermedades neurológicas más comunes que afecta aproximadamente a 50 millones de personas en todo el mundo. La incidencia de epilepsia es de 50,4 a 81,7 por cada 100 000 personas por año. [6] Alrededor de 125 000 pacientes mueren cada año, y más del 80% de estas muertes ocurren en países de bajos y medianos recursos.[7]

En una revisión sistemática de estudios internacionales se calcularon los costos directos del sistema de salud al año por paciente en países desarrollados los cuales fueron de 1,736 a 2,813 dólares (2,384 dólares en el primer año de diagnóstico) y de 5,848 dólares anuales en pacientes que consultan por cirugía de epilepsia; de los cuales, la mayor parte comprenden los fármacos antiepilépticos y servicios hospitalarios.[8]

La imprevisibilidad de las crisis epilépticas se considera una amenaza importante para la calidad de vida de una persona con epilepsia. Actualmente, no existen herramientas para la predicción de crisis convulsivas que se puedan aplicar en cuanto al entorno

doméstico. [9].

El Hospital Infantil del Estado de Sonora es una institución pública donde acuden pacientes sin servicio médico, siendo esta una población de mediano a bajo nivel socioeconómico. La disponibilidad de los fármacos anticomiciales de primera línea es baja y representa un alto costo tanto para el paciente y las instituciones de salud del sector público, en ocasiones imposible de solventar. Lograr identificar las crisis convulsivas previo a su manifestación clínica, representaría un gran avance para lograr establecer conductas terapéuticas tempranas y oportunas y así, modificar de manera favorable el curso de la enfermedad. Por ende, este protocolo crearía un antecedente de alto impacto para la toma de decisiones por parte de las autoridades correspondientes en materia de salud pública para dirigir un enfoque preventivo de esta entidad clínica, en la que se invierta en perros de servicio que se encuentren entrenados para la identificación de crisis convulsivas previo a su manifestación clínica.

OBJETIVOS

Objetivo general

- Sensibilizar a un perro de servicio a través de entrenamiento ARCON en CAMISO, utilizando muestras de sudor, saliva y plasma, obtenida de 10 pacientes pediátricos que ingresen a sala de Urgencias del Hospital Infantil del Estado de Sonora durante una crisis convulsiva para la detección de VOC's producidos durante las crisis convulsivas.

Objetivos específicos

- Describir la capacidad de un perro de servicio para identificar VOC's en muestras

de sudor, saliva y plasma obtenidas durante crisis convulsivas.

- Determinar la especificidad y la sensibilidad en la detección de VOC´s de los diferentes señuelos (plasma, saliva, sudor).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se trata de un estudio descriptivo, transversal, comparativo que incluyó a pacientes pediátricos de entre 6 meses a 17 años que acudieron al servicio de Urgencias del Hospital Infantil del Estado de Sonora con una crisis epiléptica activa a quienes se les tomó muestra de sudor, saliva y plasma obtenidas durante una crisis convulsiva. El periodo de estudio fue de mayo a diciembre del 2022.

Adicionalmente, se recolectó información de pacientes pediátricos de entre 6 meses a 17 años de edad clínicamente sanos, cuyos tutores responsables voluntariamente firmaron el consentimiento informado de participación en el estudio. (Anexo 1).

CRITERIOS DE SELECCIÓN

Criterios de inclusión

Se incluyeron a todos aquellos pacientes que presentaron un evento de crisis convulsivas mayor a 30 segundos de duración durante su estancia. Pacientes pediátricos de entre 6 meses a 17 años que fueron diagnosticados con epilepsia, de acuerdo a los criterios de la ILAE, 2014. Además se seleccionó a un grupo de pacientes pediátricos sin antecedente de crisis convulsivas previas.

Criterios de exclusión.

Se excluyeron a pacientes pediátricos que presentaron crisis convulsivas provocadas por fiebre, traumatismo craneoencefálico, infecciones de sistema nervioso central tumores, alteraciones metabólicas o hidroelectrolíticas. El protocolo de investigación fue revisado y aprobado por el Comité de Investigación y de Ética en Investigación del Hospital Infantil del Estado de Sonora.

DEFINICIÓN DE VARIABLES

Variable	Definición operacional	Escala de medición	Indicador
Edad	Número de años cumplidos a partir de la fecha de nacimiento a la fecha de estudio.	Cuantitativa continua	Años cumplidos
Sexo	Característica biológica del paciente	Cualitativa nominal dicotómica	Hombre o mujer
Crisis convulsiva	Aparición transitoria de signos y / o síntomas debido a una actividad neuronal excesiva o sincrónica en el cerebro	Cualitativa nominal dicotómica	Focal o generalizada
Epilepsia	<ol style="list-style-type: none"> 1. Aparición de dos crisis convulsivas no provocadas con más de 24 h de separación 2. Una crisis convulsiva no provocada con una probabilidad de presentar nuevas crisis durante los 10 años siguientes similar al riesgo general de 	Cualitativa continua	Presente o ausente

	<p>recurrencia tras la aparición de dos crisis no provocadas</p> <p>3. Diagnóstico de un síndrome de epilepsia</p>		
Perro de servicio	Perro que ha sido entrenado de forma individual para hacer trabajos o realizar tareas para una persona con una discapacidad o enfermedad específica.	Cualitativa continua.	Springer Spaniel de 10 meses.
Compuestos orgánicos volátiles	Químicos a base de carbono con una alta presión de vapor a temperatura ambiente. Son liberados por medio del aliento, saliva y sudor.	Cualitativa nominal dicotómica.	<p>1. Detección</p> <p>2. Sin detección.</p>
Señuelo	Pieza utilizada para adiestramiento del perro de servicio.	Cualitativa ordinal policotómica.	<p>1. Plasma</p> <p>2. Saliva</p> <p>3. Sudor</p>
Sensibilidad	Probabilidad de que el resultado de la prueba sea positiva si realmente tiene la enfermedad.	Cuantitativa continua.	Porcentaje.
Especificidad	Probabilidad de que los resultados de la prueba sean negativos si realmente no tiene la enfermedad.	Cuantitativa continua.	Porcentaje.

TIPO Y TAMAÑO DE MUESTRA

Para el presente estudio no fue calculado un tamaño de muestra. A través de un muestreo no probabilístico, consecutivo para el periodo de estudio, fueron incluidos los sujetos que cumplieron con los criterios de selección.

FUENTE DE DATOS Y PROCEDIMIENTOS DE RECOLECCIÓN

Método de entrenamiento canino

Previo a la identificación VOC's, el canino (Beto) de raza Springer Spaniel de 1 año de edad, fue adiestrado por dos entrenadores del Camiso Club, quienes cuentan con certificación en entrenamiento canino, biodetección y cursan con una larga trayectoria de adiestramiento a perros de uso policial para búsqueda y detección de cadáveres, canes de apoyo emocional y alerta médica. Según un estudio realizado por Kirton et al (2008), las razas que a lo largo de la historia han sido seleccionados por entrenadores y además han presentado comportamiento de alerta son Labrador Retriever, Poodle, Border Terrier y Cocker Spaniel. [21]. En el caso de la raza Springer Spaniel, según el American Kennel Club cuenta con características muy similares a Cocker Spaniel e históricamente han sido utilizados para búsqueda y cacería, motivo por el cual ha sido seleccionada esta raza por el entrenador.

La primera fase del entrenamiento inició el mes de mayo del 2022, la cual consistió en acondicionamiento físico, obediencia básica y entrenamiento en biodetección (muestras de pacientes durante crisis convulsivas) y de alerta médica con duración de dos semanas. Terminando la fase de entrenamiento, se presentó la primera muestra de sudor en un recipiente cilíndrico de acero inoxidable con tapa con orificios (RCAIT),

este se colocó en una base de cloruro de polivinilo (PVC) con tres espacios para RCAIT. El entrenador se colocó a un metro de distancia, frente al perro y brindó reforzamiento positivo llamado “trabajo de fijación” para mostrar el lugar de reconocimiento. Este procedimiento se llevó a cabo durante una semana. Posteriormente se inicia con el cambio de lugar del frasco para estimular la búsqueda, con el fin de obtener la permanencia del can frente a la muestra durante al menos 5 segundos, procedimiento que requirió una semana de duración. Posteriormente se agregó distancia y cambio de dirección, indicándole al perro el realizar búsqueda en la base contenedora de RCAIT con apoyo de dos entrenadores, uno de ellos realizando el cambio de frascos y motivación del can y el segundo sujeto realizando reforzamiento positivo con alimento. Proceso de una semana de duración. Después se agregó un RCAIT con muestra negativa, teniendo como objetivo la detección de la muestra positiva. Duración una semana. La siguiente semana se agregó un tercer frasco al proceso de búsqueda y se integraron nuevas muestras positivas. Posteriormente se realiza el mismo método con muestras de sangre inicialmente y a continuación con muestras de saliva.

En la siguiente fase se continuó la recolección de muestras de sudor, sangre y saliva durante crisis epilépticas en los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión correspondientes. La obtención de muestras de sangre se llevó a cabo mediante la punción venosa con aguja y jeringa del calibre correspondiente para cada paciente extrayendo 2-3 ml de sangre y añadiéndolos a un tubo rojo vacutainer BD de 6ml procediendo de manera inmediata a su centrifugación diferencial y refrigerando dicha muestra a 4°C. Las muestras de saliva, fueron obtenidas mediante la utilización de 3 hisopos previamente contenidos en bolsa sellada estéril, frotándolos en la mucosa de

ambas mejillas del paciente para posteriormente colocarlos en una bolsa contenedora con cierre. Las muestras de sudor se obtuvieron mediante el uso de torundas de algodón estériles frotando la región axilar durante 10 segundos con una de estas, para proceder a colocarla en una bolsa de plástico con cierre y refrigerar bajo las mismas condiciones. Todas las muestras fueron tomadas durante la crisis convulsiva y refrigeradas, contenidas en una bolsa grande de plástico con cierre y etiquetada con el nombre del paciente, fecha y hora de recabación, expediente y en la cual se señala si se trató de crisis convulsivas de primera vez. Las muestras obtenidas se enviaron a la brevedad al equipo de entrenadores conservando mismas medidas de refrigeración. Al no cumplir criterios de sustancias infecciosas categoría A o B según la Guía sobre la reglamentación relativa al transporte de sustancias infecciosas de la Organización Mundial de la Salud, las muestras se transportaron en triple embalaje el día de toma. En el centro de entrenamiento, las muestras fueron colocadas en un recipiente hermético de vidrio con tapa metálica, mismo que contenía previamente algodón dental estéril, procedimiento mediante el cual el mismo se impregnó de la muestra, siendo posible realizar múltiples pruebas con las muestras de un paciente.

Se obtuvieron en total muestras de plasma, saliva y sudor de 10 pacientes epilépticos durante crisis convulsivas con una edad promedio de 9 años (4 DE), 70% del sexo femenino y 30% masculino y muestras de 10 pacientes sanos de los mismos especímenes con edad promedio de 7.3 años (5.2 DE), 50% sexo femenino. Se diseñaron “señuelos” designados para su detección por el can de la siguiente manera: “Señuelo de plasma durante crisis convulsiva del paciente 1” (SPC1), “señuelo de saliva durante crisis convulsiva del paciente 1” (SSC1), “señuelo de sudor durante crisis convulsiva del paciente 1” (SSuC1), “Señuelo de plasma de voluntario 1” (SPV1),

“señuelo de saliva de voluntario 1” (SSV1), “señuelo de sudor de voluntario 1” (SSuV1). Se obtuvieron un total de 60 señuelos de plasma, saliva y sudor. La mitad de estos fueron de pacientes con crisis convulsivas activas y la otra mitad en reposo. Se registraron en una base de datos de Excel señalando nombre, edad, tipo de muestra, fecha de toma, diagnóstico y especificando si se trataba de paciente sano o con crisis epilépticas.

Se inicia con el cegamiento del entrenador, el cual se logra numerando las muestras en la base de datos de manera aleatoria y separándola de la base de datos de resultados. Un asistente de investigación se encargó de entregar 3 bolsas de muestra sin etiquetar al entrenador, quien las presentó al perro, se tomaron como positivas las muestras con las que Beto permaneció en posición alerta y de olfateo por más de 5 segundos y como negativas las muestras presentadas con las que decidió regresar con el entrenador al igual que las muestras en las que el tiempo de detección fue mayor de 25 segundos. Se registraron en la base de datos el número de muestra y la positividad o negatividad de esta, además del tiempo de detección, para posteriormente correlacionar con la base de datos con la información completa de cada muestra.

PLAN DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó estadística descriptiva para las variables cuantitativas utilizando números absolutos y relativos los cuales fueron procesados en Excel para la obtención de promedio de tiempo de detección de VOC's por parte del can en cada tipo de muestra. Se obtuvo a su vez desviación estándar y porcentaje de aciertos para su posterior comparación y análisis.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

Este protocolo se realizó apegado al Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud acorde a los principios estipulados en el Código de Helsinki en 1975, en el Informe de Bermont, el Código de Nuremberg de 1947 y el Código de Reglamentos Federales de Estados Unidos Mexicanos.

Los sujetos por estudiar y sus cuidadores primarios fueron previamente informados detalladamente sobre los riesgos y beneficios de su participación en el estudio, en algunos casos las muestras fueron tomadas en el área de urgencias como parte del abordaje de los pacientes y en ningún momento se interrumpió el manejo médico para priorizar la toma de estas. Se brindó el formato de consentimiento informado al familiar y al plasmar su aceptación, se incluyó al paciente en el estudio.

En todo momento se conservó la privacidad de cada sujeto y la información obtenida fue solamente de dominio del investigador y solo fue utilizada para fines de investigación con riesgo mínimo.

RESULTADOS

De las 42 muestras presentadas de saliva (13 muestras de paciente con epilepsia y 26 de pacientes sanos) se obtuvo un porcentaje de detección de 84.6% con un tiempo promedio de detección de 12.4 segundos y una desviación estándar de 6.6 (Cuadro 1).

De las 36 muestras presentadas de sudor (12 muestras de paciente con epilepsia y 24 de pacientes sanos) se obtuvo un porcentaje de detección de 83.3% con un tiempo

promedio de detección de 11 segundos. (Cuadro 2). De las 33 muestras presentadas de sangre (11 muestras de paciente con epilepsia y 22 de pacientes sanos) se obtuvo un porcentaje de detección de 90% con un tiempo promedio de 12.1 segundos. Se presentaron 33 muestras de sangre de pacientes sanos en grupos de 3, en las que el can regresó con el entrenador obteniendo un porcentaje de aciertos del 100% en un tiempo promedio de 13 segundos.

No fue posible continuar con la detección de muestras de pacientes sanos ya que dicho método causó confusión en el perro y por la posibilidad de alterar su entrenamiento al presentar solo muestras negativas.

Cuadro 1. Resultados de la evaluación de identificación de VOC's en muestra de saliva en niños con epilepsia.

Intento	Sujetos	Tiempo (s)	Resultado	
1	E1, S1, S2	19	0	
2	S2, S1, E1	29	1	
3	S3, E2, S4	12.6	1	
4	E3, S2, S4	10.8	1	
5	S5, S6, E5	30	0	
6	S6, E5, S7	18	1	
7	E6, S6, S4	10	1	
8	S2, E7, S8	10	1	
9	S7, S9, E8	7.3	1	
10	E9, S1, S5	6.0	1	
11	S3, E9, S4	7.5	1	
12	S4, S3, E10	7.0	1	
13	E10, S4, S1	12	1	
Promedio		12.4	Aciertos	84.6%
D.E.		6.6	Fallos	15.3%

S=sano; E=enfermo

Cuadro 2. Resultados de la evaluación de identificación de VOC's en muestras de sudor de niños con epilepsia

Intento	Sujetos	Tiempo (s)	Resultado	
1	E1, S1, S2	12	1	
2	S1, S2, E2	25	0	
3	S3, E3, S4	25	0	
4	E4, S4, S3	10	1	
5	S5, E4, S6	10	1	
6	S1, S7, E4	6	1	
7	S8, E5, S3	8	1	
8	E6, S5, S1	7	1	
9	E7, S9, S10	7	1	
10	S2, S1, E8	7	1	
11	E9, S1, S10	8	1	
12	S1, E10, S2	7	1	
	Promedio	11	Aciertos	83.3%
	D.E.	6.7	Fallos	16.7%

S=sano; E=enfermo

Cuadro 3. Resultados de la evaluación de identificación de VOC's en muestras de sangre de niños con epilepsia

Intento	Sujetos	Tiempo (s)	Resultado	
1	S1, E1, S2	7	1	
2	S1, S3, E2	7	1	
3	S4, E3, S5	4	1	
4	E4, S5, S6	4	1	
5	S7, E5, S8	12	1	
6	S1, S9, E6	31	0	
7	S1, E6, S9	15	1	
8	S2, E7, S9	25	1	
9	E8, S3, S6	13	1	
10	E9, S2, S7	9	1	
11	S2, S10, E10	7	1	
Promedio		12.1	Aciertos	90.0%
D.E.		8.6	Fallos	9.09%

S=sano; E=enfermo

DISCUSIÓN

Durante este estudio se observó que es posible que un perro entrenado con el método utilizado en CAMISO club es capaz de diferenciar muestras de sangre, sudor y saliva de un paciente con crisis epilépticas de un paciente sano en la mayoría de los casos. Según los resultados obtenidos, la diferencia de tiempo de detección y aciertos entre señuelos de sangre, sudor y saliva es mínima, por lo tanto no es posible determinar que los VOC's se encuentran en mayor concentración en alguna de estas. Encontramos como limitación el hecho de contar solamente con un can y enfrentarlo a la detección de múltiples aromas, lo cual pudiera entorpecer su entrenamiento. Idealmente los perros de alerta médica, a lo largo de los años han sido asignados a un solo paciente, es decir, personalizados. Lo anterior limita la cantidad de muestras que se pudiesen presentar a Beto para lograr que se trate de un estudio estadísticamente significativo.

Es claro que existe un compuesto detectable por el olfato canino en las muestras de sangre, sudor y saliva de un paciente durante una crisis epiléptica, lo cual nos invita a continuar la investigación en este ámbito y replicar el entrenamiento en otros perros para lograr un estudio con mayor impacto estadístico. De momento no ha sido realizado un estudio de esta índole en México, sin embargo, es necesario buscar nuevos y mejores métodos de detección y prevención de crisis en pacientes con epilepsia para mejorar la calidad de vida de estos y este trabajo brinda una apertura a este rubro.

ANEXO 1. Carta de consentimiento informado.



HOSPITAL INFANTIL DEL ESTADO DE SONORA
 "Dra. Luisa Ma. Godoy Olvera"
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD
CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO
(ADULTOS)

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN

Nombre del estudio:	Detección de compuestos orgánicos volátiles obtenidos durante crisis convulsivas, utilizando perros entrenados, en pacientes con epilepsia en el Hospital Infantil Del Estado de Sonora
Patrocinador externo (si aplica):	No aplica
Lugar y fecha:	Hermosillo, Sonora ____ de ____ de 20__
Número de registro:	
Justificación y objetivo del estudio:	Estudiar la detección de VOC's por perros entrenados en pacientes con crisis convulsivas brindaría la oportunidad de identificar las crisis convulsivas previo a su manifestación clínica, lo que representaría un gran avance para establecer conductas terapéuticas tempranas y oportunas y así modificar de manera favorable el curso de la enfermedad, además, de alto coste que genera el tratamiento de esta patología a nivel de Salud Pública. Como objetivo principal será el sensibilizar a "Beto" perro de servicio, a través de entrenamiento ARCON en CAMISO, utilizando muestras de sudor, saliva y plasma, obtenidas en 10 pacientes pediátricos que ingresen a la sala de Urgencias del Hospital Infantil del Estado de Sonora durante una crisis convulsiva para posteriormente detectar VOC's producidos durante las crisis convulsivas.
Procedimientos:	Se realizará la toma de muestras de sudor, saliva y plasma mediante hisopos, tubos rojos posteriormente centrifugados para que el perro de servicio pueda sensibilizarse y detectar los VOC's en dichas muestras.
Posibles riesgos y molestias:	Los posibles riesgos que conllevan puede ser la negación de los padres de los niños al quererse integrar a la investigación.
Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio:	Con los resultados obtenidos al aplicar este protocolo se demostrará que el perro de servicio es capaz de identificar VOC's en presencia de crisis convulsivas y por ende establecer conductas terapéuticas tempranas para así mejorar la calidad de vida relacionada a la salud en pacientes con crisis convulsivas además del gasto que conlleva una hospitalización.
Información sobre resultados y alternativas de tratamiento:	Se brindará la información clara y certera acerca de los resultados a los padres de los pacientes participantes de nuestra investigación.
Participación o retiro:	Participarán aquellos pacientes en los cuales los padres acepten firmar el consentimiento informado y cumplan con los criterios de inclusión establecidos. El retiro se dará de los pacientes en los cuales los padres no acepten firmar el consentimiento informado para su participación en nuestra investigación o bien, cuenten con alguna otra derecho-habiciencia.
Privacidad y confidencialidad:	Toda información obtenida será estrictamente de carácter privado y confidencial por parte del equipo de trabajo.
En caso de colección de material biológico (si aplica):	
<input type="checkbox"/>	No autoriza que se tome la muestra.
<input type="checkbox"/>	Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio.
<input type="checkbox"/>	Si autorizo que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros.
Disponibilidad de tratamiento médico en derechohabientes (si aplica):	Primer, segundo y tercer nivel
Beneficios al término del estudio:	Identificar las crisis convulsivas previo a su manifestación clínica, lo que representaría un gran avance para establecer conductas terapéuticas tempranas y oportunas y así modificar de manera favorable el curso de la enfermedad, además, de alto coste que genera el tratamiento de esta patología a nivel de Salud Pública
En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio podrá dirigirse a:	
Investigador Responsable:	Dr. Alejandro Durán De La Re, Neurólogo Pediatra del Hospital Infantil Del Estado de Sonora. Matrícula: _____ Tel. celular: 6621006807
Alumno investigador	R2P Rodolfo Enrique Rangel Ayon, HIES, Matrícula 11750522. Email: ruds_00@hotmail.com , Tel celular: 6221231664. R2P Luisa Fernanda Aguilar, HIES, Matrícula 12362331. Email: luisaaguilarperalta_@hotmail.com Tel. Celular: 6621500651 R1P Arianna Paola Peiro Sánchez, HIES, Matrícula 12522537. Email: ariannapaolapeiro@gmail.com Tel celular: 6622685079
En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a:	Comisión de Ética de Investigación del Hospital Infantil Del Estado de Sonora: Calle de la Reforma 355, Ley 57, 83100, Hermosillo, Sonora, México. Teléfono: 01 662 289 06 00.

Nombre y firma del sujeto

Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento

Testigo

Nombre, dirección, relación y firma

Testigo 2

Nombre, dirección, relación y firma

Este formato constituye una guía que deberá completarse de acuerdo con las características propias de cada protocolo de investigación, sin omitir información relevante del estudio

BIBLIOGRAFÍA

1. Dávila-Ávila NM, Delgado-De la Mora J, Candia-Plata MC, ÁlvarezHernández G. Calidad de vida relacionada con la salud en niños con epilepsia de un hospital mexicano. *Rev Neurol* 2014; 59: 63-70.
2. Walker, D. B. et al. Naturalistic quantification of canine olfactory sensitivity. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 97, 241–254 (2006).
3. Maa E, Arnold J, Ninedorf K, Olsen H. Canine detection of volatile organic compounds unique to human epileptic seizure. *Epilepsy Behav.* (2021) Feb;115:107690.
4. Buszewski, B., Keszy, M., Ligor, T. & Amann, A. Human exhaled air analytics: biomarkers of diseases. *Biomed. Chromatogr. BMC* 21, 553–566 (2007).
5. Catala, Grandgeorge, Shaff, Cousillas, Hausberger, Cattet. Dogs demonstrate the existence of an epileptic seizure odour in humans. *scientific reports / nature.* (2019).
6. Maa EH, Arnold J, Bush CK. Epilepsy and the smell of fear. *Epilepsy Behav.* 2021 Aug;121(Pt A):108078. doi: 10.1016/j.yebeh.2021.108078. Epub 2021 Jun
7. Legesse E, Nigussie T, Kebede Y, Aman M, Chaka M, Tilahun D. What is the community's knowledge and understanding regarding epilepsy? Epilepsy knowledge and its determinants among residents of Debu Bench District, Bench Sheko Zone, Southwest Ethiopia, (2019): a cross-sectional study. *BMJ*
8. Noriega-Morales G, Shkurovich-Bialik P. Situación de la epilepsia en México y América Latina. *An Med (Mex).* (2020); 65 (3): 224-232.

9. Martos Martinez-Caja A, De Herdt V, Boon P, Brandl U, Cock H, Parra J, Perucca E, Thadani V, Moons CPH. Seizure-alerting behavior in dogs owned by people experiencing seizures. *Epilepsy Behav.* (2019) May;94:104-111.
10. Falco-Walter J. Epilepsy-Definition, Classification, Pathophysiology, and Epidemiology. *Semin Neurol.* (2020) Dec;40(6):617-623.
11. Sehnert, S. S., Jiang, L., Burdick, J. F. & Risby, T. H. Breath biomarkers for detection of human liver diseases: preliminary study. *Biomarkers* 7, 174–187 (2002).
12. Olsson, M. J. et al. The Scent of Disease: Human Body Odor Contains an Early Chemosensory Cue of Sickness. *Psychol. Sci.* 25, 817–823 (2014).
13. Singh G, Sander JW. The global burden of epilepsy report: Implications for low- and middle-income countries. *Epilepsy Behav.* (2020)
14. GBD 2016 Epilepsy Collaborators. Global, regional, and national burden of epilepsy, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol.* (2019); 18 (4): 357-375.
15. Edwards TL, Browne CM, Schoon A, Cox C, Poling A. Animal olfactory detection of human diseases: Guidelines and systematic review. *J. Vet. Behav. Clin. Appl. Res.* (2017);20:59–73.
16. Jendryn P, Twele F, Meller S, Osterhaus ADME, Schalke E, Volk HA. Canine olfactory detection and its relevance to medical detection. *BMC Infect Dis.* (2021) Aug 19;21(1):838.

17. Martos Martinez-Caja A, De Herdt V, Boon P, Brandl U, Cock H, Parra J, Perucca E, Thadani V, Moons CPH. Seizure-alerting behavior in dogs owned by people experiencing seizures. *Epilepsy Behav.* (2019) May;94:104-111.
18. Jennum, Poul et al. "Long-term employment, education, and healthcare costs of childhood and adolescent onset of epilepsy." *Epilepsy & behavior : E&B* vol. 114,Pt A (2021): 107256.
19. Lippi G, Heaney LM. The "olfactory fingerprint": can diagnostics be improved by combining canine and digital noses? *Clin Chem Lab Med.* 2020 Jun 25;58(6):958-967.
20. Powell NA, Ruffell A, Arnott G. The Untrained Response of Pet Dogs to Human Epileptic Seizures. *Animals (Basel).* 2021 Jul 31;11(8):2267.
21. Kirton A, Winter A, Wirrell E, Snead OC. Seizure response dogs: evaluation of a formal training program.

Datos del alumno	
Autor	Arianna Paola Peiro Sánchez
Teléfono	66 23 63 85 18
Universidad	Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad	Medicina
Número de cuenta	522225677
Datos del director de tesis	Dr. Alejandro Durán de la Re
Datos de los asesores de tesis	
Datos de la tesis	
Título	Detección canina de compuestos orgánicos volátiles liberados durante crisis epilépticas en pacientes del Hospital Infantil del Estado de Sonora.
Palabras clave	Epilepsia, perro de servicio, crisis epiléptica, compuestos orgánicos volátiles (VOC's), pediatría.
Número de páginas	26

