



Detección de pacientes COVID-19 en muestras de sudor por medio del olfato canino: Estudio preliminar

Álvarez G.^{1*} ; Carancci P.² ; De los Santos F.² ; Zapata A.³ ; Lorenzo H.R.³ 

¹Carrera de Esp. en Bienestar Animal. ²Secretaría de Extensión. ³Escuela de Adiestramiento Canino. Facultad de Ciencias Veterinarias – Universidad de Buenos Aires, Chorroarín 280 CABA. Argentina.

*E-mail: guadalupealvarez@fvvet.uba.ar

Resumen

Los componentes orgánicos volátiles generados por cambios en el metabolismo de un individuo han sido utilizados para el diagnóstico de enfermedades a través del olfato canino. Hay evidencias sobre la generación de dichos componentes en la infección por SARS-COV-2. El objetivo del trabajo fue determinar la capacidad canina para discriminar a pacientes positivos y negativos a COVID-19 a través de muestras de sudor axilar. Se utilizaron muestras de sudor axilar de 102 pacientes hospitalizados tanto COVID-19 positivos (31) como negativos (71), todos diagnosticados mediante la prueba de RT-PCR. Por cada ronda de detección se colocó una única muestra positiva y el resto de las muestras (sean 1, 2, 3, 4 o 5) negativas. La sensibilidad y especificidad global fue de 93,11% ($\pm 3,14\%$) y 88,52% ($\pm 4,64\%$) respectivamente. La alta sensibilidad pudo deberse al entrenamiento más prolongado aumentando así, la exactitud en la detección de muestras positivas. La especificidad fue menor a otra publicada pudiéndose deber a que las muestras negativas provenían de personas internadas por otras patologías o eran acompañantes de familiares internados por lo que todas poseían olor hospitalario. La detección de pacientes COVID-19 mediante el olfato canino ha demostrado ser una prueba tamiz confiable y prometedora.

Palabras clave: COVID-19, componentes orgánicos volátiles, olfato canino.

Detection of COVID-19 patients in sweat samples using canine sense of smell: Preliminary study

Abstract. Volatile Organic Compounds generated by changes in the metabolism of an individual have been used for the diagnosis of diseases through canine sense of smell. There is evidence of the generation of these compounds in SARS-COV-2 infection. The objective of the work was to determine the canine capacity to discriminate between positive and negative patients with COVID-19 through samples of axillary sweat. Axillary sweat samples were used from 102 hospitalized patients both COVID-19 positive (31) and negative (71), all diagnosed by rt-PCR test. For each round of detection, a single positive sample was placed and the rest of the samples (whether 1, 2, 3, 4, or 5) were negative. The overall sensitivity and specificity were 93.11% ($\pm 3.14\%$) and 88.52% ($\pm 4.64\%$) respectively. The high sensitivity could be due to the longer training thus increasing the accuracy in the detection of positive samples. The specificity was than lower another published and may be due to the fact that the negative samples came from people hospitalized for other pathologies or were companions of hospitalized family members, so that all had a hospitable odor. Detecting COVID-19 patients using canine smell has proven to be a reliable and promising sieve test.

Key words: COVID-19, volatile organic components, canine sense of smell.

INTRODUCCIÓN

La participación de canes en el campo de la detección mediante el olfato se ha ampliado extensamente, siendo la salud humana la más beneficiada. Enfermedades de origen

oncológico, bacteriano, viral, parasitario, metabólico, neurológico, etc., han sido detectadas en pacientes, a través del olfato de perros entrenados (Helton et al. 2009, Moser 2010, Bijland et al. 2013, Bomers et al. 2014, Angle et al. 2016b, Guest et al. 2019, Heather Junqueira et al. 2019, Kasstan et al. 2019).

Cientos de componentes orgánicos volátiles (COVs) o biomarcadores son emitidos por el cuerpo reflejando la condición metabólica de un individuo. Por lo tanto, contraer una enfermedad infecciosa, metabólica, u otras; frecuentemente resulta en un cambio del olor corporal (Shirasu et al. 2011, Angle et al. 2016a, Ibrahim et al. 2021). La presencia de los denominados COVs (o por sus siglas en inglés VOC's Volatile Organics Compounds) en pacientes que cursan con enfermedades, ha sido descrita en multiplicidad de trabajos científicos publicados en revistas reconocidas mundialmente (Shirasu et al. 2011, Horvath et al. 2013, Angle et al. 2016a, Biehl et al. 2019, Heather Junqueira 2019, Course et al. 2021). En el caso de las enfermedades virales de origen respiratorio, Aksenov et al. (2014) revelaron que los patrones de COV en respuesta a la infección de tres subtipos de virus de Influenza aviar y humana [H9N2 (aviar), H6N2 (aviar) y H1N1 (humana)] fueron únicos para cada cepa, mientras que otros COV no específicos fueron producidos luego de la infección con las tres cepas del virus.

La participación de canes en la detección de la infección en humanos por SARS-CoV-2 tuvo un amplio crecimiento tanto en términos de investigación como en implementación durante la pandemia. Países como Argentina, México, Chile, Brasil, Colombia, Estados Unidos, Alemania, Francia, Bélgica, Reino Unido, Finlandia, Australia, Emiratos Árabes, Líbano y Ruanda iniciaron investigaciones de diferente alcance en la temática. En algunos casos, se utilizaron canes entrenados para propósitos médicos como la detección de enfermedades, tal fue el caso de Alemania y Líbano. En otros países, como en Argentina y Francia, participaron canes pertenecientes a divisiones de las fuerzas del orden público entrenados para detección de explosivos, para rescate de personas y de rastro.

El ensayo en Argentina fue ejecutado en el año 2020 con la asesoría técnica del Dr. Granjean, de la Universidad de Alfort en Francia. Se siguieron los estándares del grupo de investigación francés y al momento de la ejecución pocos países habían hecho sus publicaciones de sus resultados. Investigadores alemanes, utilizaron 8 perros de detección que fueron entrenados durante 1 semana para detectar SARS-CoV-2 en saliva y secreción traqueobronquial obteniendo una sensibilidad del 82,63% y una especificidad del 96,35% (Jendmy et al. 2020). Por otra parte, los investigadores franceses y libaneses en un trabajo conjunto utilizaron 6 canes (perros detectores de explosivos, de rescate y detectores de cáncer de colon) entrenados durante 1 a 3 semanas para detectar SARS-CoV-2 en muestras de sudor (Grandjean et al. 2020).

El adiestramiento para la detección de olores se realiza a partir de un aprendizaje asociativo (Helton et al. 2009) mediante el cual el perro aprende que donde están las partículas odorantes se encuentra el elemento de recompensa, el cual acciona como reforzador positivo (éste puede ser desde una pelota o en algunos casos, alimento). El entrenamiento para la detección del SARS-CoV-2 a través de las diversas matrices utilizadas, consistió en todos los casos, en exponer al olfato canino las muestras en dispositivos diseñados para tal fin. Los dispositivos varían en tecnología y presentación, pero en todos los casos, cuentan con un

“cono de olfacción” y un sitio de colocación de la muestra. Las muestras utilizadas por los diferentes grupos de investigadores fueron saliva, secreciones respiratorias, sudor (y/o olor corporal), aliento de exhalación y orina.

En relación con la situación sanitaria mundial actual, donde un nuevo coronavirus denominado SARS-COV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome – Coronavirus -2) responsable de una enfermedad respiratoria severa en el ser humano llamada COVID-19 por sus siglas en inglés Coronavirus Disease 19 (enfermedad por coronavirus – 19) ha generado una pandemia de gran envergadura a nivel mundial.

Los métodos de diagnóstico para la detección de SARS-COV 2 se basan en la búsqueda y amplificación del material genético (ARN) del agente viral, utilizando para tal fin la técnica de PCR, y en la detección de antígenos y/o anticuerpos en muestras séricas (test serológicos) que demuestran que el individuo bajo estudio tomó contacto con el virus (Moser et al. 2010).

La alta tasa de contagios que se han registrado en algunos países ha requerido un testeo masivo en sectores o áreas vulnerables que han demandado tiempo y recursos cuantiosos. Esta realidad plantea mayores esfuerzos y desafíos a la comunidad científica para lograr la detección del virus con mayor celeridad en personas que transitan por distintos ámbitos de un territorio (barrios, aeropuertos, centros urbanos, centros comerciales, etc.), y a menores costos.

El objetivo del presente trabajo es evaluar la capacidad de detección de pacientes COVID-19 positivos, a través de muestras de sudor, mediante el sentido del olfato de caninos entrenados. A partir de los resultados obtenidos se determinan los valores de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo y porcentaje de detección para esta técnica diagnóstica. Adicionalmente se comparan los resultados con otros autores con ensayos de metodología similar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se tomaron 102 muestras de sudor axilar mediante dispositivos de gasa tubular hidrófila estéril de 10 x 10 cm, de 31 pacientes COVID-19 positivos (con síntomas clínicos de la enfermedad) y 71 negativos; ambos confirmados por RT-PCR para SARS-CoV-2. Las muestras se identificaban al arribar desde la institución hospitalaria con la letra P (positivas a COVID-19) y la letra N (negativas a COVID-19) seguida de un número de orden. Los pacientes se encontraban hospitalizados al momento de la toma de muestra e incluían a personas de ambos sexos y cualquier edad. Las muestras fueron tomadas por el personal de salud perteneciente al Hospital de Clínicas de la Universidad de Buenos Aires y acondicionadas en bolsas de cierre hermético para su traslado. Con el propósito de generar un mayor margen de seguridad ante la manipulación de las muestras, cada una de ellas fue almacenada por 72 h previo a su utilización en el ensayo. En la Tabla 1 se muestran la distribución de muestras positivas y negativas según la edad y género.

Tabla 1. Distribución de las muestras de sudor axilar según género y edad.

Edad	Muestras Positivas		Muestras Negativas	
	Género			
	FEMENINO	MASCULINO	FEMENINO	MASCULINO
0 – 19 años	0	0	7	2
20 – 29 años	0	1	27	3
30 – 39 años	5	2	11	5
40 – 49 años	3	2	3	5
50 -59 años	4	4	1	2
60 – 69 años	3	2	1	2
70 – 79 años	3	2	2	0
TOTAL	18	13	52	19

Se seleccionaron 9 perros mayores de 2 años, machos y hembras con entrenamiento previo en materia de detección de explosivos pertenecientes a Instituciones Nacionales vinculadas a las fuerzas de seguridad. También fueron incluidos dos perros de adiestradores particulares con entrenamiento en la búsqueda de rastro. En la Tabla 2 se muestran los canes participantes en el ensayo.

Entre el mes de noviembre y diciembre del 2020 se llevó a cabo el ensayo para la detección mediante el olfato canino de muestras de sudor axilar de pacientes con COVID-19 en dependencias de la Facultad de Ciencias Veterinarias (UBA).

Los perros durante las jornadas de trabajo fueron conducidos por sus respectivos guías. El binomio se mantuvo

Tabla 2. Datos de identificación de los perros participantes en el estudio.

N°	Nombre	Raza	Sexo	Edad	Trabajo
1	IRU	Pastor Alemán	Macho (estéril)	2 años	Rastro
2	AKIRA	Pastor Alemán	Hembra	2 años	Detección explosivos (Policía PBA)
3	APOLO	Pastor Belga	Macho	2,5 años	Detección explosivos (Policía PBA)
4	ARGOS	Pastor Belga	Macho	2 años	Detección explosivos (Policía PBA)
5	KINDU	Pastor Alemán	Macho	2 años	Detección explosivos (Policía PBA)
6	ODIN	Pastor Belga (Mallinois)	Macho (estéril)	2 años	Rastro
7	MAIA	Pastor Belga	Hembra	4,5 años	Detección explosivos (Gendarmería)
8	FUSER	Mestizo	Macho (estéril)	7,5 años	Rastro
9	THOR	Labrador	Macho	2 años	Detección explosivos (Prefectura)

PBA: Provincia de Buenos Aires.

a lo largo de todo el ensayo. Los canes tuvieron un período de 28 ± 2 días de adaptación previo al ensayo para lograr nivelar el desempeño del grupo y homogeneizar el modo de trabajo. Durante este tiempo se ejercitó en la disciplina necesaria para ejecutar la modalidad de trabajo elegida (olfación en dispositivos dispuestos en línea, tipo de refuerzos positivos), puntualizando en aspectos vinculados a la estabilidad emocional del can, fomentando la motivación por la búsqueda, y poniendo en práctica un sistema de marcación pasiva con focalización en la fuente odorante. Por otra parte, se evaluó y se reentrenó al conductor, solo en casos necesarios, para lograr tener control permanente de su perro, saber interpretar las señales corporales relacionadas a los estados emocionales de este, poder conducirlo en una búsqueda punto por punto, y tener habilidad suficiente para otorgar el refuerzo.

Las muestras se dispusieron en frascos de vidrio y colocados en soportes de acero inoxidable. Dichos dispositivos

fueron fabricados para el entrenamiento en detección por olfacción, de los canes seleccionados. Las características de dichos soportes se grafican en la Figura 1.

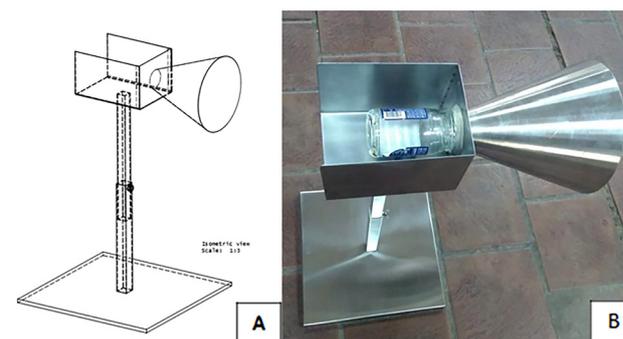


Figura 1. A: Esquema de dispositivo para entrenamiento en detección mediante el olfato. B: Dispositivo de acero inoxidable utilizado durante los entrenamientos.

La ubicación de las muestras en los dispositivos fue de manera aleatoria, con el completo desconocimiento de los guías y los canes en cuanto a su ubicación (ensayo ciego). Un tercer participante (jefe de adiestradores) que se situó por fuera del circuito de detección conocía la ubicación de las muestras. Utilizando un generador de número aleatorios, el jefe de adiestramiento escogía una muestra positiva por ronda de detección y completaba el resto de los dispositivos de olfacción, con muestras negativas elegidas de la misma manera. Se registró toda aquella información vinculada a las muestras y a los resultados de su detección por personal auxiliar que no interfirió con el trabajo de los canes. El guía vocalizaba la marcación que su can realizaba frente a los dispositivos que contenían las muestras. Se tomaba nota de dicha marcación por parte del personal auxiliar que luego de terminada la jornada clasificaba los resultados junto con la información suministrada por el jefe de adiestramiento que conocía la posición de la muestra positiva en cada ronda.

Para cada ronda de detección se registró el número de verdaderos positivos (VP), falsos positivos (FP), verdaderos negativos (VN) y falsos negativos (FN). Los canes realizaron, por jornada de trabajo, entre 3 y 16 rondas de detección durante 18 días de entrenamiento como máximo y 11 como mínimo. En cada ronda se colocaba una única muestra positiva con otras negativas, que podían variar desde 1 a 5 muestras. El refuerzo ante el acierto en la detección de la muestra positiva durante cada ronda fue a través del juego por medio del lanzamiento de una pelota.

Para el análisis estadístico, dichos resultados se ponderaron con el número de muestras positivas de pacientes con COVID-19 y muestras negativas que se ofrecían para cada jornada de trabajo. A partir de estos valores se calcularon la sensibilidad (SE), especificidad (ES), valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN) y el porcentaje de detección (precisión de la prueba).

Para el análisis estadístico se utilizaron los softwares STATISTIX® Inc. e Infostat® versión 2020. Se realizó un test de Normalidad (Shapiro Wilks) para las variables calculadas tomando los valores obtenidos el día 1 del ensayo propiamente dicho (excluyendo los días previos de adaptación). Según su distribución, se comparó mediante un Análisis de Varianza de una vía (Test de Medidas Repetidas de una vía), la diferencia de medias de las variables bajo

estudio teniendo en cuenta los factores tiempo (días en entrenamiento) e individuos participantes (canes detectores). Luego del análisis de varianza se realizó un post-ANOVA mediante comparaciones múltiples utilizando el Test de Tukey. Se comparó a través del Test T-Student los valores de SE, ES, VPP, VPN y el porcentaje de detección con aquellos publicados por otros autores (Jendry et al. 2020). Los resultados obtenidos se expresaron mediante la media aritmética \pm el desvío estándar (DE) y se construyeron intervalos de confianza (95%) para las variables estudiadas. El nivel de significación utilizado fue del 5%.

Con el propósito de evaluar el bienestar animal (BA) durante todo el ensayo (período de adaptación y entrenamiento), se generaron primariamente, indicadores directos e indirectos vinculados a la actividad. Se conformó una planilla de sencilla (Figura 2) respuesta que fue utilizada para evaluar BA en cada perro participante por cada día de trabajo durante el ensayo. La tarea fue llevada adelante por observación directa, y su interpretación estuvo a cargo de un veterinario con conocimiento en BA que participó las jornadas de trabajo. Los indicadores utilizados comprendieron aspectos vinculados a; tiempos y espacios de trabajo y descanso, disponibilidad de agua durante el trabajo, manifestaciones del comportamiento (relación con su guía, conductas de exploración, manifestación de frustración, miedo, ansiedad, angustia, aburrimiento) y presencia de lesiones y enfermedades. Se elaboró una planilla que contenía los indicadores seleccionados para la evaluación de bienestar animal

El proyecto contó con la aprobación del CICUAL (Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Experimentación), bajo el número de protocolo 2020/10.

RESULTADOS

Los resultados de VP, FP, VN y FN obtenidos en las rondas de detección para cada uno de los perros se muestran en la Tabla 3. El total de muestras presentadas a los canes en las rondas de detección durante todo el ensayo fueron de 3.959 de las cuales 1.277 fueron positivas y 2.682 negativas. En la Tabla 3, se exponen la cantidad de muestras positivas que se presentaron para cada can detector durante todo el trabajo.

Tabla 3. Resultados obtenidos durante las rondas de detección para cada canino participante.

ID	PERRO	VP	FP	VN	FN	MUESTRA	MUESTRA	TOTAL DE MUESTRAS
						POSITIVAS	NEGATIVAS	
1	IRU	144	52	303	16	160	355	515
2	ODIN	145	29	335	14	159	364	523
3	FUSER	156	14	315	4	160	329	489
4	THOR	109	34	167	14	123	201	324
5	MAIA	146	46	202	10	156	248	404
6	KINDÚ	130	47	308	13	143	355	498
7	ARGOS	129	32	310	11	140	342	482
8	APOLO	122	28	271	10	132	299	431
9	AKIRA	102	17	172	2	104	189	293
	TOTAL	1183	299	2383	94	1277	2682	3959

ID: identificación can. VP: verdadero positivo. FP: falso positivo. VN: verdadero negativo. FN: falso negativo

De estos resultados se calcularon las variables porcentaje de detección, SE, ES, VPP y VPN. El porcentaje de detección obtenido a lo largo del ensayo, fue del 90,07% \pm 3,72% (IC 95%: 87,64-92,50%). La sensibilidad y especificidad global fue de 92,64% (\pm 3,21%) y 88,85% (\pm 4,64%) respectivamente. El intervalo de confianza del 95% para la SE fue de 90,54-94,74% y para la especificidad fue de 85,82-91,88%. Los valores predictivos positivo (VPP) y negativo (VPN) también fueron evaluados. El VPP fue de 79,82 \pm 6,11% con un IC de 75,82-83,82 %. El VPN fue de 96,21 \pm 1,99% con un IC de 94,91-97,51%.

El test de normalidad (Test de Shapiro Wilks) mostró que todas las variables bajo estudio. Se distribuyeron normalmente ($p > 0,05$).

Con el propósito de analizar el efecto del tiempo de entrenamiento y de los canes detectores sobre las variables bajo estudio, se utilizó un Análisis de Varianza para medidas repetidas y luego un Test de Tukey para comparaciones

múltiples. Los resultados muestran una diferencia significativa vinculada a los días en entrenamiento en todas las variables ($p < 0,05$) observando un incremento en los valores de las mismas conforme transcurren los días de trabajo. En cuanto a los canes, también se evidenció diferencias entre ellos pudiéndose observar que tres fueron los que se destacaron en la obtención de mejores resultados en todas las variables (Fuser, Akira y Odín). El efecto del factor «días de entrenamiento» sobre las variables en estudio puede observarse en la Figura 2. El factor “can” también tuvo impacto en los resultados, permitiendo confirmar que existe una diferencia en el desempeño entre los individuos participantes.

Esta parte del protocolo debe dar mayor a 2. Si da inferior a dos, dos días seguidos, el perro pasara a reevaluación (ver si puede seguir formando parte del proyecto bajo evaluación)					
			SI	NO	Observaciones
Expresión de comportamiento	Responde bien al entrenamiento	¿Responde a un entrenamiento básico, al manejo?	1	0	
	Interacción con su entrenador	El animal tiene una relación positiva con su guía?	1	0	
	Exploración	¿Manifiesta una conducta exploratoria ante nuevos estímulos?	1	0	
	Tiempo que mantiene el entrenamiento entre descansos	Mantiene atención plena en el entrenamiento?	1	0	
Esta parte del protocolo debe dar menor a 2. Si da superior a dos días seguidos, el perro pasara a reevaluación (ver si puede seguir formando parte del proyecto bajo evaluación)					
			SI	NO	Observaciones
Expresión de comportamiento	Frustración, aburrimiento, ansiedad	Reacciona negativamente ante la posibilidad de no encontrar el objeto para el cual se lo está entrenando?	1	0	
		Se presenta ansioso o con incapacidad de concentración en los ejercicios que se les están presentando?	1	0	
		En los periodos fuera del entrenamiento, ¿permanece inactivo?	1	0	
Esta parte del protocolo debe dar menor a 1. Si da superior a uno dos días seguidos, el perro pasara a reevaluación (ver si puede seguir formando parte del proyecto bajo evaluación)					
			SI	NO	Observaciones
Miedo y angustia	Vocalizaciones que demuestran agresión o miedo	Realiza el ejemplar vocalizaciones que demuestran agresión o miedo?	1	0	
	Posturas físicas que denotan agresión o miedo	El ejemplar adopta posturas físicas que denotan agresión o miedo?	1	0	
	Esteretotipias	Se observan movimientos repetitivos, invariables sin función aparente?	1	0	

Esta parte del protocolo debe dar mayor a 3. Si da inferior a 3, el perro pasara a reevaluación (ver si puede seguir formando parte del proyecto bajo evaluación)

			SI	NO	Observaciones
Lesiones y enfermedades	Pelaje	¿Se encuentra el pelaje en condiciones adecuadas? (considerar cantidad, brillo e integridad)	1	0	
	Lesiones/heridas	¿El animal aparece libre de lesiones o heridas? (considerar alopecia, abrasión, sangrado, hematomas)	1	0	
	Locomoción	Deambula el animal sin dificultades (no hay claudicaciones, reticencia al caminar, saltar)	1	0	
	Signos de enfermedad	El animal parece sano a la observación directa, libre de enfermedad	1	0	
Incomodidad	Área de descanso/refugio	El animal cuenta con una apropiada área de descanso y refugio para descansos entre sesiones de entrenamiento, ¿la utiliza?	1	0	
Alimentación	Disponibilidad de agua	¿Cuenta con agua accesible y suficiente en todo momento? ¿Se observa tomar agua de alguno de los bebederos?	1	0	

Figura 2. Indicadores directos e indirectos para la evaluación del bienestar animal de los perros detectores participantes en el ensayo.

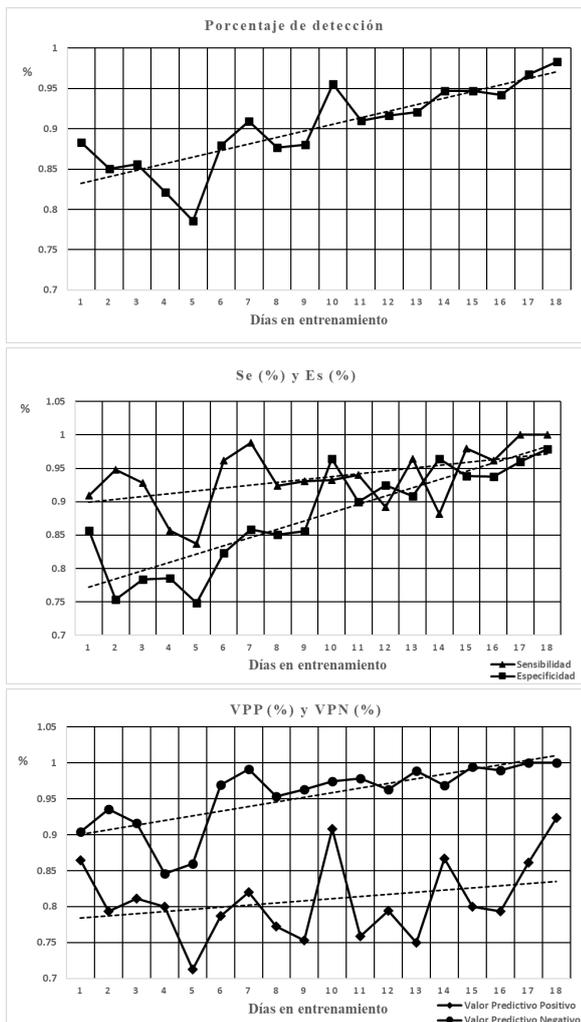


Figura 3. Valores de porcentajes de detección, sensibilidad (Se), especificidad (Es), valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) durante los días en entrenamiento.

El porcentaje de detección obtenido en el presente ensayo resultó menor al publicado por Jendry et al. (2020), ($94 \pm 3,4\%$) al compararlos mediante la prueba de T de Student para una media ($p = 0,0070$). La prueba de T de Student para la media de la SE y ES al compararla con los valores publicados por los investigadores antes mencionados se presentan en la Tabla 4. La SE resultó ser significativamente superior en el trabajo de Jendry et al. (2020). aunque la especificidad fue menor. El VPP de este trabajo fue significativamente menor al VPP al publicado por los otros autores, en cambio el VPN de ambos ensayos fueron coincidentes (Tabla 4).

Tabla 4. Comparación del porcentaje de detección, la sensibilidad, la especificidad, el valor predictivo positivo y el valor predictivo negativo entre el presente estudio y aquel de Jendry et al. (2020).

Variable	Media \pm DE	Hipótesis	Jendry et al. (2020)	P-value
% de detección	90,07 \pm 3,72%	H0: $\mu = 94\%$ H1: $\mu < 94\%*$	94%	$p = 0,0070$ Rechazo H0
Sensibilidad	93,11 \pm 3,14%	H0: $\mu = 83\%$ H1: $\mu > 83\%*$	83%	0,0000 Rechazo H0
	88,52 \pm 4,64%	H0: $\mu = 96\%$ H1: $\mu < 96\%*$	96%	0,0006 Rechazo H0
VPP	80,16 \pm 6,12%	H0: $\mu = 84\%$ H1: $\mu < 84\%*$	84%	0,0482 Rechazo H0
VPN	96,32 \pm 1,99%	H0: $\mu = 96\%*$ H1: $\mu \neq 96\%$	96%	0,6479 No rechazo H0

* hipótesis que no fueron rechazadas por la prueba de T-Student para una media. VPP: Valor predictivo positivo. VPN: Valor Predictivo Negativo

A lo largo del entrenamiento se observó que la SE, ES, VPP y VPN se estabilizaban en valores máximos demostrando que prolongar el periodo de adiestramiento canino supone mayor precisión en la detección.

Los resultados de la evaluación de los indicadores en bienestar animal mostraron que, durante el ensayo, los canes, no manifestaron modificaciones en su comportamiento vinculadas a estrés, ansiedad o frustración.

DISCUSIÓN

La generación de componentes orgánicos volátiles producidos por la interacción del virus con las células de sus huéspedes permite la existencia de un olor específico que puede ser utilizado con fines diagnósticos (Shirasu et al. 2011, Aksenov et al. 2014, Angle et al. 2016b). Las sustancias odoríferas desprendidas del organismo que cursa con COVID-19 han podido ser detectadas por perros entrenados para tal fin. Este hecho pone de manifiesto que es posible discriminar individuos que cursan con la enfermedad de aquellos que no, permitiendo de este modo reducir la diseminación del agente dentro de la población, ya que permite adoptar medidas de manera precoz. La utilización de canes entrenados para poder detectar individuos COVID-19 resulta en una estrategia útil, económica y rápida si se la concibe como una prueba tamiz o screening. El análisis integral de los resultados obtenidos del uso del olfato canino para la detección de muestras positivas de COVID-19 mostró ser una técnica útil como prueba diagnóstica tamiz. Trabajos precedentes han publicado resultados similares y concluyen que es posible utilizar caninos entrenados en terreno para el diagnóstico de personas infectadas por SARS-COV-2 (Grandjean et al. 2020). El porcentaje de detección, la SE, la ES, el VPP y el VPN que arrojó nuestro trabajo son valores aceptables para considerar al uso del olfato canino como técnica diagnóstica. La variabilidad individual de los caninos entrenados otorga la posibilidad de elección de aquel animal que haya obtenido valores altos de las variables calculadas. Aquellos individuos que su performance no ha sido óptima, pueden continuar con su entrenamiento a fin de conseguir los resultados esperados. Sin perjuicio de ello, el uso del olfato canino ha demostrado ser una técnica precisa y robusta para ser utilizada en lugares estratégicos (aeropuertos, estadios, ingresos a lugares de alta concentración de persona, etc.). Con ella se puede testear en un tiempo extremadamente breve y a un costo insignificante, a un alto número de personas. Otros países del mundo han comenzado con su utilización en lugares públicos (Alemania, Chile, Arabia Saudita, Finlandia).

La obtención de una SE mayor a la publicada pudo deberse a que los canes permanecieron un tiempo más prolongados bajo entrenamiento. Esto significó un aumento de la exactitud en la detección de muestras positivas de pacientes COVID-19. Jendry et al. (2020) (utilizaron un protocolo de trabajo de 2 semanas de adaptación a los dispositivos de detección, 5 días de entrenamiento previo a cuantificar resultados y 7 días para el ensayo. En el presente trabajo, el tiempo dedicado a la adaptación/nivelación y al ensayo fueron superiores que el empleado en el trabajo alemán. La especificidad cuyo valor promedio fue menor

al publicado podría deberse a que las muestras negativas fueron provistas, mayoritariamente por personas internadas por otras patologías e incluso por individuos que permanecían en la entidad hospitalaria acompañando a sus familiares. Esta circunstancia generaba que el olor ambiental (“olor a hospital”) estuviera presente en ambos tipos de muestras (positivas y negativas).

Las razas, las edades y los antecedentes de trabajo de los canes que participaron en los ensayos en Argentina, Alemania y Francia fueron prácticamente los mismos. Grandjean y colaboradores utilizaron la raza Pastor Belga Mallinois con edades que fluctuaban entre 1 año y 3 meses hasta los 12 años, situándose la mayoría de ellos en algo menos de 5 años de edad. Jendry et al. (2020) utilizaron las razas: Pastor alemán, Mallinois, Labrador y Cocker Spaniel y las edades fueron en promedio de 5 años. Los perros utilizados en los ensayos francés y alemán fueron canes detectores de explosivos y de rescate en su gran mayoría. Estas características en los canes fueron prácticamente idénticas a aquellas en Argentina. Por lo tanto, se puede suponer que la diferencia de resultados con investigadores alemanes pudo deberse al tiempo empleado en la nivelación previa al ensayo, sumado a los días de entrenamiento. La nivelación permitió realizar con mayor eficiencia, más orden y menos frustración por parte de los canes el ensayo a posteriori de dicha etapa. Los días en entrenamiento permitieron que los canes pudieran fijar el olor de COV's provenientes de las muestras de pacientes con SARS-CoV-2, logrando afianzar su memoria olfativa.

Se concluyó que el factor “días en entrenamiento” tuvo un impacto estadísticamente significativo mostrando una tendencia al aumento de los valores de las variables bajo estudio conforme el entrenamiento se prolongaba.

Finalmente, el análisis de los indicadores de bienestar animal permitió concluir que no existió impacto negativo en los perros por las actividades de trabajo que se ejecutaron durante del proyecto.

La detección de pacientes COVID-19 mediante el olfato canino ha demostrado ser una prueba tamiz confiable y prometedora. Su bajo costo y rapidez en determinar un diagnóstico inicial, hace de esta prueba una alternativa efectiva ante enfermedades de alta contagiosidad y su diagnóstico en terreno.

Agradecimientos: Al Hospital de Clínicas (UBA) por su aporte de muestras y su compromiso con el proyecto. A la Sección explosivos (subsección canes) de las fuerzas de seguridad de la Nación; Policía de la Provincia de Buenos Aires, Gendarmería Nacional y Prefectura Naval Argentina; y a la Escuela de Adiestramiento canino de la Fac. Cs Veterinarias (UBA); por su trabajo impecable con canes y guías durante la ejecución del proyecto.

ORCID

Álvarez, G.: [ID https://orcid.org/0009-0007-7998-9163](https://orcid.org/0009-0007-7998-9163).
Carancci, P.: [ID https://orcid.org/0009-0008-9863-7531](https://orcid.org/0009-0008-9863-7531).
De los Santos, F.: [ID https://orcid.org/0009-0003-0165-2967](https://orcid.org/0009-0003-0165-2967).
Zapata, A.: [ID https://orcid.org/0009-0009-3912-6384](https://orcid.org/0009-0009-3912-6384).
Lorenzo, H.R.: [ID https://orcid.org/0009-0003-8160-0824](https://orcid.org/0009-0003-8160-0824)

REFERENCIAS

1. Aksenov AA, Sandrock CE, Zhao W, Sankaran S, Schivo M, Harper R, Davis CE. Cellular scent of influenza virus infection. *Chembiochem.* 2014; 15(7): 1040.
2. Angle C, Waggoner LP, Ferrando A, Haney P, Passler T. Canine detection of the volatilome: a review of implications for pathogen and disease detection. *Front. Vet. Sci.* 2016a; 3: 47.
3. Angle TC, Passler T, Waggoner PL, Fischer TD, Rogers B, Galik PK, Maxwell HS. Real-time detection of a virus using detection dogs. *Front. Vet. Sci.* 2016b; 2: 79.
4. Biehl W, Hattesoehl A, Jörres RA, Duell T, Althöhn U, Koczulla AR, Schmetzer H. VOC pattern recognition of lung cancer: a comparative evaluation of different dog-and eNose-based strategies using different sampling materials. *Acta Oncol.* 2019; 58(9): 1216-1224.
5. Bijland LR, Bomers MK, Smulders YM. Smelling the diagnosis, a review on the use of scent in diagnosing. *Neth. J. Med.* 2013; 71: 300-307.
6. Bomers MK, van Agtmael MA, Luik H, Vandembroucke-Grauls CM, Smulders YM. A detection dog to identify patients with *Clostridium difficile* infection during a hospital outbreak. *J. Infect.* 2014; 69(5): 456-461.
7. Course CW, Watkins J, Muller C, Odd D, Kotecha S, Chakraborty M. Volatile organic compounds as disease predictors in newborn infants: a systematic review. *J. Breath. Res.* 2021; 15(2): 024002.
8. Grandjean D, Sarkis R, Lecoq-Julien C, Benard A, Roger V, Levesque E, Desquilbet L. Can the detection dog alert on COVID-19 positive persons by sniffing axillary sweat samples? A proof-of-concept study. *PLoS One.* 2020; 15(12): e0243122.
9. Guest C, Pinder M, Doggett M, Squires C, Affara M, Kandeh B, Lindsay SW. Trained dogs identify people with malaria parasites by their odour. *Lancet Infect. Dis.* 2019; 19(6): 578-580.
10. Heather Junqueira CVT, Quinn TA, Biringer R, Hussein M, Smeriglio C, Barrueto L, Ying X. Accuracy of canine scent detection of non-small cell lung cancer in blood serum. *J. Am. Osteopath. Assoc.* 2019; 119(7): 413.
11. Helton WS, Feltovich PJ, Velkey AJ. Skill and Expertise in Working Dogs a Cognitive Science Perspective. In: *Canine Ergonomics: The Science of working dogs.* Ed. CRC Press. c2009. 17-36.
12. Horvath G, Andersson H, Nemes S. Cancer odor in the blood of ovarian cancer patients: a retrospective study of detection by dogs during treatment, 3 and 6 months afterward. *BMC Cancer.* 2013; 13(1): 396.
13. Ibrahim W, Carr L, Cordell R, Wilde MJ, Salman D, Monks PS, Greening NJ. Breathomics for the clinician: the use of volatile organic compounds in respiratory diseases. *Thorax.* 2021; 76(5): 514-521.
14. Jendry P, Schulz C, Twele F, Meller S, von Köckritz-Blickwede M, Osterhaus ADME, Volk HA. Scent dog identification of samples from COVID-19 patients—a pilot study. *BMC Infect. Dis.* 2020; 20(1): 1-7.
15. Kasstan B, Hampshire K, Guest C, Logan JG, Pinder M, Williams K & Lindsay SW. Sniff and tell: the feasibility of using Bio-Detection Dogs as a mobile diagnostic intervention for asymptomatic malaria in sub-Saharan Africa. *J. Biosoc. Sci.* 2019; 51(3): 436-443.
16. Moser E, McCulloch M. Canine scent detection of human cancers: A review of methods and accuracy. *J. Vet. Behav.* 2010; 5(3): 145-152.
17. Ortiz-Prado E, Simbaña-Rivera K, Gómez-Barreno L, Rubio-Neira M, Guaman LP, Kyriakidis NC, López-Cortés A. Clinical, molecular, and epidemiological characterization of the SARS-CoV-2 virus and the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19), a comprehensive literature review. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2020; 98(1): 115094.
18. Shirasu M, Touhara K. The scent of disease: volatile organic compounds of the human body related to disease and disorder. *J. Biochem.* 2011; 150(3): 257-266.