



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA Y ANIMAL
LICENCIATURA EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**Manual de procedimientos del laboratorio de
análisis clínicos para el diagnóstico serológico
de las enfermedades de Parvovirus, Distemper
y Traqueobronquitis infecciosa canina causada
por *Bordetella bronchiseptica*.**

eMVZ Godínez Montoya Oscar David
2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA Y ANIMAL
LICENCIATURA EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

PROYECTO DE SERVICIO SOCIAL

Manual de procedimientos del laboratorio de análisis clínicos para el diagnóstico serológico de las enfermedades de Parvovirus, Distemper y Traqueobronquitis infecciosa canina causada por *Bordetella bronchiseptica*.

Prestador del Servicio Social:
Godínez Montoya Oscar David
Matrícula: 2172030403

ASESOR INTERNO:
Mtro. Isaac Conrado Gallardo Vargas
Adscripción: Departamento de Producción Agrícola y Animal
Correo electrónico: lgallargo@Correo.xoc.uam.mx

ASESOR INTERNO:
Mtra. Silvia Guadalupe Estrada Barrón
Adscripción: Departamento de producción agrícola y animal
Correo electrónico: Sestrada@correo.xoc.uam.mx

Lugar de realización: Policlínica Veterinaria Las Ánimas, Av. Aquiles Serdán S/N, Santiago Tulyehualco, Ciudad de México

Fecha de inicio y término: septiembre de 2022 al de abril de 2023

Tabla de contenido

Contenido

Introducción	6
Planteamiento del problema y justificación	7
Objetivos del manual	8
Objetivo general	8
Objetivos específicos	8
Marco jurídico	9
Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos.	9
Leyes	9
Reglamentos	9
Decretos	10
Acuerdos	10
Normas Oficiales Mexicanas	10
Normas canceladas que regulan los criterios de operación, las características y especificaciones para el funcionamiento de laboratorios, equipos y análisis en materia zoonosanitaria:	10
Normas vigentes que regulan aspectos del funcionamiento de laboratorios de análisis clínicos:	11
Marco teórico	13
Parvovirus	14
Transmisión y fisiopatología	14
Manifestaciones clínicas	15
Formas de presentación	15
Forma entérica	15
Forma cardíaca	15
Distemper	16
Signos	17
Alteraciones Clínico-patológicas	18
Traqueobronquitis infecciosa canina (<i>Bordetella bronchiseptica</i>)	18
Virus	18

Bacterias	19
Hongos	19
Transmisión	19
Patogenia	20
Manifestaciones clínicas y lesiones	20
Procedimientos	21
Fase pre-analítica	21
Propósito y alcance	21
Descripción de la solicitud	21
Identificación y preparación del paciente	22
Toma de muestra	22
Registro	27
Fase analítica	27
Parvovirus	27
Distemper	29
Traqueobronquitis infecciosa canina causada por <i>Bordetella bronchiseptica</i>	30
Fase pos-analítica	31
Validación de resultados	33
Bibliografía	33

Introducción

Las enfermedades virales y bacterianas son enfermedades muy graves que presentan una alta incidencia en caninos, especialmente en cachorros, estas presentan altas tasas de mortalidad (Rojas 2021). Algunas de estas enfermedades más comunes son: Distemper, Parvovirus y Traqueobronquitis infecciosa canina causada por *Bordetella bronchiseptica* (Aguilar, 2019; Buñay 2019; Gonzales, 2021). Una forma importante para la prevención y control de enfermedades infectocontagiosas en hospitales veterinarios debe ser el diagnóstico temprano, para evitar transmisiones nosocomiales (Rovira, 2020). A su vez la detección de estos agentes puede ayudar a evitar infecciones que puedan alcanzar proporciones epizooticas en entornos con una alta densidad poblacional (Gonzalez, 2021). Un diagnóstico apropiado para una enfermedad infecciosa debe tomar en cuenta tanto el agente y la enfermedad producida como las diferentes pruebas diagnósticas al alcance para su detección (Cortadellas, 2021). Actualmente una de las técnicas más comunes son las pruebas serológicas que se consideran las pruebas diagnósticas de referencia para dichas enfermedades (Martinez, 2018). Estas pruebas consisten en la detección de anticuerpos específicos contra agentes infecciosos y puede indicar la presencia de los microorganismos y de infecciones previas específicas (Cortadellas, 2021). Sin embargo los exámenes serológicos debido a su naturaleza pueden presentar serias desventajas, influenciadas por diversas variables y con esto complicar el diagnóstico (Martinez, 2018). Una de las causas más importantes de error en la recolección y procesamiento de la muestra es de origen humano, la mayoría de estos fallos pueden ser evitados de manera fácil ofreciendo capacitación al personal mediante recursos como manuales que instruyan y actualicen sobre la forma de realizar correctamente los procedimientos (San Miguel, 2017), lo cual requieren una planificación cuidadosa con un plan de muestreo y procesamiento basado en el conocimiento de las técnicas de laboratorio (Cork, 2019). Los manuales de procedimientos se constituyen como una herramienta que permite orientar al personal, sobre los correctos procedimientos que permitan asegurar la confiabilidad de los resultados (Cura, 2017). En consecuencia, este proyecto tiene como objetivo principal, presentar un manual de procedimientos de laboratorio para el diagnóstico serológico de tres enfermedades recurrentes en la clínica veterinaria, Distemper, Parvovirus y Traqueobronquitis infecciosa canina causada por *Bordetella bronchiseptica*. Que permita servir como una herramienta para la instrucción, control de calidad y como medida de bioseguridad. La implementación de este manual podrá minimizar los riesgos asociados a malas técnicas de procesamiento de muestras, favorecerá la uniformidad de las mismas técnicas y lograr la presentación de niveles adecuados de calidad en los resultados.

Planteamiento del problema y justificación

El desarrollo de las habilidades necesarias para el diagnóstico patológico clínico, así como el cumplimiento de las normas de bioseguridad y calidad, requieren de técnicas estandarizadas, para lo cual es necesario que exista un manual de procedimientos. Los manuales, no solo ofrecen soporte al personal para el aprendizaje y desarrollo de habilidades, sino que pueden ayudar a optimizar los recursos utilizados, mejorando también las técnicas que involucran al personal. Es fundamental que todos los procedimientos realizados en el área del laboratorio clínico sean realizados con base en un manual, cuyo fundamento no solo sea la recopilación de información, si no que brinde un enfoque global sobre los procedimientos y normas que los rigen. Al mismo tiempo estos manuales tienen que ser actualizados constantemente debido a los hallazgos y avances tecnológicos involucrados en cada una de las técnicas. Es por ello que todos los laboratorios clínicos deben contar con manuales que describan los procedimientos actualizados que aseguren la uniformidad en el proceso de análisis, evitando interferir en los resultados y con esto garantizando la confiabilidad de los resultados.

Por las razones anteriormente mencionadas y en la búsqueda de la excelencia y calidad de los diagnóstico patológico clínico, surge la necesidad de implementar y actualizar el manual de prácticas del laboratorio de análisis clínicos para el diagnóstico serológico de las enfermedades de Parvovirus, Distemper y Traqueobronquitis infecciosa canina causada por *Bordetella bronchiseptica*, en Policlínica veterinaria Tuyehualco.

Objetivos del manual

Objetivo general

Establecer las políticas y procedimientos para el diagnóstico serológico de las enfermedades de Parvovirus, Distemper y Traqueobronquitis infecciosa canina causada por *Bordetella bronchiseptica* en un manual de procedimientos, con la finalidad de ofrecer una guía en el ejercicio de las funciones del personal que integra el departamento de análisis clínicos de la policlínica veterinaria.

Objetivos específicos

Elaborar un marco de referencia de la normativa para la competencia y la calidad que son propios de los laboratorios clínicos

Identificar las técnicas utilizadas en la policlínica veterinaria para el diagnóstico de las enfermedades de Parvovirus, Distemper y Traqueobronquitis infecciosa canina causada por *Bordetella bronchiseptica*.

Definir las partes del procedimiento en cada una de las técnicas en sus fases preanalítica, analítica y postanalítica, tomando en cuenta el manejo de pacientes infectocontagiosos.

Ordenar los procedimientos técnicos de laboratorio de cada una de las pruebas diagnósticas de manera secuencial.

Marco jurídico

El funcionamiento del laboratorio de análisis clínicos veterinarios de la policlínica veterinaria las Ánimas, perteneciente a la Universidad Autónoma Metropolitana, Ubicado en la localidad de Tulyehualco, delegación Xochimilco en la Ciudad de México, se encuentra sustentado en el siguiente marco jurídico:

Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos.

D.O.F. 05-II-1917, última reforma publicada en el D.O.F. 28-V-2021, y las leyes que emanen de ella y todos los tratados que estén de acuerdo con la misma.

Leyes

Ley Federal de Procedimiento Administrativo

Ley Federal de Sanidad Animal

Ley de Ciencia y Tecnología. D.O.F. 05-VI-2002, última reforma publicada D.O.F. 06-XI-2020

Ley de Infraestructura de la Calidad. D.O.F. 01-VII-2020.

Ley General de Archivos. D.O.F. 15-VI-2018

Ley General de Educación. D.O.F. 30-IX-2019

Ley General de Protección de Datos Personales en Posesión de Sujetos Obligados. D.O.F. 26-I-2017

Ley General de Salud. D.O.F. 07-II-1984, última reforma publicada D.O.F. 01-VI-2021

Ley General de Educación Superior. D.O.F. 20-IV-2021

Reglamentos

Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios. D.O.F. 09-VIII-1999, última reforma publicada D.O.F. 12-II-2016.

Reglamento de Insumos para la Salud. D.O.F. 04-II-1998, última reforma publicada D.O.F. 31-V-2021.

Reglamento de la Ley Federal de Sanidad Animal. D.O.F. 21-V-2012.

Reglamento de la Ley Federal Sobre Metrología y Normalización. D.O.F. 14-I-1999, última reforma publicada D.O.F. 28-XI-2012.

Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Prestación de Servicios de Atención Médica. D.O.F. 14-V-1986, última reforma publicada D.O.F. 17-VII-2018.

Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Protección Social en Salud. D.O.F. 05-IV-2004, última reforma publicada D.O.F. 17-XII-2014.

Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Sanidad Internacional. D.O.F. 18-II-1985, última reforma F. de E. 10-VII-1985.

Reglamento de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente en Materia de Evaluación del Impacto Ambiental. D.O.F. 30-V-2000, última reforma publicada D.O.F. 31-X-2014.

Reglamento de Procedimientos para la Atención de Quejas Médicas y Gestión Pericial de la Comisión Nacional de Arbitraje Médico. D.O.F. 21-I-2003, última reforma publicada D.O.F. 08-VIII-2018.

Reglamento Interior de la Secretaría de Salud. D.O.F. 19-I-2004, última reforma D.O.F. 07-II-2018.

Reglamento de Seguridad, Higiene y Medio Ambiente en el Trabajo del Sector Público Federal. D.O.F. 29-XI-2006.

Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud. D.O.F. 06-I-1987, última reforma D.O.F. 02-IV-2014.

Decretos

Decreto por el que se crea la Comisión Nacional de Bioética como un órgano desconcentrado de la Secretaría de Salud. D.O.F. 07-IX-2005.

DECRETO por el que se reforman diversas disposiciones del diverso por el que se crea el órgano desconcentrado denominado Comisión Nacional de Bioética, publicado el 7 de septiembre de 2005. D.O.F. 16-II-2017.

Acuerdos

Acuerdo por el que se clasifican productos farmacéuticos veterinarios por el nivel de riesgo de sus ingredientes activos.

Normas Oficiales Mexicanas

Normas canceladas que regulan los criterios de operación, las características y especificaciones para el funcionamiento de laboratorios, equipos y análisis en materia zoonosanitaria:

NOM-003-ZOO-1994

Criterios para la operación de laboratorios de pruebas aprobados en materia zoonosanitaria, publicada el 28 de abril de 1994.

NOM-029-ZOO-1995

Características y especificaciones para las instalaciones y equipo de laboratorio de pruebas y/o análisis en materia zoonosanitaria, publicada el 14 de febrero de 1996.

Normas vigentes que regulan aspectos del funcionamiento de laboratorios de análisis clínicos:

NOM-056-ZOO-1995

Especificaciones técnicas para las pruebas diagnósticas que realicen los laboratorios de pruebas aprobados en materia zoosanitaria.

NOM-CC-1-1992

Sistema de Calidad. Vocabulario.

NOM-CC-13-1992

Criterios Generales para la Operación de los Laboratorios de Pruebas.

NOM-CC-14-1992

Criterios Generales para la Evaluación de Laboratorios de Pruebas.

NOM-CC-15-1992

Criterios Generales Referentes a los Organismos de Acreditamiento de Laboratorios.

NOM-Z-109-1992

Términos Generales y sus Definiciones Referentes a la Normalización y Actividades Conexas.

NOM-CRP-001-ECOL/1993

Que establece las características de los residuos peligrosos, el listado de los mismos y los límites que hacen a un residuo peligroso por su toxicidad al ambiente.

NOM-CCA-031-ECOL/1993

Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales provenientes de la industria, actividades agroindustriales, de servicios y el tratamiento de aguas residuales a los sistemas de drenaje y alcantarillado urbano o municipal.

NOM-001-STPS-1993

Relativa a las condiciones de seguridad e higiene en los edificios, locales, instalaciones y áreas de los centros de trabajo.

NOM-005-STPS-1993

Relativa a las condiciones de seguridad en los centros de trabajo, para el almacenamiento, transporte y manejo de sustancias inflamables y combustibles.

NOM-018-STPS-1993

Relativa a los requerimientos y características de los servicios de regaderas, vestidores y casilleros en los centros de trabajo.

NOM-025-STPS-1993

Relativa a los niveles y condiciones de iluminación que deben tener los centros de trabajo.

NOM-028-STPS-1994

Seguridad del código de colores para líquidos y gases.

NOM-003-ZOO-1994

Criterios para la operación de laboratorios de pruebas aprobados en materia zoonosanitaria.

NOM-012-ZOO-1993

Especificaciones para la regulación de productos químicos, farmacéuticos, biológicos y alimenticios para uso en animales o consumo por éstos.

NOM-008-SCFI-1993

Norma Oficial Mexicana Sistema General de Unidades de Medida.

NOM-040-SSA2-2004: En Materia de Información en Salud.

NOM-012-STPS-1999, Condiciones de seguridad e higiene en los centros de trabajo donde se produzcan, usen, manejen, almacenen o transporten fuentes de radiaciones ionizantes.

PROY-NOM-064-SCT3-2021, Que establece las especificaciones del Sistema de Gestión de Seguridad Operacional (SMS: Safety Management System).

NOM-087-ECOL-1995, Que establece los requisitos para la separación, envasado, almacenamiento, recolección, transporte, tratamiento y disposición final de los residuos peligrosos biológico-infecciosos que se generan en establecimientos que presten atención médica.

Marco teórico

Los establecimientos que están dedicados al diagnóstico patológico clínico, tienen que cumplir con unos criterios de calidad en sus procesos para poder brindar servicios con niveles de riesgo sanitario bajo (Rumie, 2018). Es indispensable el diseño y uso de manuales de procedimientos para cada una de las actividades realizadas en el laboratorio clínico (Rumie, 2018), por definición un manual es una recopilación en formato de texto, cuya función es reunir en forma detallada las instrucciones que deben seguirse para llevar a cabo una determinada actividad de manera sencilla con el objetivo de que el lector pueda entenderlo y desarrollar adecuadamente las labores correspondientes, evitando cometer errores (Samayoa, 2017). Un manual, es una serie de actividades relacionadas entre sí y ordenada cronológicamente, que muestran una forma definida en la que deben realizarse los procesos (UNAM, 2014), a su vez, un proceso es el conjunto de actividades o pasos necesarios, interrelacionadas entre sí que, a partir de una o varias entradas de materiales o información, dan a lugar a una o varias salidas también de materiales o información con valor añadido (Samayoa, 2017), es por ello que un manual de procedimientos es el documento que contiene la descripción de actividades que permite la organización integral de una serie de acciones encaminadas a agilizar el trabajo y mejorar la calidad del servicio (Samayoa, 2011), cuyas principales funciones son el establecimiento de un sistema de información o la renovación del mismo, el adiestramiento o capacitación del personal, la unificación y control de los procesos y la reducción de la alteración arbitraria de los mismos, el conocimiento del funcionamiento interno, el análisis y revisión de los procedimientos, identificación de fallos y responsabilidades, incremento de la eficiencia y la reducción de riesgos (Samayoa, 2017).

Las enfermedades infectocontagiosas en caninos son de las patologías con mayor incidencia en hospitales veterinarios, refugios, perreras y en lugares donde exista una población elevada de perros (Rojas, 2021). Algunas de las patologías infecciosas más comunes en perros son causadas por agentes virales, bacterianos, parásitos o la combinación de algunos de estos (Zubiria, 2020). Estas patologías que están inducidas por agentes infecciosos son diagnosticadas de manera presuntiva a través de la obtención de información recolectada de la reseña, anamnesis y el examen físico general de los pacientes, sin embargo el diagnóstico definitivo debe ser obtenido de pruebas de laboratorio específicas, para seleccionar los métodos terapéuticos adecuados y así maximizar la respuesta a estos además de incrementar el control sobre estas enfermedades (Zuñiga, 2021). En los hospitales veterinarios es de suma importancia la implementación de medidas que reduzcan los riesgos de bioseguridad por pacientes con patologías infectocontagiosas, debido a la alta

probabilidad de contagio nosocomial, que podría tener repercusiones en la salud de otros individuos así como repercusiones legales para los establecimientos (Rojas, 2021).

Parvovirus

La parvovirus se trata de una enfermedad vírica mortal que afecta principalmente a los cachorros, especialmente a los que carecen de inmunidad materna, así como a los perros adultos no vacunados, con más del 85 % de perros afectados menores de un año y una tasa de mortalidad que oscila entre el 16 y el 48 % (Durán, 2016; Fernández, 2012). Es ocasionada por los virus del género Parvovirus, de las cuales existen 3 cepas (PVC-2a, PVC-2b y PVC-2c), varía de 18 a 26 nm de diámetro. No tienen envoltura, tienen simetría icosaédrica y además el genoma consiste en ADN monocatenario lineal sin envoltura de lipoproteínas (Brusa, 2014; Quinn et al., 2008). Esta familia de virus es altamente resistente al medio ambiente, ya que son resistentes a temperaturas de hasta 60°C y valores de pH de 3-9, así como resistencia a sustancias como el cloroformo y el éter (Stanchi, 2010). Este virus puede transmitirse a través de las heces y fluidos corporales de los perros, y es altamente resistente al ambiente, por lo que la exposición al ambiente también puede ser fuente de infección (Aguilar, 2019). Su replicación es limitada por su tamaño de 5000 nucleótidos lo que requiere una división celular completa o la presencia de adenovirus para completar la replicación (Stanchi, 2010).

Transmisión y fisiopatología

El virus es altamente contagioso principalmente por vía fecal-oral (Coté, 2010). Ingresa al huésped a través de la cavidad oral y se propaga al medio ambiente a través de los excrementos, y su replicación requiere células con altas tasas de replicación, como el epitelio intestinal, el tejido linfoide y la médula ósea. (Brusa, 2014). De esta manera se replica en las células linfoides de la orofaringe, los ganglios linfáticos mesentéricos y el timo, y después de 3 a 5 días se disemina por vía hematogena a las células de las criptas del intestino delgado y a las células epiteliales de la cavidad oral, la lengua y el esófago (Ettinger y Feldman, 2007). Esta multiplicación del virus en el epitelio germinal de las criptas intestinales conduce a su destrucción, pérdida de absorbencia y hemorragia, y como consecuencia la necrosis de las células de las criptas afectadas provoca el colapso de las vellosidades y la pérdida de la integridad del epitelio intestinal y la disminución de la asimilación debido a alteraciones de la mucosa, que se manifiesta como diarrea sanguinolenta que conduce a la pérdida de iones, proteínas y líquidos que conducen a la deshidratación y posible shock hipovolémico (García, 2007). La excreción fecal comienza 4-5 días después de la exposición, continua durante 7-10 días y finaliza el día 14 después de la exposición (Coté, 2010). El deterioro de la barrera epitelial intestinal debido a la destrucción de las células epiteliales de las criptas intestinales, puede provocar la translocación de bacterias y endotoxinas causando bacteriemia sistémica, coagulación intravascular diseminada y muerte, agotamiento de linfocitos y neutropenia, hipoglucemia, hipopotasemia, deshidratación y sepsis (Ettinger y Feldman, 2007; Cote, 2010). Los animales dados de alta tienen un bajo riesgo de transmisión a otros perros a través de la defecación (durante 3 semanas), pero un alto riesgo de transmisión a través de

la contaminación fecal del pelaje o las heces y el vómito producido en el hogar antes de la hospitalización.

Manifestaciones clínicas

Cuadro sobreagudo:

Presente en cachorros de 4 a 12 semanas de edad. Se caracteriza por disnea, quejidos, vómitos inútiles y muerte en minutos u horas, también conocido como síndrome miocárdico. Los cachorros que sobreviven a esta condición desarrollan electrocardiogramas anormales, congestión cardíaca y edema pulmonar (Durán, 2016).

Cuadro subagudo:

“La diarrea menor responde bien al tratamiento y el animal se mantiene sano como portador de la enfermedad sin hipertermia” (Aguilar, 2019).

Cuadro agudo:

Se manifiesta como vómitos intensos y explosivos, anorexia, putrefacción y diarrea, que inicialmente es blanda o amarillenta y luego contiene cantidades variables de sangre. Esta foto provocó una rápida deshidratación que afectó gravemente a los cachorros (Durán, 2016).

Formas de presentación

Hay dos manifestaciones en cachorros: intestinal y cardíaca. Este último ha ido desapareciendo porque afecta a cachorros muy jóvenes que ahora están protegidos por anticuerpos maternos porque la perra está vacunada, o tiene enfermedad clínica o subclínica (Feijoó y Gómez, 2012).

Forma entérica

La infección intestinal puede presentarse discretamente hasta llegar a una enfermedad aguda con anorexia, hipertermia, vómitos, diarrea, dolor abdominal intenso, deshidratación y shock hipovolémico. La temperatura corporal puede aumentar primero (entre 40-41°C), luego normalizarse o llegar a la hipotermia. Los vómitos eran intensos, seguidos de diarrea, inicialmente cetrina y luego sanguinolenta, o francamente sanguinolenta y maloliente. La muerte generalmente ocurre dentro de los 2 días posteriores al inicio de los síntomas por shock hipovolémico o endotóxico (Aguilar, 2019).

Forma cardíaca

Al aparecer en cachorros jóvenes, especialmente en el período neonatal temprano, la infección conduce a necrosis miocárdica con insuficiencia cardiorrespiratoria aguda o cicatrización miocárdica e insuficiencia cardíaca progresiva (Kahn, 2007).

La enfermedad por parvovirus neonatal puede presentar un curso hiperagudo que termina en muerte súbita, con síntomas clínicos de vocalizaciones, arcadas, disnea y muerte súbita. Un

raro proceso de miocarditis linfoplasmocítica multifocal con degeneración, necrosis e inclusiones nucleares que ocurre antes de las 8 semanas de vida, probablemente debido a una infección intrauterina o en recién nacidos de madres no inmunizadas. (Ruiz de Gopegui, 2016).

Distemper

Es una enfermedad infecciosa de origen viral que afecta a los cánidos y se caracteriza por fiebre, leucopenia, gripe respiratoria y gastrointestinal, con frecuentes complicaciones neurológicas (Figueroa, 1984). El moquillo canino es una enfermedad infecciosa altamente contagiosa. En perros no vacunados, la infección por el virus del moquillo canino resulta en una severa inmunosupresión y enfermedad multisistémica, culminando a menudo en la transmisión viral a través del sistema nervioso central (Ruiz de Gopegui, 2006). (Pinotti et al., 2016) afirman que la enfermedad puede presentarse en dos etapas: en la primera etapa se afectan los sistemas respiratorio, digestivo y cutáneo; en la segunda etapa neurológica hay fuertes manifestaciones que provocan lesiones muy graves. El virus que causa el moquillo canino pertenece al género *Morbillivirus*, orden *Mononegavirales*, *Paramyxoviridae*, y está relacionado con otros virus del sarampión como el virus de la peste bovina, la peste de los pequeños rumiantes (Peste bovina) y el virus del sarampión humano (Gallegos, 2018). El virus del moquillo canino está compuesto por diferentes proteínas, en su superficie dos proteínas son las encargadas de la respuesta inmune protectora, la hemaglutinina (h) es la responsable de la unión del virus a los receptores celulares y la proteína de fusión (f) es la responsable del virus entrada La célula huésped, también tiene proteínas internas, a saber, la nucleocápside, la transcriptasa, la polimerasa y la matriz (Blanco, Doménech, Orden, Domínguez, Miró, Cutuli y Simarro, 2013). El virus puede permanecer activo en un rango de pH de 4,5 a 9, y que el clima frío ayuda al virus a sobrevivir, por lo que se sabe que dura más de siete años a -65 °C. El virus del moquillo canino es sensible a las altas temperaturas y puede destruirse por encima de los 50 °C; también es muy sensible a diversos desinfectantes como el amoníaco, el cloroformo o el formaldehído, que son los más utilizados en laboratorios o clínicas para destruirlo (Gallegos, 2018).

El virus del moquillo canino se transmite por aerosoles, fluidos corporales (p. ej., secreciones nasales) de animales infectados, contacto con animales infectados o fómites (Briones, 1990). La infección ocurre cuando el virus ingresa por las vías respiratorias y posteriormente se multiplica en las amígdalas y nódulos bronquiales, luego se une a células defensivas como macrófagos y monocitos en diferentes órganos del cuerpo, provocando la respuesta de defensa del organismo. El organismo afectado, mientras trata de eliminar el virus, en algunos casos desarrolla un aumento de anticuerpos, lo que no produce síntomas, mientras que en otros animales, los niveles de anticuerpos son más bajos, lo que indica síntomas graves (Bran Koe et al., 2013). Al igual que otros virus envueltos, el CDV se inactiva rápidamente en el medio ambiente, por lo que la infección generalmente requiere contacto directo. El inicio es estacional, refiriéndose la infección en época fría, siendo más adecuado que la temperatura sea inferior a 4°C. La susceptibilidad de los cachorros es más alta entre los 3 y los 6 meses de edad, que coincide con el período en que la inmunidad pasiva declina para adquirir la

inmunidad vacunal. Se considera que los animales enfermos pueden comenzar a eliminar el virus a partir de los 7 días posteriores a la infección (período de latencia), y se estima que el período máximo de excreción del virus es de 90 días. La eliminación comienza cuando la replicación viral alcanza las células epiteliales (Ruiz de Gopegui, 2016).

Signos

Síntomas diversos según la virulencia de la infección, el entorno, la edad y el sistema inmunitario, resultando en pérdida de peso, disminución de la condición física, elevación de la temperatura corporal seguida de un período de hipotermia, deposiciones acuosas, regurgitación, secreción nasal y verdosa. Los ojos, infección respiratoria que conduce a la tos hasta que en la etapa final se afecta el sistema nervioso dando lugar a convulsiones y finalmente a la muerte de los animales afectados (Ferreira, 2013).

Signos clínicos sistémicos

Gómez y Feijoó (2012) afirmaron: La enfermedad es el resultado de la interacción de la acción viral y la infección bacteriana oportunista. Así, los síntomas clínicos dependen del tropismo y virulencia de la cepa en cuestión, las condiciones ambientales, la edad y el estado inmunológico del huésped. Inicialmente, hay signos inespecíficos como apatía, anorexia, hipertermia y compromiso del tracto respiratorio superior. Posteriormente se desarrolla un exudado oculonasal seroso bilateral, que con el tiempo se vuelve mucopurulento, acompañado de tos (reflejo tusígeno positivo), y en casos complicados, disnea.

Signos clínicos neurológicos

Gómez y Feijoó (2012) confirmaron que los síntomas neurológicos no se pueden predecir ni evitar porque generalmente depende de la neutropenia de la cepa del virus y del nivel inmunológico del animal. En este escenario, los síntomas agudos y severos se desarrollan en pacientes jóvenes, inmunosuprimidos o altamente parasitados. La rigidez cervical y la hiperestesia pueden deberse a irritación meníngea, convulsiones, signos cerebelosos y vestibulares, paresia, tetraparesia, ataxia y mioclonías. Las principales manifestaciones clínicas a nivel neurológico observadas en animales afectados por moquillo son: dificultades propioceptivas, parálisis parcial, problemas visuales, dificultad en la coordinación motora, depresión y convulsiones (Muñoz, Morgaz y Galán, 2015). Muñoz y colaboradores (2015) declararon que los síntomas neurológicos pueden aparecer de 1 a 3 semanas después de la resolución de los síntomas sistémicos y pueden ocurrir semanas o meses después. El mioclonos generalizado o focal es un signo común y es altamente indicativo de infección por MCV.

Signos dérmicos

El virus que causa el moquillo canino afecta el sistema inmunológico haciendo que este se deprima creando así heridas en la epidermis, como pérdida de pelo en la zona afectada, hiperqueratosis y descamación de las almohadillas nasales, este síntoma es muy importante

porque es Las características de la enfermedad nos pueden ayudar a realizar un mejor diagnóstico (Machicote, 2012).

Signos oculares

Las lesiones oculares más graves provocadas por el moquillo son la neuritis óptica y el desprendimiento de retina; en algunos casos, ceguera y retinopatía caracterizada por necrosis de densidad irregular gris o rosada y, en casos muy graves, ampollas sexuales o desprendimiento completo de retina. También hay pacientes con úlceras corneales debido a cambios en la inervación de la glándula lagrimal, lo que resulta en una disminución o desaparición repentina de la secreción lagrimal. (Gómez y Feijoo, 2012).

Alteraciones Clínico-patológicas

Los cambios clínico-patológicos más comunes fueron: linfopenia y trombocitopenia. Otros cambios se asocian con infecciones bacterianas secundarias (leucocitosis, neutrofilia) e incluso sepsis. Ocasionalmente, se detectaron cuerpos de inclusión virales en el citoplasma de los leucocitos circulantes. En perros con síntomas respiratorios se puede observar el patrón radiográfico intersticial típico de la neumonía viral, en ocasiones complicada con neumonía bacteriana (Agut *et al.*, 2016).

*Traqueobronquitis infecciosa canina (**Bordetella bronchiseptica**)*

La traqueobronquitis infecciosa canina “tos de las perreras” es una enfermedad aguda altamente contagiosa de las vías respiratorias, producida por uno o más agentes infecciosos (Ford, 2008), entre ellos el adenovirus canino 2 (CAV-2), el virus de la parainfluenza (PIV), *Bordetella bronchiseptica* y otros patógenos también pueden estar involucrados como patógenos secundarios (Nelson y Couto, 2002).

Virus

Durante muchos años, se ha informado que CPiV-2 es el virus más común aislado del tracto respiratorio de perros con traqueobronquitis infecciosa, con una distribución mundial distinta, un virus de ARN monocatenario que pertenece a la familia de los paramixovirus, la infección generalmente produce una tos limitada y de corta duración con mínimos efectos sistémicos (Ford, 2008), y a su vez, se detectó adenovirus tipo 2 (AVC-2) en perros con síndrome respiratorio canino (CRC), especialmente aislado en cachorros con enfermedad respiratoria canina (Damián, Morales, Salas, & Trigo, 2005), pertenece al género Mammoryvirus de la familia Adenoviridae (Chvala *et al.*, 2007). Por otro lado, los brotes del virus del moquillo canino, generalmente caracterizados por síntomas respiratorios más severos acompañados de síntomas gastrointestinales y neurológicos, ocurrieron con mayor frecuencia y ocurrieron en áreas vacunadas con menor frecuencia (Beineke, Puff, Seehusen y Baumgartner, 2009). actúa en sinergia con CPiV-2 y *B. bronchiseptica*, no se considera que sea el principal agente causante de la traqueobronquitis infecciosa canina (TIC) (Ford, 2008). Otros virus, como el herpesvirus canino y el reovirus-1, -2 y -3, se han aislado ocasionalmente de perros que

tosen. Sin embargo, ninguno de estos virus se considera una causa importante del síndrome clínico de traqueobronquitis infecciosa (Ford, 2008).

Bacterias

Bordetella bronchiseptica es una bacteria cocoide aeróbica gram-negativa que se adapta particularmente bien para colonizar el epitelio ciliado de las vías respiratorias de perros y gatos (Ford, 2008). Es un patógeno común del tracto respiratorio superior de ciertos mamíferos. El rango de huéspedes de *B. bronchiseptica* incluye cerdos, gatos, animales de experimentación y humanos (Mendoza, 2008). El nombre del género *Bordetella* se deriva de su descubridor, Jules Bordet, quien aisló por primera vez estas bacterias de individuos humanos afectados por la tos ferina (Vadillo *et al.*, 2002). La bacteria produce una proteína que hace que los cilios se detengan, lo que afecta los mecanismos de defensa normales del sistema respiratorio y puede persistir en las vías respiratorias de un perro hasta por 3 meses o más. Esto es relevante porque *B. bronchiseptica* es un 'potenciador' de la enfermedad, favoreciendo el establecimiento de bacterias oportunistas (Mauro, 2006). Se han recuperado otras bacterias *Streptococcus*, *Pasteurella*, *Pseudomonas* y varios coliformes de las vías respiratorias de perros con TIC.

Aunque estas bacterias se consideran invasores oportunistas, las infecciones bacterianas secundarias son responsables de complicaciones graves y potencialmente mortales (neumonía y sepsis) en pacientes con TIC. *Streptococcus equi* subespecie *zooepidemicus* se ha asociado con una mayor gravedad de la traqueobronquitis infecciosa canina (TIC) en perros enjaulados con enfermedades respiratorias, también se considera un agente causal importante de la neumonía canina. Los micoplasmas son microorganismos procarióticos duros que están encerrados en una membrana plasmática pero carecen de pared celular. Sin embargo, *Mycoplasma*, *Biliplasma* y *Ureaplasma urealyticum* no clasificados se recuperan comúnmente en muestras recolectadas de la mucosa nasofaríngea y laríngea de perros y gatos sanos. La presencia de micoplasma en muestras tomadas del tracto respiratorio inferior de perros (particularmente *M. cynos*) y gatos (*M. felis*) a menudo se asocia con neumonía (Ford, 2008). Se ha detectado micoplasma en el 25% de los perros sanos y en el 34% de los perros con síntomas de TIC (Mauro, 2006).

Hongos

Por otro lado, también se han reportado hongos como *Aspergillus fumigatus*, un hongo oportunista e importante principalmente en aves, sin embargo, se puede encontrar en perros inmunodeprimidos o tratados crónicamente con antibióticos (Zachary y McGavin, 2012).

Transmisión

La transmisión de animal a animal se produce a través del contacto directo con secreciones respiratorias, fómites y posiblemente aerosoles (Mattoo y Cherry, 2005). El agente viral común de la traqueobronquitis infecciosa canina (TIC) se transmite hasta 2 semanas después de la infección. Para *Mycoplasma sp.* y *B. bronchiseptica*, sin embargo, la excreción puede persistir durante 3 meses o más (Ford, 2008).

Patogenia

Bordetella tiene la capacidad de evadir las defensas inmunitarias innatas tempranas uniéndose directamente a los cilios de las células epiteliales respiratorias (Edwards *et al.*, 2005) y actuando como el patógeno principal. Al ingresar a las vías respiratorias, *Bordetella* puede mediar y mantener la adhesión ciliar a través de interacciones redundantes y/o secuenciales entre las moléculas de adhesina bacteriana y las células ciliadas del huésped. Los involucrados en la adhesión de la célula huésped y la posterior colonización incluyen filamentos de hemaglutinina (HAF), adhesinas, pili y la toxina de hemolisina adenilato ciclasa (Edwards *et al.*, 2005). Se ha propuesto que la infección puede ocurrir en dos etapas básicas: 1. Colonización: se activa el gen productor de hemaglutinina filamentosa (HAF), que actúa con pili para permitir que la bacteria colonice al huésped (Lugo y Peña, 2007). 2. Daño celular: La expresión de otros genes, como endotoxina, citotoxina traqueal y adenilil ciclasa, es responsable del daño sistémico del tracto respiratorio (Lugo y Peña, 2007). Los pili (apéndices similares a cabellos que se extienden desde la membrana celular de *B. bronchiseptica*) participan en la mejora de la capacidad de *B. bronchiseptica* para estabilizar la colonización traqueal y son fundamentales para una colonización duradera de este sitio. La adhesión específica a los tejidos receptores es un evento clave en el inicio de la infección bacteriana (Mattoo *et al.*, 2000). Las citotoxinas traqueales inhiben la motilidad ciliar y el aclaramiento traqueal. La adenilato ciclasa, por otro lado, tiene propiedades que alteran las funciones de la célula huésped, incluida la fagocitosis, la lisis de bacterias intracelulares y también la capacidad de inmovilizar los cilios de las vías respiratorias (detención de cilios) (Carter y Chengappa, 1991). Por lo tanto, este mecanismo facilita en gran medida la infección secundaria. La infección secundaria con patógenos oportunistas (*Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Pasteurella*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas*, *Mycoplasma*) puede empeorar el cuadro clínico (Morgan, 2004). La detención ciliar ocurre temprano en las interacciones del patógeno y el tejido del huésped, antes de la producción de moco y los signos evidentes de daño epitelial, y puede afectar a una amplia gama de mamíferos con consecuencias "limitadas", que van desde la ausencia de signos hasta la infección aguda. Tracto respiratorio (Anderton, Maskell y Preston, 2004). En perros jóvenes y animales inmunocomprometidos, la invasión bacteriana secundaria del tracto respiratorio inferior puede provocar una neumonía potencialmente mortal (Birchard y Sherding, 1996).

Manifestaciones clínicas y lesiones

Las tasas de incidencia varían ampliamente (10% a 50%) porque dependen en gran medida del estado de vacunación del paciente y de la atención que recibe. Los signos clínicos de la infección por *B. bronchiseptica* aparecen entre 3 y 4 días después de la exposición. Dura 14 días o más. Incluyen esputo y tos húmeda, náuseas, arcadas y secreción serosa ocular y nasal leve, pérdida de apetito, disnea y fiebre (40°C). Los síntomas clínicos pueden persistir durante 3 a 6 semanas y la mortalidad puede llegar al 10%. *B. bronchiseptica* puede permanecer en el tracto respiratorio durante 14 semanas o más, lo cual es relevante porque *B. bronchiseptica* favorece el establecimiento de bacterias oportunistas, y los portadores sanos pueden continuar eliminando el microbio y convertirse en una fuente de infección para

otros perros (Markey *et al.*, 2002). La traqueobronquitis se caracteriza por hiperemia del revestimiento mucoso de la tráquea y los bronquios y un exudado mucoso o mucopurulento. Además, había áreas incompletas de neumonía exudativa, petequias y hemorragia en la superficie pleural.

Procedimientos

Fase pre-analitica

Propósito y alcance

El principal objetivo de esta prueba es auxiliar en el diagnóstico de la enfermedad ya que al identificarla puede proporcionarse un tratamiento de manera temprana, evitando el desarrollo y propagación (Amunet, 2023).

Descripción de la solicitud

La realización de pruebas de laboratorio requiere la toma de una muestra biológica del paciente para su análisis y obtención de resultados para su diagnóstico

Con la finalidad de brindar apoyo en cuanto a la identificación y tratamiento de la enfermedad para los pacientes, es necesario que las instituciones cuenten con servicios, ya sea internos o externos, de exámenes de laboratorio.

Es importante considerar lo siguiente al momento de solicitar exámenes de laboratorio:

1. Las solicitudes para realización de tomas de muestra y pruebas de laboratorio se deben generar con las siguientes especificaciones:

- Datos de la clínica/hospital: nombre, ubicación, contacto, nombre del médico solicitante.
- Datos del paciente: nombre, raza, edad, sexo, peso, nombre del propietario.
- Obtención de muestra: tipo, método de obtención, observaciones.
- Solicitud de examen: microbiológico, hematológico, inmunológico, etcétera.
- Solicitud de materiales.
- Anamnesis.
- Cuadro clínico.
- Historia clínica complementaria.

2. Los laboratorios que realizan pruebas clínicas son los siguientes:

- Clínico general
- Patología
- Biología molecular
- Microbiología
- Hematología

3. En caso de tratarse de un paciente que se encuentre hospitalizado, la unidad dónde se le resguarde es la responsable de elaborar y procesar la solicitud para la realización de pruebas de laboratorio.

4. En caso de realizarse el examen clínico de manera externa, el paciente deberá ser presentado en el lugar, día y hora indicados:

- Hora y fecha sin señaladas por el médico veterinario
- El médico veterinario es responsable de dar a conocer las recomendaciones e indicaciones bajo las cuales debe presentarse al paciente para la toma de muestra

5. El tutor es quien debe hacerse responsable de cumplir con las recomendaciones a seguir para que se lleve a cabo la prueba de laboratorio.

6. Para ser incluidos en el expediente clínico correspondiente a cada uno de los pacientes, los resultados de las pruebas de laboratorio son entregados al archivo clínico mediante el personal de laboratorio (NOM-004-SSA3-2012).

Identificación y preparación del paciente

De considerarse, es necesario que dicha prueba sea realizada a todos los pacientes en el hospital para evitar el riesgo de contagio entre animales incluso zoonosis, debido a que de esta manera se garantiza la minimización de riesgos biosanitarios. Si se detecta algún caso de riesgo, tanto el importe de las pruebas diagnósticas como los gastos derivados de la estancia en aislamiento del paciente serán abonados por el propietario.

Al ser el Médico Veterinario el responsable de informar a los propietarios en caso de existir algún riesgo ante la presencia de agentes infecciosos, éste debe encargarse de que se realicen las tomas de muestra necesarias para llevar a cabo exámenes de laboratorio y aplicar las medidas de bioseguridad necesarias. Si el animal pudiera estar infectado con algún agente microbiológico de los que están enlistados en la O.I.E., el médico deberá reportarlo de inmediato.

Toma de muestra

Parvovirus

Previo a la toma, debe realizarse la identificación de las muestras. Ésto deberá colocarse en el envase de manera que quede etiquetado y debe incluir los siguientes datos:

- a. Nombre del propietario.
- b. Dirección y teléfono.
- c. Datos del animal.
- d. Estudio solicitado.

Recolección

Directamente del recto (utilizando guantes) o de la porción central del bolo fecal (utilizando espátula o hisopo), inmediatamente después de la defecación, 20 g de heces por animal. En se debe utilizar un frasco estéril por animal.

A la hora de enviar muestras a laboratorios de diagnóstico patológico clínico, siempre se debe tener en cuenta que el material puede ser infeccioso, por lo que la forma más eficaz y segura de enviar muestras es mediante mensajería directa. Las muestras deben cumplir con los siguientes requisitos:

- Deben colocarse en contenedores de doble capa (dos cajas o una caja y bolsa de plástico), ya que se mejora el aislamiento y aumenta la resistencia del contenedor.
- Las muestras deben enviarse en envases individuales, entre cada bolsa o bote que contenga las muestras, un material amortiguador y absorbente de humedad (preferiblemente astillas de madera, pero también se puede utilizar papel o virutas), con la caja exterior cerca del Manera de sellar todas las esquinas y la tapa con cinta de carroceros, esto a su vez aumenta la resistencia del envase.

Es muy importante colocar claramente en el envoltorio la siguiente información: Material descomponible para análisis, manejar con cuidado, frágil. Para que el material biológico llegue al laboratorio lo más rápido posible, se debe considerar la idoneidad del medio de transporte (aéreo o terrestre, ya sea por carga aérea comercial o vehículo privado, además, al enviar muestras, se conveniente comunicarse de inmediato con el laboratorio indicando el modo de transporte, línea comercial utilizada y tiempo aproximado de destino, y número de guía sanitaria). No se recomienda enviar muestras a laboratorios de diagnóstico los fines de semana, cerca de festivos o días festivos ya que existe el riesgo de no recibir las muestras.

Distemper

Previo a la toma, debe identificarse de las muestras. Ésto deberá colocarse en el envase de manera que quede etiquetado y debe tener los siguientes datos:

- a. Nombre del propietario.
- b. Dirección y teléfono.
- c. Datos del animal.
- d. Estudio solicitado.

Recolección

La extracción de sangre en perros generalmente requiere dos personas: una obtiene la muestra de sangre mientras que la otra inmoviliza al animal. En el caso de los cachorros, pueden relajarse para la extracción de sangre de la vena yugular si se sujeta por la piel en la parte posterior del cuello.

Existen diferentes alternativas en la extracción de una muestra sanguínea para la obtención de suero, ésto de acuerdo al manejo que se adapte mejor al paciente y la zona de donde se desee conseguir la muestra:

Vena yugular:

1. Colocar al paciente sobre la mesa en posición decúbito esternal.
2. Con una mano, sujetar los miembros anteriores del animal por las articulaciones del carpo y sacarlas del borde de la mesa.
3. Con la otra mano, extender el cuello agarrando el hocico y dirigiendo las fosas nasales en dirección al techo.

De manera alternativa, se puede sujetar al animal en decúbito lateral con el cuello extendido y los miembros anteriores estirados caudalmente

- NOTA: Siempre que sea posible, se recomienda la obtención de muestras sanguíneas por venopunción yugular.

Vena cefálica

1. Colocar al paciente sentado sobre la mesa o en posición decúbito esternal.
2. Extender el miembro delantero del animal colocando los dedos de una mano detrás del codo.
3. Comprimir la vena cefálica con el pulgar y estabilizar la vena en la superficie dorsal del miembro anterior estirando ligeramente la piel.

Vena safena lateral (vena tarsiana recurrente)

1. Colocar al animal en decúbito lateral sobre la mesa.
2. Extender la vena y comprimir sujetando firmemente el muslo distal del animal o el segmento tibial proximal.

Vena safena medial

1. Colocar al paciente en decúbito lateral sobre la mesa.
2. Extender la rodilla opuesta y comprimir la vena presionando firmemente la parte interna superior del muslo del animal (área inguinal).

Vena femoral

1. Colocar al animal en decúbito lateral sobre la mesa.
2. Con una mano, abducir el miembro posterior de la superior para permitir el acceso a la cara medial del otro miembro posterior.
3. Con la otra mano, comprimir la vena femoral en el lado medial de la parte superior del muslo con el pulgar.

- NOTA: Es posible que se necesite una persona adicional para sujetar la cabeza y las patas delanteras del animal para este procedimiento.

Extraer sangre recogiéndola en el tubo de extracción sanguínea para bioquímica (sin anticoagulante) identificado y tra su obtención invertir suavemente el tubo para favorecer la coagulación. Centrifugar el tubo de sangre (sin anticoagulante) La fracción superior o sobrenadante tras la centrifugación de aspecto claro y transparente corresponde al suero sanguíneo.

Traqueobronquitis infecciosa canina causada por Bordetella bronchiseptica

Previo a la toma, se debe proceder a la identificación de las muestras. Esto deberá colocarse en el envase de manera que quede etiquetado y debe incluir los siguientes datos:

- a. Nombre del propietario.
- b. Dirección y teléfono.
- c. Datos del animal.
- d. Estudio solicitado.

Recolección

Para esta prueba puede obtenerse una muestra de suero, de manera que para ello es necesario seguir el protocolo de acuerdo a la vena de la que se desee extraer la muestra sanguínea en el paciente:

Vena yugular:

1. Colocar al paciente sobre la mesa en posición decúbito esternal.
2. Con una mano, sujetar los miembros anteriores del animal por las articulaciones del carpo y sacarlas del borde de la mesa.
3. Con la otra mano, extender el cuello agarrando el hocico y dirigiendo las fosas nasales en dirección al techo.

De manera alternativa, se puede sujetar al animal en decúbito lateral con el cuello extendido y los miembros anteriores estirados caudalmente

- NOTA: Siempre que sea posible, se recomienda la obtención de muestras sanguíneas por venopunción yugular.

Vena cefálica

1. Colocar al paciente sentado sobre la mesa o en posición decúbito esternal.
2. Extender el miembro delantero del animal colocando los dedos de una mano detrás del codo.
3. Comprimir la vena cefálica con el pulgar y estabilizar la vena en la superficie dorsal del miembro anterior estirando ligeramente la piel.

Vena safena lateral (vena tarsiana recurrente)

1. Colocar al animal en decúbito lateral sobre la mesa.
2. Extender la vena y comprimir sujetando firmemente el muslo distal del animal o el segmento tibial proximal.

Vena safena medial

1. Colocar al paciente en decúbito lateral sobre la mesa.
2. Extender la rodilla opuesta y comprimir la vena presionando firmemente la parte interna superior del muslo del animal (área inguinal).

Vena femoral

1. Colocar al animal en decúbito lateral sobre la mesa.
2. Con una mano, abducir el miembro posterior de la superior para permitir el acceso a la cara medial del otro miembro posterior.

3. Con la otra mano, comprimir la vena femoral en el lado medial de la parte superior del muslo con el pulgar.

- NOTA: Es posible que se necesite una persona adicional para sujetar la cabeza y las patas delanteras del animal para este procedimiento.

En caso de optar por la opción de usar plasma sanguíneo para realización del examen, se debe extraer la sangre reuniéndola en un tubo de extracción sanguínea para hematología con EDTA (Acido etilendiaminotetraacetico) correctamente identificado. Tras su obtención, invertir suavemente el tubo para favorecer que la sangre se mezcle bien con el anticoagulante e inmediatamente centrifugar el tubo y posteriormente deben poder observarse tres capas en el tubo con la muestra:

- a. La fracción superior o sobrenadante, de aspecto claro y transparente, y de un color amarillo pálido que corresponde al plasma sanguíneo.
- b. La segunda fracción o intermedia es fina y de color gris-blanco, y representa la fracción de leucocitos.
- c. La tercera fracción o inferior es de un color rojo oscuro y corresponde a los eritrocitos o hematíes.

Después de la centrifugación, aspirar cuidadosamente el sobrenadante (fase superior) con la ayuda de una pipeta Pasteur estéril, a ser posible completamente en una sola aspiración y colocar en otro tubo para uso inmediato en la prueba de laboratorio.

Registro

Los hospitales o clínicas que cuentan con procedimientos de laboratorio, deben completar las solicitudes para realización de pruebas con los registros de la base de datos, adicionando información como el tipo de estudio que se realizará, el tipo de muestra a obtener para su procesamiento, esto con el objetivo de generar un código y por lo tanto una identificación más efectiva.

Por otro lado, para las clínicas u hospitales que no ofrecen servicios de laboratorio propios, el registro debe generarse en el lugar al que se envían las muestras para su procesamiento y por ende adicionar esta información al expediente clínico del paciente para posteriores consultas de información.

Fase analítica

Parvovirus

Fundamento: ELISA fecal

Este método detecta antígenos virales en las heces, al ser sensible y específico, puede presentar falsos positivos en animales vacunados recientemente (5 a 12 días posvacunación) y falsos negativos con muestras de heces obtenidas fuera del período miccional o período de diarrea abundantemente sanguinolenta por dilución o combinación de antígenos lo que no permitirá a la muestra reaccionar con el anticuerpo de prueba. (Coté, 2010; Aspinal, 2014; Ettinger y Feldman, 2007). En cachorros, independientemente de su calendario de vacunación. Hay que tener en cuenta que pueden producirse falsos positivos en aquellos pacientes que fueron vacunados 3-7 días antes (Torrente y Bosch, 2011).

Es un ELISA que detecta el antígeno CPV (Ag) en muestras de heces. La excreción viral fecal máxima ocurre de 4 a 7 días después de la infección. Las pruebas diagnósticas actualmente en el mercado constituyen un método rápido cuyo uso en la práctica veterinaria está muy extendido. La carga viral fecal (la cantidad de CPV Ag) puede ser clave para determinar si dichas pruebas dan un resultado positivo o negativo. Otra pregunta es qué sucede si el título de anticuerpos anti-CPV es alto. Puede ser que acaben inmovilizados en Ag fecal, dificultando o impidiendo una prueba ELISA positiva..

Los animales vacunados con vacunas CPV-2 vivas también pueden tener falsos positivos para algunas pruebas de virus fecales (Villiers y Blackwood, 2013; Ruiz de Gopegui, 2016).

Material

- Dispositivos para prueba rápida
- Tubos con diluyente para muestras
- Hisopos para toma de muestra
- Goteros desechables

Descripción del procedimiento

1. Recoger la muestra de heces del paciente con ayuda de un hisopo
2. Se inserta el hisopo en el tubo de muestra que contiene 1 ml de diluyente de prueba.
3. La muestra del hisopo y el diluyente de prueba deben mezclarse en el pocillo de extracción.
4. Debe retirarse el dispositivo de prueba de la bolsa de aluminio y colocarlo sobre una superficie plana y seca.

5. Con el gotero desechable proporcionado, recoger la muestra del tubo de donde se extrajo y mezclar.
6. Con un gotero desechable, agregar 4 gotas al pocillo de la muestra. La dilución de prueba mixta debe agregarse con precisión y de manera suave (gota a gota).
7. Al comenzar la prueba, se aprecia un desplazamiento púrpura a través de la ventana de resultados en el centro del dispositivo de prueba. Si la migración no ocurre después de 1 minuto, agregar otra gota de diluyente de prueba mixta al pocillo de la muestra.
8. Interpretar los resultados de las pruebas dentro de los primeros 5 a 10 minutos. No leer después de 20 minutos.

Distemper

Fundamento: Técnica ELISA

Guzmán (2004) afirmó que la tecnología ELISA está muy relacionada con las enzimas porque utiliza enzimas como marcadores para cuantificar la formación de complejos antígeno-anticuerpo. Se han desarrollado diferentes aplicaciones de ELISA, pero todas utilizan marcadores enzimáticos, que pueden unirse a anticuerpos o antígenos, así mismo en todos los métodos ELISA, se separan en su procedimiento con el objetivo de eliminar conjugados enzimáticos libres antes de determinar la cantidad de conjugados enzimáticos unidos, lo cual se logra mediante una reacción catalítica entre sustrato y enzima.

Este método de diagnóstico se considera muy efectivo y nos ayuda a obtener resultados precisos ya que nos permite identificar diferentes tipos de virus y sus anticuerpos, revelando qué muestras de estudio son negativas y cuáles positivas (Gilchris *et al.*, 2005).

El método ELISA es uno de los mejores métodos para la identificación de anticuerpos y antígenos, nos permite analizar múltiples parámetros en poco tiempo, y una de sus ventajas más importantes es que la técnica no es costosa (Siachoque, 2006).

Arce, Rosas y Rodríguez (2007) afirmaron que ELISA se ha convertido en los últimos años en la prueba más popular en el diagnóstico clínico y la investigación debido a su alta sensibilidad y especificidad para medir antígenos o anticuerpos. Para estabilizar un ELISA, primero se requiere un soporte sólido, generalmente una placa de poliestireno de fondo plano. En segundo lugar, se debe tener cuidado de que la enzima-anticuerpo (conjugado) proporcione seguridad, estabilidad y una señal sensible. En tercer lugar, además de la solución utilizada para bloquear los sitios abiertos, también se debe determinar el tampón apropiado para adherir el antígeno o el anticuerpo a la placa de espuma de poliestireno.

Estas técnicas utilizan etiquetas enzimáticas para detectar y amplificar reacciones antígeno-anticuerpo. Las técnicas de conjugación que marcan antígeno y anticuerpo con

enzimas deben permitir el mantenimiento de la enzima y la actividad del anticuerpo o antígeno unido (Anguita, 1996).

Material

- Dispositivos para prueba rápida
- Hisopos para muestra
- Goteros desechables o pipeta Pasteur

Descripción de procedimiento

1. Retirar el dispositivo de prueba de la bolsa de aluminio y colocarlo sobre una superficie plana y seca.
2. Con ayuda de una pipeta Pasteur, pipetear 0.5 ml de suero y agregar cuatro gotas de la muestra de suero que obtenida al pozo de muestra (se debe hacer gota a gota al colocarlo en el dispositivo). La pipeta debe mantenerse siempre en posición vertical .
3. Encender el cronómetro durante 10 minutos y observar.
4. La muestra pasa por la ventana de resultados. Si después de 1 minuto no aparece, se debe añadir otra gota de muestra mezclada al pocillo.
5. Tras pasar 10 minutos, los resultados de la prueba, interpretar de la siguiente manera:
 - Si se observa tinción para las dos líneas de control "C" y prueba "T", indica la presencia de antígeno CDV. Entonces el resultado es positivo.
 - Si sólo aparece la línea de control "C" en la ventana del dispositivo, no hay antígeno y, por lo tanto, una lectura negativa.
 - Si no se observa ninguna línea o solo se observa una prueba "T", el resultado no es válido y se debe repetir la prueba.

Traqueobronquitis infecciosa canina causada por *Bordetella bronchiseptica*

Fundamento

La prueba se basa en la reacción de proteínas de *Bordetella bronchiseptica* con anticuerpos policlonales del canino. Con este fin, se han revestido proteínas de *Bordetella bronchiseptica* en una placa de tiras de microtitulación de 96 pocillos.

La muestra de suero/plasma canino se añade (diluida 1:100) a los pocillos de la placa recubierta. La muestra de suero también se puede titular usando una dilución de 3 pasos, comenzando con una dilución 1:30 (90; 270; 810).

Después del lavado, los anticuerpos de perro unidos se detectan mediante el conjugado anti-especie conjugado con HRPO.

La reacción de color en los pocillos está directamente relacionada con la concentración de anticuerpos contra *Bordetella* en la muestra de suero.

Material

- Tiras de microtitulación de 12 pocillos recubiertas con proteína de *Bordetella*
- Soporte de tiras
- 12 ml de anticuerpo conjugado HRPO (anti-especie)
- 0.5 ml de suero de control positivo de *Bordetella*
- 1 ml de suero de control negativo de *Bordetella*
- 1 solución de lavado de 20 ml 200 x concentrado (diluir en agua desionizada antes de usar)
- 18 ml tampón ELISA
- 8 ml de tampón de sustrato A
- 8 ml de tampón de sustrato B
- 8 ml de solución de parada
- Tapa de plástico

Descripción de procedimiento

1. Abrir el paquete y sacar las tiras a utilizar. Lavar las tiras de microtitulación con agua solución, según protocolo de lavado (la solución de lavado debe diluirse 200 veces en agua desionizada). Reconstituir directamente antes de usar el control negativo en 1 ml de agua desionizada.
2. Hacer una dilución de 3 pasos de cada muestra en tampón ELISA, comenzando 1:30 (90; 270; 810) en un recipiente de fondo redondo. placa de microtitulación (no incluida). Realice también una dilución de 3 pasos del control positivo y negativo.
3. Transferir 100 μ l de esta dilución a las tiras de microtitulación recubiertas de *Bordetella*.
4. Sellar e incubar durante 60 min. a 37°C.
5. Lavar como se indica en el protocolo de lavado.
6. Distribuir 100 μ l de anticuerpo anti-especie conjugado en todos los pocillos.
7. Sellar e incubar 60 min. a 37°C.
8. Lavar como se indica en el protocolo de lavado.
9. Mezclar partes iguales de tampón A y tampón B con agitación suave (preparar inmediatamente antes de usar). Dispensar 100 μ l solución de sustrato a cada pocillo.
10. Incubar 10-20 min. a temperatura ambiente (21°C).
11. Agregar 50 μ l de solución de parada a cada pocillo; mezclar bien.
12. Leer los valores de absorbencia inmediatamente (dentro de 10 min.) a 450 nm, usar 620 nm como onda de referencia longitud.

Fase pos-analítica

Eliminación de residuos

Los criterios para la eliminación de residuos en clínicas de consulta externa y veterinarias para pequeñas especies clasificadas de nivel 1, se establecen en la NOM-087-ECOL-1995.

Identificación y envasado

Debido al origen de los residuos de este tipo de exámenes de laboratorio, éstos deben desecharse en bolsas amarillas y en el caso de los residuos líquidos colocarse en recipientes herméticos del mismo color.

Recolección y transporte interno

El equipo básico de protección para el personal de recolección de residuos debe contemplar un uniforme completo, guantes, cubrebocas, y en caso de manejar residuos líquidos se incluyen lentes de protección.

Se prohíbe el uso de ductos neumáticos o de gravedad como medio de transporte interno de cualquier residuo biológico-infeccioso.

Almacenamiento

Debe existir un área destinada para el almacenamiento de los residuos peligrosos biológico-infecciosos. En el caso de los residuos que estén envasados, deben colocarse en contenedores rotulados con el símbolo universal de 'riesgo biológico' con la leyenda: "PELIGRO, RESIDUOS PELIGROSOS BIOLÓGICO-INFECCIOSOS".

Las condiciones de almacenaje incluyen una temperatura no mayor a los 4°C y un tiempo que no debe exceder los 7 días.

Limpieza y descontaminación

La limpieza efectiva consta de 4 pasos:

Limpieza en seco

Se aplica para la eliminación de materia fecal, basura, desechos gruesos y otras materias orgánicas. Al llevarse a cabo correctamente, destruye los microorganismos que se presentan en grandes cantidades. Éste paso es esencial ya que permite que el sanitizante actúe de manera más efectiva debido a que en la mayoría de los desinfectantes la eficacia se reduce en presencia de materiales orgánicos.

Lavado

Remojar el área con agua y detergente, para posteriormente limpiar. Debe tratarse con precaución la aspersión a presión ya que este método transforma los microorganismos en aerosoles y puede facilitar la propagación de enfermedades, especialmente en áreas como desagües y esquinas; que funcionan como reservorio de patógenos por lo que deben limpiarse y desinfectarse al final.

Enjuague

Gran cantidad de desinfectantes pueden desactivarse con jabón (residuo de detergente) por lo que es necesario enjuagar de manera efectiva.

Secado

Previo a la aplicación del desinfectante, una vez enjuagada la zona, debe permitirse un secado uniforme para reducir el efecto de dilución.

Validación de resultados

La validación necesita hacerse a fin a un formato de revisión elaborado de manera específica para los procedimientos, con el objetivo de verificar que éstos se realizaron de manera adecuada.

Bibliografía

Aguilar Fierro Aliana Anabel. (2019). Diagnóstico de Parvovirus en Machos y Hembras mediante la técnica de Elisa cualitativa y cuantitativa. Universidad Politécnica Salesiana. Cuenca, España.

Agut, A., Clemente, F., Díaz, Sandra., Lloret, A., Luján, A., Noli, Chiara.,...Tabar, M. (2016). Manual clínico de medicina interna en pequeños animales II. Sheffield, Inglaterra: 5m Publishing

Anderton, T. L., Maskell, D. J., & Preston, A. (2004). Ciliostasis is a key early event during colonization of canine tracheal tissue by Bordetella bronchiseptica. Microbiology (Reading, England), 150(Pt 9), 2843–2855. <https://doi.org/10.1099/mic.0.27283-0>

Birchard S y Sherding R. (1996). Manual Clínico de Pequeñas Especies. I. Editorial McGraw-Hill Interamericana. Capítulo 5. (122-124)

Blanco, M., Doménech, A., Orden, J., Domínguez, G., Miró, G., Cutuli, M.... y Simarro, I. (2013). Inmunología y Enfermedades infecciosas del perro y gato. Zaragoza, España: Grupo Asís Biomedica.

Briones, S. (1990). Manual de Medicina Veterinaria Homeopática. Recuperado de https://books.google.com.ec/books?id=mowPPPcukqgC&pg=PA46&dq=Manual+de+Medicina+Veterinaria+Homeop%C3%A1tica&hl=es419&sa=X&ved=0ahUKEwilyqj_58LeAhVlzIMKHa w6BCMQ6AEILDAB#v=onepage&q=Manual%20de%20Medicina%20Veterinaria%20Homeop%C3%A1tica&f=false

Brusa, C. (2014). “Compendio de las enfermedades de los caninos y felinos domésticos”. La Plata, Argentina: Edulp.

Buñay Barahona Tatiana Gabriela. (2019). Diagnóstico comparativo de moquillo en caninos (*Canis familiaris*) machos y hembras mediante la técnica Elisa cuantitativa Elisa cualitativa. Universidad Politécnica Salesiana. Cuenca, España.

Carter G., y Chengappa M. (1991). Bacteriología y Micología Veterinaria, Aspectos Esenciales. Editorial Manual Moderno S.A. 2da Edición. 23, (3841-345)

Chvala, S., Benetka, V., Möstl, K., Zeugswetter, F., Spargser, J. y Weissenböck, H. (2007). Infección simultánea por el virus del moquillo canino, el adenovirus canino tipo 2 y el micoplasma cynos en un perro con neumonía. *Patología veterinaria*, 44 (4), 508–512. Recuperado de <https://doi.org/10.1354/vp.44-4-508>

Coté, E. (2010). El consultor en la clínica veterinaria perros y gatos. Buenos, Aires: Intermédica.

Cork Susan C. (2019). Serology and inmunity, The veterinary laboratory and field manual, 3era edición, 5m publishing-OIE. Wolverhampton, United Kingdom.

Cortadellas Rodriguez Oscar. (2021). Diagnostico laboratorial de enfermedades infecciosas. AVEPA. Alicante, España.

Cura Estela. (2017). Manual de procedimientos de control de calidad para los laboratorios de serología. PAHO. Washington, D.C.

Damián, M., Morales, E., Salas, G., Trigo, F, J. (2005). Immunohistochemical Detection of Antigens of Distemper, Adenovirus and Parainfluenza Viruses in Domestic Dogs with Pneumonia, *Journal of Comparative Pathology*, 133 (4), 289-293.

Durán, F. (2016). Enfermedades en perros y gatos. Bogotá, Colombia: Grupo Latino.

Ettinger, S., y Feldman, E. (2007). Tratado de medicina interna veterinaria; enfermedades del perro y el gato (Vol. 1). Barcelona,, España: Elsevier.

Feijoó, S., y Gómez, N. (2012). Clínica médica de animales pequeños I. Buenos Aires: EUDEBA.

Fernández, N. (2012). Manual de Merck para la salud de las mascotas. Madrid, España: PAIDOTRIBO.

Ferreya, E. (2013). Uso de la Azatioprina en el tratamiento del Distemper canino. Revista electrónica de Veterinaria, 14(1), 1-3. Recuperado de <https://www.redalyc.org/pdf/636/63625683008.pdf>

Figueroa, M. (1984). Enfermedades infecciosas de los animales domésticos en Centroamérica. Recuperado de <https://books.google.com.ec/books?id=rftbdNOg1dIC&pg=PA376&dq=moquillo+canino&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiNje7eufDdAhWvVt8KHZC5C58Q6AEIKTAB#v=onepage&q=moquillo%20canino&f=false>

Ford, R. B. (2008). Canine Infectious Tracheobronchitis. En C. Greene, Infectious Diseases of the Dog and Cat, 3rd Edition (1-15). Missouri: Elsevier.

García, I. (2007). “Manejo Clínico de la Parvovirus canina en urgencias”. Revista Complutense de Ciencias Veterinarias, 1(2), 1988-2688.

Gallegos, M. (2018). Detección molecular del Gen M del virus Distemper Canino (Memoria para optar al Título Profesional de Médico Veterinario Departamento de Medicina Preventiva Animal). Universidad de Chile, Santiago, Chile.

Gonzalez Ortiz Juana Valentina. (2021). Bordetella bronchiseptica en el municipio de Bahía Solano. Unilasallista Corporación Universitaria. Antioquia, Colombia.

Herrera Ortiz Gabriela Cecilia. (2022). Propuesta para mejorar los procesos internos del laboratorio clínico. Universidad de Guayaquil. Guayaquil, Ecuador.

Kahn, C. (2007). Manual Merck de Veterinaria. Madrid, España: Océano.

Machicote, G. (2012). Atlas de dermatología canina y felina. Recuperado de <http://ebookcentral.proquest.com/lib/bibliotecaupssp/detail.action?docID=4909029>.

Martinez Ayala Ricardo. (2018). Estudio retrospectivo de prevalencia (2015–2017) en pacientes atendidos en el hospital veterinario de pequeñas especies del iicv-uabc. Universidad Autónoma de Baja California. Baja California, México.

Mattoo, S., Cherry, J. (2005). Molecular Pathogenesis, Epidemiology, and Clinical Manifestations of Respiratory Infections Due to Bordetella pertussis and Other Bordetella Subspecies. *Clinical Microbiology Reviews*, 18 (2), 326-382

Mattoo, S., Miller, JF y Cotter, PA (2000). Papel de las fimbrias de Bordetella bronchiseptica en la colonización traqueal y el desarrollo de una respuesta inmune humoral. *Infección e inmunidad*, 68 (4), 2024-2033. <https://doi.org/10.1128/IAI.68.4.2024-2033.2000>

Mauro, Leonardo D. (2006). Manejo de la traqueobronquitis infecciosa canina (TIC) "Tos de las Perreras". *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 7 (2), 1-9. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63612643015>

Mendoza Mora, C. N. (2008). Bordetella bronchiseptica EN CANINOS. MONOGRAFÍA. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Torreón, Coahuila.

Morgan, R. (2004). *Clínica de Pequeños Animales*. España: Elsevier.

Muñoz, P., Morgaz, J., y Galán. (2015). *Manual Clínico del perro y el gato*. Barcelona, España: ELSEVIER

Nelson Richard W. (2002). *Manual de Medicina Interna de Pequeños Animales*. Editorial Harcourt Mosby. 1era Edición. Capítulo 21 (116-117); Capítulo 99 (795), Capítulo 105 (845).

Londoño Puerta Jaime Humberto. (2022). Parvovirus canino en el municipio de Segovia, reporte de caso. Unilasallista Corporación Universitaria. Antioquia, Colombia.

Lugo, S y Peña, J. (2007). Bordetella bronchiseptica en animales de laboratorio. Monografía. CENPALAB. Recuperado de <https://www.monografias.com/trabajos44/bordetella-Bronchiseptica/bordetella-bronchiseptica2.shtml>

Pinotti, M. A. (2011). *Distemper Canino: Evaluación de dos alternativas terapéuticas y caracterización de aspectos clínico-epidemiológicos en la Ciudad de Santa Fe, durante los años 1998 – 2009 (Tesis para optar al grado de Magister en Ciencias Veterinarias)*. Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina.

Pinotti, M., Gollan, A., Canavesio, M., Passegi, C., Larrateguy, M., Paz, M., y Formentini, E. (2016). Virus de Distemper Canino: detección molecular de diferentes aislamientos

provenientes de perros de la provincia de santa fe, argentina, entre los años 2000 y 2010. Revista Electrónica de Veterinaria, 18(2), 350-351.

Quinn, P., Markey, B., Carter, M., Donnelly, W., y Leonard, F. (2008). Microbiología y enfermedades infecciosas veterinarias. Zaragoza, España: Acribia.

Rojas Días Luis Angel. (2021). Protocolo Intrahospitalario de Manejo Bioseguro de Pacientes Cachorros Caninos con Enfermedades Virales en el Centro Veterinario Fauna, Bucaramanga – Santander. AGAA. Santander, Colombia.

Rovira Castellanos Luisa Fernanda. (2020). Protocolo de Bioseguridad para la Consulta y Manejo de Pacientes Infectocontagiosos que Ingresan a la Clínica Veterinaria Pequeños Animales. Universidad de Santander. Santander, Colombia.

Rumie Sapuy. (2018). Diseño de manuales de procedimientos para la clínica veterinaria zoovet jk ubicada en el centro comercial el molino local 45 Garzón-Huila. Universidad nacional abierta y a distancia escuela de ciencias básicas tecnología e ingeniería. Huila, Colombia.

Ruiz de Gopegui, R. (2016). Manual Práctico: Enfermedades infecciosas caninas. Madrid, España: Servet.

Samayoa Hernández Hugo Alberto (2017). Elaboración e implementación de un manual de procesos estándar principales dentro del laboratorio de aseguramiento de calidad de una industria de alimentos. Universidad Rafael Landívar. Asunción, Guatemala, junio de 2017.

Samayoa Peláez Maritza . (2011). Elaboración de un manual de procedimientos técnicos para la sección de bioquímica y serología de un laboratorio clínico, nivel II. Universidad de San Carlos de Guatemala facultad de ciencias químicas y farmacia. Guatemala, Mayo 2011.

San Miguel Hernández, Angel. (2017). Minimización de errores preanalíticos y su repercusión en el control del laboratorio clínico. Revista del Laboratorio Clínico, Valladolid, España.

Sanz Mareno Carlos. (2020). Diagnóstico de laboratorio de tos de las perreras. Centro de microbiología. Madrid, España.

Stanchi, N. (2010). Microbiología Veterinaria. Buenos Aires: Intermédica.

Universidad Autónoma de México. (2014). Guía técnica para la elaboración de manuales de procedimientos. Universidad Autónoma de México. Ciudad de México, México.

Zubiria Daza Christian David. (2020). Elaboración de un manual de diagnóstico de enfermedades gastrointestinales de origen viral en caninos para la clínica Animal Park Centro Veterinario S.A.S. Universidad de Santander. Santander, Colombia.

Zuñiga Erika. (2021). Frecuencia de enfermedades infecciosas en caninos en la Clínica Veterinaria Docente Cayetano Heredia en el periodo 2014-2017. Salud tecnol. Vet. Lima, Perú.