



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

**CONOCIMIENTO, ACTITUD Y PRÁCTICA DE LOS VETERINARIOS EN
CLÍNICA DE CANINOS Y FELINOS SOBRE LA IMPLEMENTACIÓN DE
PRUEBAS BASADAS EN EL ANÁLISIS DE ÁCIDOS NUCLEICOS EN SU RUTINA
DE DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES VIRALES EN EL DISTRITO
METROPOLITANO DE QUITO.**

Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del Título de Médico
Veterinario Zootecnista.

Autor:

Narváez Cevallos Ricardo Napoleón

Tutor:

Mtr. Molina Cuasapaz Gabriel

Latacunga – Ecuador

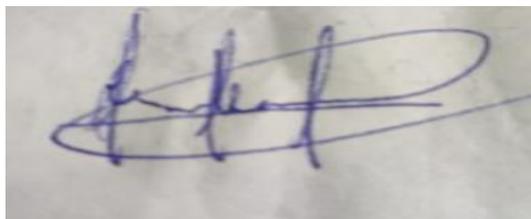
Marzo 2021

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

RICARDO NAPOLEÓN NARVÁEZ CEVALLOS con cédula de ciudadanía No. 1718866682 declaro ser autor del presente proyecto de investigación: “Conocimiento, actitud y práctica de los veterinarios en clínica de caninos y felinos sobre la implementación de pruebas basadas en el análisis de ácidos nucleicos en su rutina de diagnóstico de enfermedades virales en el Distrito Metropolitano de Quito”, siendo el Mtr. Gabriel Molina Cuasapaz tutor del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Además, certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Latacunga, 08 de marzo del 2021



RICARDO NAPOLEÓN NARVÁEZ CEVALLOS

C.I. 1718866682

CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte, **RICARDO NAPOLEÓN NARVÁEZ CEVALLOS** identificado con cédula de ciudadanía N° **1718866682** de estado civil soltero, a quien en lo sucesivo se denominará **EL CEDENTE**; y, de otra parte, Nelson Rodrigo Chiguano Umajinga, en calidad de Rector encargado y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez Barrio El Ejido Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA. - EL CEDENTE es una persona natural estudiante de la carrera de Medicina Veterinaria, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado **“CONOCIMIENTO, ACTITUD Y PRÁCTICA DE LOS VETERINARIOS EN CLÍNICA DE CANINOS Y FELINOS SOBRE LA IMPLEMENTACIÓN DE PRUEBAS BASADAS EN EL ANÁLISIS DE ÁCIDOS NUCLEICOS EN SU RUTINA DE DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES VIRALES EN EL DISTRITO METROPOLITANO DE QUITO”** el cual se encuentra elaborado según los requerimientos académicos propios de la Facultad y las características que a continuación se detallan:

Historial académico. – Inicio de carrera: OCTUBRE 2016 – Finalización de carrera: MARZO 2021

Aprobación Consejo Directivo.- 26 de enero de 2021

Tutor.- Mtr. Gabriel Molina Cuasapaz

Tema: “Conocimiento, actitud y práctica de los veterinarios en clínica de caninos y felinos sobre la implementación de pruebas basadas en el análisis de ácidos nucleicos en su rutina de diagnóstico de enfermedades virales en el Distrito Metropolitano de Quito”

CLÁUSULA SEGUNDA. - LA CESIONARIA es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

CLÁUSULA TERCERA. - Por el presente contrato, **EL CEDENTE** autoriza a **LA**

CESIONARIA a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

CLÁUSULA CUARTA. - OBJETO DEL CONTRATO: Por el presente contrato **EL CEDENTE**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

- a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- b) La publicación del trabajo de grado.
- c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediantetransmisión.
- e) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

CLÁUSULA QUINTA. - El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **LA/EL CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

CLÁUSULA SEXTA. - El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

CLÁUSULA SÉPTIMA. - CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD. - Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **EL CEDENTE** podrá utilizarla.

CLÁUSULA OCTAVA. - LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS. – **LA CESIONARIA** podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **EL CEDENTE** en forma escrita.

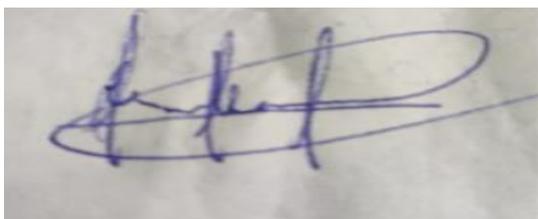
CLÁUSULA NOVENA. - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en la cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta

notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

CLÁUSULA DÉCIMA. - En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

CLÁUSULA UNDÉCIMA. - Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga a los 08 días de Marzo de 2021.



Ricardo Napoleón Narváez Cevallos

EL CEDENTE

PhD. Nelson Chiguano Umajinga

LA CESIONARIA

AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tutor del Proyecto de Investigación sobre el título:

“CONOCIMIENTO, ACTITUD Y PRÁCTICA DE LOS VETERINARIOS EN CLÍNICA DE CANINOS Y FELINOS SOBRE LA IMPLEMENTACIÓN DE PRUEBAS BASADAS EN EL ANÁLISIS DE ÁCIDOS NUCLEICOS EN SU RUTINA DE DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES VIRALES EN EL DISTRITO METROPOLITANO DE QUITO” de Ricardo Napoleón Narváez Cevallos, de la carrera de medicina veterinaria, considero que el presente trabajo investigativo es merecedor del Aval de aprobación al cumplir las normas, técnicas y formatos previstos así como también ha incorporado las observaciones y recomendaciones propuestas en la Pre defensa.

Latacunga, 08 de Marzo del 2021

EDIE GABRIEL Firmado digitalmente
MOLINA por EDIE GABRIEL
CUASAPAZ MOLINA CUASAPAZ
Fecha: 2021.03.10
21:01:07 -05'00'

Gabriel Molina Cuasapaz

DOCENTE TUTOR

CC: 1722547278

Mtr. GABRIEL MOLINA CUASAPAZ

C.I: 1722547278

AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tribunal de Lectores, aprueban el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi, y por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales de la Carrera de Medicina Veterinaria; por cuanto, el postulante Ricardo Napoleón Narváez Cevallos con el título de Proyecto de Investigación: **“CONOCIMIENTO, ACTITUD Y PRÁCTICA DE LOS VETERINARIOS EN CLÍNICA DE CANINOS Y FELINOS SOBRE LA IMPLEMENTACIÓN DE PRUEBAS BASADAS EN EL ANÁLISIS DE ÁCIDOS NUCLEICOS EN SU RUTINA DE DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES VIRALES EN EL DISTRITO METROPOLITANO DE QUITO”** ha considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de Sustentación de Proyecto.

Por lo antes expuesto, se autoriza realizar los empastados correspondientes, según la normativa institucional.

Latacunga, 08 de Marzo del 2021

Lector 1 (Presidenta)

Dra. Mg. Cueva Salazar Nancy Margoth

050161635-3

Lector 2

Dra. Mg. Molina Molina Elsa Janeth

050240963-4

Lector 3 (Secretario)

Dr. Mg. Jorge Washington Armas Cajas

050155645-0

AGRADECIMIENTO

A Dios sobre todo, a mi familia, mi madre Verónica y mis abuelos Juan y Yolanda quienes han sido los tres pilares de mi vida, el apoyo incondicional de ellos no se lo puede describir en palabras.

Un especial agradecimiento a mi tutor Gabriel Molina y a los profesores que me han formado a lo largo de estos 5 años de carrera

Ricardo Napoleón

DEDICATORIA

A mi madre Verónica, quien siempre ha estado a lado mío apoyándome en momentos de flaquezas y logros, a la que le debo la vida y los valores inculcados, la que nunca dejo que faltara nada en la casa para que pueda convertirme en un buen hombre.

Con mucho cariño también se lo dedico a mis abuelos Juan y Yolanda, con los que me crie desde niño hasta la actualidad y siempre aprendo algo nuevo de ellos cada día.

Ricardo Napoleón

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TÍTULO: “Conocimiento, actitud y práctica de los veterinarios en clínica de caninos y felinos sobre la implementación de pruebas basadas en el análisis de ácidos nucleicos en su rutina de diagnóstico de enfermedades virales en el distrito metropolitano de Quito”.

Autor: Narváez Cevallos Ricardo Napoleón

RESUMEN

El poco uso y falta de información sobre técnicas moleculares por parte de los médicos veterinarios han obstaculizado la innovación y actualización del diagnóstico viral en medicina veterinaria. El presente estudio, tuvo como objetivo determinar mediante encuestas los conocimientos, actitudes y prácticas de los veterinarios acerca del diagnóstico molecular en virus para pequeñas especies en la ciudad de Quito, con la finalidad de identificar estrategias para promover el uso del laboratorio molecular. Se elaboró una encuesta con 27 preguntas, la misma que fue realizada de manera online y presencial por la plataforma google forms a médicos veterinarios de la ciudad de Quito. Se realizaron un total de 134 encuestas que cumplieron los criterios para el estudio. Un poco más de la mitad de los encuestados tienen un título de posgrados, no se observó diferencias significativas entre el año de gradación ni la edad de los encuestados. Aproximadamente un 50% de los participantes no tienen buenos conocimientos sobre conceptos de técnicas moleculares, lo que posiblemente se dé a falta de materias en las universidades y cursos acerca de técnicas moleculares. Se evidenció que menos del 30% ha trabajado con técnicas de ácidos nucleicos y que existen comportamientos mixtos sobre el precio de los ensayos moleculares; posiblemente esto se deba a los pocos laboratorios moleculares en la ciudad con los que el veterinario puede trabajar. Por otra parte, más del 98% ha trabajado con otro tipo de diagnósticos convencionales, específicamente kits rápidos siendo ésta una prueba tendencia en el diagnóstico de enfermedades. Positivamente se evidencia que el 98% de los encuestados desearía mejorar sus conocimientos con un curso teórico-práctico.

Palabras claves: Técnicas moleculares, laboratorios moleculares, encuestado.

TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI
FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND NATURAL RESOURCES

TITLE: “Knowledge, attitude and practice of veterinarians in canine and feline clinics on the implementation of tests based on nucleic acid analysis in their routine for the diagnosis of viral diseases in the metropolitan district of Quito”

Author: Narváez Cevallos Ricardo Napoleón

ABSTRACT

The non-use and lack of information on molecular techniques made by veterinarians have impeded the innovation and updating of viral diagnosis in veterinary medicine. This research study aimed to determine through surveys the knowledge, attitudes and practices of veterinarians about molecular diagnosis in viruses for small species in the city of Quito, in order to identify strategies to promote the use of the molecular laboratory. A survey with 27 questions was made and carried out online and in person by the google forms platform to veterinarians in the city of Quito. A total of 134 surveys were conducted that met the criteria for the study. Slightly more than half of the respondents have a postgraduate degree; there were no significant differences between the year of graduation and the age of the respondents. Approximately 50% of the participants do not have a good knowledge of molecular techniques concepts, possibly due to the lack of subject matters in universities and courses on molecular techniques. It was evidenced that less than 30% have worked with nucleic acid techniques and that there are mixed behaviors on the price of molecular assays; possibly this is due to the few molecular labs in the city that the veterinarian can work with. On the other hand, more than 98% have worked with other types of conventional diagnoses, specifically rapid kits, this being a trend test in the diagnosis of diseases. It is positively evident that 98% of the respondents would like to improve their knowledge with a theoretical- practical course.

Keywords: Molecular techniques, molecular laboratories, respondent.

ÍNDICE DE PRELIMINARES

DECLARACIÓN DE AUTORÍA	ii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR.....	iii
AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	vi
AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	vii
AGRADECIMIENTO.....	viii
DEDICATORIA	ix
RESUMEN.....	x
ABSTRACT	xi

INDICE DE CONTENIDO

1. INFORMACIÓN GENERAL	1
Título del proyecto:.....	1
2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO	2
3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO	2
3.1. Directos:	2
3.2. Indirectos:.....	2
4. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	3
5. OBJETIVOS	3
5.1. General.	3
5.2. Específicos.....	3
6. MARCO TEÓRICO.....	4
6.1. Antecedentes de técnicas de diagnóstico en enfermedades virales	4
6.2. Análisis de técnicas basadas en ácidos nucleicos para el diagnóstico veterinario	6
6.3. Principales enfermedades virales en clínica de especies menores	7
6.3.1. Virus del Distemper Canino (CDV).....	7
6.3.2. Parvovirus Canino (CPV)	8
6.3.3. Adenovirus Canino Tipo 2 (CAV-2).....	8
6.3.4. Virus de la Panleucopenia Felina (FPV)	8
6.3.5. Herpes virus felino (HVF).....	9
6.3.6. Calicivirus Felino (FCV)	9
6.3.7. Virus de la inmunosuficiencia felina (FIV)	10
6.3.8. Coronavirus Canino (CVC).....	10
6.3.9. Virus de la Leucemia felina (FeLV)	10
6.4. Técnicas de diagnóstico convencionales en clínicas veterinarias	11
6.4.1. Aplicación de nuevas técnicas de diagnóstico molecular en la medicina veterinaria	11
6.5. LAMP (historia, concepto, aplicación)	12
7. MATERIALES Y MÉTODOS.....	14
7.1. Tipo de Estudio	14
7.2. Población encuestada	14
7.3. Herramientas del diseño	14
7.3.1 Encuestas CAP.....	14

7.3.2	Aplicación de la encuesta	INDICE DE CONTENIDO	14
8.	RESULTADOS		15
8.1.	Preguntas de criterio personal y social		15
8.2.	Conocimiento de los médicos veterinarios frente a las técnicas moleculares		17
8.3.	Actitud de los médicos veterinarios frente a las técnicas moleculares		21
8.4.	Práctica de los encuestados		24
9.	DISCUSIÓN		26
10.	IMPACTOS		31
10.1.	IMPACTO SOCIAL		31
10.2.	IMPACTO ECONOMICO		32
11.	CONCLUSIONES		32
12.	RECOMENDACIONES		33
13.	BIBLIOGRAFÍA		34
14.	ANEXOS		38
14.1	ANEXO 1		38
14.2	ANEXO 2		39

ÍNDICE DE IMÁGENES

Imagen 1 Usuarios de facebook por edades, diario Primicias 2020	27
Imagen 2 Posgrados en función de año de pregrado, (Narváez 2021).....	27
Imagen 3 Resultados de las preguntas con respecto a la sensibilidad y a la especificidad (Narváez 2021)	28
Imagen 4 Resultados de las preguntas con respecto a las enfermedades con diagnóstico de laboratorio (Narváez 2021).....	29
Imagen 5 Considera que sus conocimientos sobre análisis de ácidos nucleicos es: 1 muy bajo; 2 bajo; 3 regular; 4 alto; 5 muy alto (Narváez, 2021).....	30
Imagen 6 Participantes dispuestos a recibir un curso de técnicas moleculares (Narváez 2021)	30

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Año de graduación (Narváez 2021).....	16
Tabla 2 Estudios Superiores (Narváez 2021)	16
Tabla 3 Edad del médico veterinario (Narváez 2021)	16
Tabla 4 Cargo en la clínica (Narváez 2021)	17
Tabla 5 La sensibilidad de una prueba para el diagnóstico de laboratorio que proporción representa (Narváez 2021)	17
Tabla 6 La especificidad de una prueba para el diagnóstico de laboratorio se representa por la proporción de: (Narváez 2021).....	18
Tabla 7 Es posible diferenciar entre la secuencia de ADN de un canino y del Distemper canino (Narváez 2021)	18
Tabla 8 El genoma de animales, bacterias y virus se encuentra diferenciado en (respuesta ADN o ARN) (Narváez 2021)	18
Tabla 9 ¿Es posible identificar el agente patógeno únicamente utilizando el ADN o ARN (sin analizar anticuerpos o proteínas)? Respuesta: Verdadero (Narváez 2021)	19
Tabla 10 Enfermedades que se considere necesitan pruebas de laboratorio para su diagnóstico (Respuesta: varias opciones) (Narváez 2021)	20
Tabla 11 Considera que sus conocimientos sobre análisis de ácidos nucleicos es: 1 muy bajo; 2 bajo; 3 regular; 4 alto; 5 muy alto (Narváez 2021).....	21
Tabla 12 ¿Cuál es la característica de mayor peso al escoger utilizar una prueba para el diagnóstico de laboratorio? (Narváez 2021).....	21
Tabla 13 Estaría interesad@ en un curso de actualización en técnicas de análisis de ácidos nucleicos para el diagnóstico veterinario? (Narváez 2021)	22
Tabla 14 En caso de responder que SI (a la pregunta 26), quisiera que este curso sea (Narváez 2021)	23
Tabla 15 De las siguientes pruebas para el diagnóstico de laboratorio basado en análisis de ácidos nucleicos, señale las que conoce. (Narváez 2021).....	23
Tabla 16 ¿Cuál estima que es el precio de una prueba para el diagnóstico de laboratorio basada en análisis de ácidos nucleicos con una sensibilidad y especificidad superior al 95%? (Narváez 2021).....	24
Tabla 17 De las siguientes pruebas de laboratorio señale las que utiliza en su práctica actual (Narváez 2021)	24
Tabla 18 ¿Ha empleado alguna de las pruebas de laboratorio basado en análisis de ácidos	

nucleicos durante su rutina de diagnóstico? (Narváez 2021).....	25
Tabla 19 De haber respondido SI (a la pregunta 15), indique cual prueba para el diagnóstico de laboratorio ha usado (Narváez 2021).....	25
Tabla 20 De haber respondido SI (a la pregunta 16), califique de 1 a 5 su utilidad. Siendo: 1 inútil; 2 poco útil; 3 regular; 4 útil; 5 muy útil. (Narváez 2021).....	25
Tabla 21 De haber respondido NO (a la pregunta 16), indique cual es la razón (Narváez 2021)	26

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1 Test rápido basado en inmunocromatografía ²⁹	11
--	----

1. INFORMACIÓN GENERAL

Título del proyecto: “Conocimiento, actitud y práctica de los veterinarios en clínica de caninos y felinos sobre la implementación de pruebas basadas en el análisis de ácidos nucleicos en su rutina de diagnóstico de enfermedades virales en el distrito metropolitano de Quito”.

Fecha de inicio: Noviembre 2020

Fecha de finalización: Febrero 2021

Lugar de ejecución: Distrito Metropolitano de Quito

Facultad que auspicia: Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

Carrera que auspicia: Medicina Veterinaria

Proyecto de investigación vinculado: A la aceptación de los médicos veterinarios sobre técnicas moleculares en la ciudad de Quito

Equipo de Trabajo de investigación:

Ricardo Napoleón Narváez Cevallos (Anexo 1)

Dr. Edie Gabriel molina Cuasapaz (Anexo 2)

Área de Conocimiento: Laboratorio – Veterinaria

Línea de investigación: Salud animal

Sub líneas de investigación de la Carrera: Microbiología, Parasitología, Inmunología y Sanidad animal.

2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

Las enfermedades infecciosas virales como la parvovirus, el distemper canino, la VIF entre otras tienen una gran tasa de mortalidad en el país y son de las más contagiosas entre las especies ya mencionadas, en muchas de estas enfermedades no existe un tratamiento asertivo ya que solo se puede contar con tratamientos paliativos.

Para controlar las diferentes enfermedades infecciosas (EI) es muy importante un diagnóstico temprano y correcto.

En el Ecuador, los exámenes de diagnóstico conocidos como kit de test rápidos son los más utilizados para la detección de las E.I. (Detectan anticuerpos y/o antígenos), tienen una rapidez entre 8 a 20 minutos para arrojar resultados pero presentan una menor especificidad y sensibilidad con respecto a una técnica molecular. Es por esta razón, que el método molecular podría ser el más eficaz y factible para la detección de E.I. en canes y félidos ya que busca la presencia de moléculas específicas del ADN del antígeno permitiendo un mejor resultado para el diagnóstico.

En el presente trabajo de investigación se ha determinado el conocimiento, actitud y práctica de los métodos moleculares en el diagnóstico de las enfermedades que se presentan con mayor frecuencia en las clínicas veterinarias de Quito.

3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO

3.1. Directos:

- Médicos veterinarios dispuestos a implementar y conocer nuevos métodos de técnicas moleculares para su diagnóstico en clínica de pequeñas especies.
- Propietarios que deseen trabajar con métodos moleculares para la detección de enfermedades virales en las mascotas.
- Mascotas que recibirán un diagnóstico más oportuno y rápido ante enfermedades virales.

3.2. Indirectos:

- Estudiantes de la carrera de MEDICINA VETERINARIA que deseen conocer el grado de aceptación, conocimiento y actitud ante el uso de las técnicas moleculares en la ciudad de Quito.
- Población en general que se verá beneficiada de forma colateral ante el estudio de

técnicas moleculares en el Distrito Metropolitano de Quito.

4. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

La precisión del diagnóstico de diversas patologías depende de: la anamnesis, el examen clínico y pruebas de laboratorio realizadas a los pacientes. En la práctica diaria, muchas clínicas veterinarias en el Ecuador, han optado por realizar los comúnmente llamados Kit de Test rápido para el diagnóstico de diferentes enfermedades virales, principalmente por su costo más asequible. Sin embargo, se ha reportado incidencia de resultados falsos ¹. Si se obtienen resultados cuestionables, se deben realizar otras pruebas de confirmación.

Por otro lado, las pruebas moleculares disponibles para detectar la infección por virus en animales de compañía incluyen los ensayos moleculares de detección rápida, la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) entre otras pruebas de amplificación de ácido nucleico. Estas pruebas pueden detectar el ADN o ARN viral en especímenes con alta sensibilidad y especificidad. En particular, la detección de ADN o ARN viral por medio de estos inmunoensayos moleculares no siempre indica la viabilidad del virus o la continua replicación viral. Cabe recalcar que la implementación de estas técnicas representa un costo económico elevado.

En consecuencia, en Ecuador la mayoría de las clínicas y hospitales veterinarios no cuentan con el equipo de detección molecular necesario para el análisis y observación de los diferentes patógenos virales que afectan a las mascotas.

5. OBJETIVOS:

5.1.General.

Valorar el conocimiento actitud y práctica de los veterinarios en clínica de caninos y felinos sobre la implementación de pruebas basadas en el análisis de ácidos nucleicos en su rutina de diagnóstico en la ciudad de Quito.

5.2.Específicos.

- Determinar el grado de aceptación a utilizar en las pruebas basadas en ácidos nucleicos para el diagnóstico.
- Complementar el conocimiento acerca de técnicas moleculares para el diagnóstico de enfermedades infecciosas virales.
- Incentivar el uso de las pruebas moleculares en la práctica de diagnóstico común en clínica de caninos y felinos.

6. MARCO TEÓRICO

6.1. ANTECEDENTES DE TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO EN ENFERMEDADES VIRALES

Determinar el agente causal de las enfermedades ha sido una inquietud reportada desde los primeros registros de la humanidad. Sin embargo, se ha conseguido este fin hace muy poco, exactamente en el siglo pasado. De hecho, se ha aplicado medidas de prevención como la vacunación antes de identificar el agente causal. Por ejemplo, la viruela.²

Existían diversas teorías relacionadas al origen de las enfermedades virales, entre ellas la más acertada sería la que mencionaba que un patógeno microscópico más pequeño que una bacteria común podía ser el causante de la enfermedad.³

En el año 1892, el microbiólogo Dmitry Ivanovski realizó pruebas usando el filtro Chamberland para la detección del virus del mosaico de tabaco, resultando en que las plantas después de pasar por el filtro seguían siendo infecciosas. No fue hasta 1898, que el microbiólogo Martinus Beijerinck repitió los experimentos y quedó convencido que la savia del tabaco filtrada era la que contenía una nueva forma de agente infeccioso.

Martinus determino que el patógeno se multiplicaba solamente en células que se estaban dividiendo; llamando a este proceso como “*contagium vivum fluidium*” (germen viviente soluble) y usó la palabra “virus” para describirlo. No obstante, el autor Wendell Meredith Stanley, probó que eran partículas y no fluidos como afirmaba Beijerinck⁴.

En este mismo año, los virus fueron identificados según los autores Loeffler y Paul Frosch como agentes filtrables, descubriendo el agente responsable de la fiebre aftosa⁵. La primera época del diagnóstico viral fue marcado por el uso de anticuerpos⁶. La fijación del complemento fueron descritas en 1929 para diversos virus por el microbiólogo británico Samuel Bedson³. A partir de 1931, se fotografiaron las primeras imágenes de los virus, gracias a Ernst Ruska y Max Knoll y así se descubrió el aspecto que tienen⁷.

En el año 1948 Weller y Enders desarrollaron el cultivo celular para las paperas y la influenza sin olvidar el descubrimiento del virus de la polio en medicina humana, tiempo después el virus de la poliomielitis fue cultivado por primera vez en el año de 1949 en células embrionarias humanas sin usar tejidos animales. Posteriormente en los años 50 se creó un nuevo método llamado inmunofluorescencia⁸.

La microscopía de electrones (ME) se creó en 1959 por los autores Brenner y Home, que

usando un método simple y rápido como la tinción negativa se detectaron los primeros virus. Una importante mejora para la ME ocurrió cerca de 1967, cuando se usaron anticuerpos específicos para la detección del virus de la rubeola gracias a Best y sus colegas que detallaron el uso de un anticuerpo específico. Esta técnica permite identificar morfológicamente y describe un diagnóstico diferencial de distintos virus ².

En 1975 se representaron pruebas basadas en anticuerpos que permitieron la detección de virus ⁹. En los años 70, se describió el método Southern Blot que dio inicio a las pruebas moleculares, en tal virtud ahora podemos usar ácidos nucleicos radioetiquetados con secuencia de ADN específicas.

Posteriormente, se realizaron métodos relacionados tales como el método Northern Blot, los polimorfismos de restricción de longitud del fragmento (RFLPs) y refinamientos del método original; sin embargo, los métodos poco convencionales como el de Southern y el mismo Northern Blot no fueron bien implementados en los laboratorios de diagnóstico clínico debido a que son lentos, costosos y en aquel momento eran aún más complicados ya que requerían usar radionucleicos para visualizar los resultados⁹.

En 1983, el PCR fue descrito por el PHd Kary Mullis, como un método para multiplicar ácidos nucleicos y sintetizar grandes cantidades de una hebra de ADN diana específico. Durante los siguientes dos años, un equipo de científicos de la Corporación CETUS, investigó y tecnificó el proceso teórico del PCR reconociendo su impacto potencial ¹⁰.

La enzima polimerasa usada para la técnica PCR era la ADN-polimerasa de la E.coli, pero tenía varios defectos ya que no era termoestable. En aquel momento, la PCR era realizada a mano; los tubos se movían manualmente entre baños de agua maría a distintas temperaturas para completar cada ciclo y era necesario añadir el ADN polimerasa fresca después de cada ciclo, ya que no existían polimerasas termoestables¹⁰.

En 1988 se introdujeron las polimerasas termoestables, mejorando la especificidad de la PCR ya que se podía usar temperaturas de ciclado más altas.¹⁰ En este mismo año, se describió la PCR de transcripción inversa (RT-PCR) lo que hizo posible fijar como objetivos a los virus de ARN. Al pasar el tiempo, la PCR se aplicó a la detección al virus del papiloma humano según el artículo ¹¹ y la RT-PCR se aplicó para el diagnóstico del virus de inmunodeficiencia

humana tipo 1¹⁰. Paralelamente, se comenzaron a hacer estudios con pruebas multiplex de diferentes formas de virus de la influenza, pero no fue, sino después unos años que se lo presentó al público¹².

La RT-PCR que muestra los resultados a medida que la reacción avanza fue creada por Heid, Stevens, Livak y Williams en 1996 y la aplicaron en el diagnóstico viral en 1999, realizando pruebas para el virus del simio 40 (SV40) y hepatitis B¹². Desafortunadamente, los métodos basados con la PCR no se adoptaron eficazmente dentro de los laboratorios clínicos para un diagnóstico eficaz.

En la medicina avícola, alrededor de los años 90 se introdujo el PCR para la detección de diferentes patógenos virales como el virus de la anemia infecciosa en los pollos, el virus de la bronquitis viral, el virus de la bursitis viral infecciosa, el virus de Marek, el virus de la laringotraqueitis infecciosa y el de la leucosis aviar⁵. Pruebas complementarias por Horimoto y Kawoaka con RT-PCR en el año 1995, ayudaron a amplificar el ácido nucleico de la hepatitis aviar (HA) para evaluar el patotipo y no para la detección del virus como principalmente fue creada la RT-PCR¹³.

Se reportó que en el año 2011 había alrededor de 350 compañías que fabricaban diferentes técnicas moleculares in vitro. Hasta ese mismo año el 79% del mercado que realizaba pruebas moleculares se encontraba en Estados Unidos y Europa.

6.2. ANÁLISIS DE TÉCNICAS BASADAS EN ÁCIDOS NUCLEÍCOS PARA EL DIAGNÓSTICO VETERINARIO

En el mercado hay pocas pruebas con un buen nivel de sensibilidad, especificidad y rapidez disponibles para el médico veterinario contemporáneo. Las nuevas tecnologías van muy subdesarrolladas para los estándares de la medicina moderna, de tal manera que las últimas tecnologías no van de la mano con la práctica diagnóstica del veterinario.

Los investigadores tienen que enfrentar numerosas barreras para adoptar nuevas tecnologías. Citando a la Organización Mundial de la Salud, las pruebas de diagnóstico deben poseer sensibilidad, especificidad, bajo costo, simplicidad, rapidez, adaptabilidad a la temperatura y fácil disponibilidad¹⁴. Los laboratorios veterinarios alrededor del mundo son variados y cambian constantemente por lo que no existe un método que asigne una estandarización. Sin embargo, tanto en medicina veterinaria como en medicina humana dos métodos sumamente

usados en diagnóstico molecular son el PCR convencional y el RT-PCR¹⁵.

En países desarrollados, la salud pública veterinaria contempla pruebas de diagnóstico molecular en formas comerciales que requieren alguna forma de certificación del país; los ejemplos más claros son en los Estados Unidos que requieren aprobación de la Administración de Alimentos y Fármacos (FDA), mientras que en Europa requieren la marca CE-IVD¹⁶. Cabe mencionar que la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) recomienda métodos específicos para los agentes que provocan enfermedades conocidas.

En la ciudad de Quito, si bien existen laboratorios de técnicas moleculares como en la Universidad Central del Ecuador o en Agrocalidad¹⁴, en donde trabajan con PCR tradicional, no llega a ser un número significativo ni a cubrir una cierta demanda de pedidos para técnicas moleculares en la ciudad.

6.3. PRINCIPALES ENFERMEDADES VIRALES EN CLÍNICA DE ESPECIES MENORES

Las enfermedades de origen virales en caninos y felinos son la causa más frecuente de consultas veterinarias con relación a las patologías infecciosas y muchas veces no se tiene un diagnóstico definitivo a tiempo, lo que produce que los diferentes cuadros de las enfermedades se compliquen llevando en algunos casos a la muerte del paciente. A diario, las mascotas se ven expuestas a diferentes patologías de origen virales.

A continuación se detallan las enfermedades virales descritas en la pregunta 12 del cuestionario realizado para el presente estudio¹⁷.

6.3.1. Virus del Distemper Canino (CDV)

El Distemper proviene de la familia paramixoviridae de género Morbilivirus. Está formado por una cadena de ARN y la enfermedad puede causar problemas multisistémicos hasta afectar el sistema nervioso central (SNC). Los perros no son los únicos animales afectados, otros caninos, mapaches y hurones pueden verse comprometidos, los principales sistemas afectados son: el respiratorio, digestivo, nervioso y en algunos casos el tegumentario¹⁸. Es un problema

muy común que en los albergues para perros exista una prevalencia del virus ya que muchos de ellos no están vacunados. Si se ha podido reducir la tasa de contagios de este virus, es gracias a la vacunación masiva que existe en Ecuador, pero esto no significa que la población canina esté exenta de nuevos rebrotes.

6.3.2. Parvovirus Canino (CPV)

La parvovirus tuvo sus primeros reportes en el año 1977, pero la enfermedad comenzó a tomar nombre cuando en 1978, en Estados Unidos se identificó esta patología caracterizada por producir vómitos y diarreas severas, síntomas que aparecieron de manera espontánea, produciendo pérdidas en los criaderos de perros, debido a una alta tasa de morbilidad y mortalidad ¹⁹. La enfermedad es producida por un virus miembro de la familia Parvoviridae, que se transmite exclusivamente entre caninos. Existen varios reportes donde se menciona que afecta a varias especies de caninos incluyendo variedades raras de zorros y coyotes.

El parvovirus se presenta de dos maneras importantes: de forma entérica y de forma miocárdica. De forma entérica muchos animales logran recuperarse aún sin tratamiento, mientras que en su forma miocárdica existen una gran tasa de mortalidad ²⁰. Para ambos casos, existen pruebas serológicas que sugieren la posibilidad de que en algunos perros la infección sea subclínica; por lo que los animales infectados representan un importante foco de infección ¹⁹.

6.3.3. Adenovirus Canino Tipo 2 (CAV-2)

El CAV-2 es un virus de doble cadena que afecta a perros con una traqueobronquitis, muchos autores lo nombran como tos de las perreras ²¹. La transmisión se da de forma oro-nasal, aunque también se puede transmitir de manera oro-fecal. Al entrar al cuerpo el virus se disemina en los macrófagos y viajan a diferentes órganos como ojos, bazo y pulmones. La infección es transitoria y muchos animales contagiados pueden curarse aun sin tratamiento ²¹.

6.3.4. Virus de la Panleucopenia Felina (FPV)

Es un virus pequeño de la familia del parvovirus con cadena ADN aislado por primera vez en 1981 en Chile ²². Es muy resistente ya que sobrevive un año a temperatura ambiente y resiste 56°C hasta 30 minutos. No posee envoltura por lo que tiene mayor aguante siendo invulnerable al alcohol al 70%, al yodo orgánico, fenoles y al amonio cuaternario ²². Se lo puede inactivar

con hipoclorito de sodio al 6%, formaldehidos al 4% y glutaraldehidos al 1% en 10 minutos de temperatura ambiente ²².

El virus se adhiere a las células del tejido linfoide y en la médula ósea produciendo síntomas de panleucopenia. También lo podemos encontrar en el tejido digestivo en las paredes de la mucosa intestinal y en las células de división rápida del feto lo que puede producir una muerte fetal y su posterior reabsorción. Produce una viremia primaria con una predilección por las células de división rápida lo que afectará el desarrollo de los animales más jóvenes ²³.

6.3.5. Herpes virus felino (HVF)

Es un virus de ADN que es muy sensible al ambiente ya que no puede vivir más de 24 horas fuera del huésped. Se aloja en células del sistema respiratorio con un período de incubación entre 2 y 17 días con un tiempo de enfermedad de hasta 4 semanas.

Se transmite de forma horizontal, y la expulsa el gato al estornudar; del 80 al 90% de los gatos quedan como portadores por al menos un año ya que el virus se queda en un estado de latencia en los ganglios trigéminos ubicados en el rostro del animal. Las formas de diagnóstico más convencionales son observando cuerpos intracelulares en células conjuntivales. Otro tipo de diagnóstico más costoso es el uso de PCR e inmunofluorescencia indirecta. ¹⁷

6.3.6. Calicivirus Felino (FCV)

El virus presenta diferentes sintomatologías, desde una forma asintomática pasando por una infección respiratoria superior, ulceración oral, cojeras y neumonía. En el año 2000, se encontró una cepa que también produce un cuadro sistémico por lo que fue llamado Calicivirus sistémico virulento (VS-FCV) ²⁴. El VS-FCV produce una mortalidad elevada, con cifras de hasta un 67% en gatos adultos ya que provoca una severa respuesta inflamatoria sistémica con cuadros respiratorios de vías altas, úlceras orales y fiebre, produce daño tegumentario como la aparición de edemas cutáneos y úlceras diseminadas en el cuerpo. En casos más graves existe una icterisia por daño hepático, edema pulmonar, neumonía, coagulación intravascular diseminada, ascitis y efusión pleural ²⁴.

6.3.7. Virus de la inmunodeficiencia felina (FIV)

Es un lentivirus que fue descubierto en California cuando fue aislado por el autor Pederse en el año 1987. Al principio se nombró al virus como Virus Felino T-linfotropo (FTLV), por su aislamiento a partir de linfocitos en el torrente sanguíneo de vasos periféricos en gatos infectados y por su afinidad a los linfocitos T felinos. Posteriormente, los denominaron FIV ya que produce una inmunodeficiencia en gatos domésticos ²⁵.

Se puede sospechar de la infección en gatos con procesos y manifestaciones clínicas de curso crónico a nivel de la boca, tracto intestinal, sistema nervioso, piel, etc., especialmente en animales adultos y negativos al virus de la leucemia felina FeLV.

6.3.8. Coronavirus Canino (CVC)

Es un virus envuelto, monocatenario formado por una cadena de ARN, produciendo enfermedades respiratorias y gastrointestinales en caninos. Existen tres variantes de este virus: coronavirus canino (CoVC), tipo I (CoVC-I) y tipo II (CoVC-II), correspondientes al grupo antígeno 1 de género Alphacoronavirus ²⁶. La transmisión es por medio de aspiración de partículas de vómito, heces o alimento contaminado, el período de incubación es de 1 a 4 días y la mayoría de perros se recuperan entre 7 y 10 días post infección. El virus ha sido aislado en tejidos diferentes y muy pocas veces ocurre una enfermedad sistémica. ²⁶

6.3.9. Virus de la Leucemia felina (FeLV)

Es un virus gamma-retrovirus que afecta a gatos domésticos y rara vez a felinos salvajes²⁷. La forma común de contagio es por transmisión horizontal y por la leche de felinos infectados. La enfermedad presenta neoplasias y fisiopatologías reproductivas, existen varias pruebas de laboratorio con las que se puede detectar el FeLV, aquí se destacan el método ELISA, la inmunocromatografía y el PCR ²⁷. Los tratamientos para la FeLV son paliativos, existen estudios con medicamentos antivirales pero aún se encuentran en investigación. La importancia de la vacunación es fundamental para evitar una propagación masiva.

6.4. TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO CONVENCIONALES EN CLÍNICAS VETERINARIAS

El diagnóstico de laboratorio convencional se basa en el uso de antígenos y/o anticuerpos para la detección de la enfermedad. Si bien tienen una aceptación muy grande en la ciudad de Quito, no son ni los más precisos, ni específicos, ni sensibles de los exámenes de laboratorio que existen. El más utilizado de estos métodos por los médicos veterinarios es el denominado kit de test rápido, el mismo que está basado en la prueba de inmunocromatografía que contiene tres partes básicas y fundamentales: el sample, sección conjugada, el test y el control.

El sample es la zona donde se adhiere la muestra, y por capilaridad el antígeno se fija al anticuerpo que se encuentra en la sección conjugada, para posteriormente bajar a la sección test donde se unirá a una enzima orocoloidal para marcar el resultado en el caso de ser positivo; si la muestra es negativa el anticuerpo no se unirá a ningún antígeno. Los kit rápidos siempre poseen un exceso de anticuerpos, los cuales después de pasar la sección test se unirán a una enzima que mostrará el resultado marcando una franja en el control si el test se lo realizó correctamente o no existen fallas en la fabricación del kit rápido ²⁸.

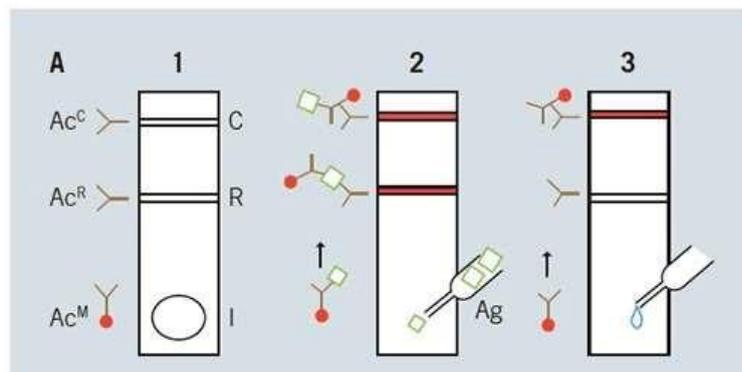


Ilustración 1 Test rápido basado en inmunocromatografía²⁹

6.4.1. APLICACIÓN DE NUEVAS TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO MOLECULAR EN LA MEDICINA VETERINARIA

Los laboratorios clínicos han encontrado nuevas formas de diagnóstico para las diferentes enfermedades infecciosas con una mayor especificidad, sensibilidad y rapidez que pruebas convencionales de antígeno y/o anticuerpo.

El diagnóstico molecular ha evolucionado desde el siglo XX, la existencia de varias enfermedades tanto de origen vírico, bacteriano, parasitario o fúngico han hecho que el médico veterinario busque una nueva forma de diagnóstico igual de exactos que métodos convencionales como la inmunocromatografía que viene en los kit rápidos. Las técnicas moleculares basadas en cadenas de ácidos nucleicos son ahora una herramienta fundamental³⁰.

La técnica de amplificación isotérmica mediada por bucle o LAMP es una prueba eficaz y sumamente fácil de utilizar, al igual que el PCR convencional. La LAMP amplifica los fragmentos del ADN diana, lo que permite la detección de patógenos con una gran sensibilidad y especificidad. Esta técnica se muestra como un proceso isotérmico (una sola temperatura que es constante) lo que compone una ventaja fundamental frente a la PCR, ya que no necesita de termocicladores para la elaboración del proceso molecular. La LAMP utiliza una enzima polimerasa (bst polimerasa) que desplaza la cadena de ADN y a la vez produce la polimerización. El nivel de sensibilidad, especificidad y rapidez de la LAMP es superior a pruebas de PCR, adicionalmente, esta técnica amplifica el patógeno mostrándonos un carácter cualitativo para la visualización directa de la reacción, por la liberación de un coloide de pirofosfato. La LAMP también puede mostrarse cuantitativamente y depende del autociclado de la cadena de ADN polimerasa¹⁴.

6.5. LAMP (historia, concepto, aplicación)

Para principios del siglo XXI, Notomi y sus colaboradores, publicaron por primera vez una descripción del LAMP, que no es más que una técnica molecular basada en la amplificación de los ácidos nucleicos en un período isotérmico constante. Notomi insistió en que la LAMP señala una bioquímica sumamente precisa, con una alta sensibilidad, con resultados cualitativos sin la inversión de equipos sumamente costosos. Por el momento, una de las más grandes empresas que se dedica a la facturación de los implementos del LAMP es Eiken Chemical Company, Ltd.⁷.

Este método amplifica el ADN y/o ARN con una alta sensibilidad, especificidad y rapidez usando la enzima Bts polimerasa y no la comúnmente usada en PCR, Taq polimerasa. También mantiene condiciones de temperatura constante (entre 60°C y 65°C) para amplificar el ADN diana en condiciones isotérmicas³¹.

Una de las principales ventajas del LAMP comparándola con el PCR, es que no requiere un termociclador y se pueden usar dispositivos simples de regulación térmica como baño maría o un termobloque según Notomi ³¹. La LAMP utiliza de 4 a 6 cebadores (secuencias corta de ADN de cadena simple que se utiliza en una reacción molecular) externos (F3 y B3), dos internos (FIC y F2), y BIP (B1C Y B2) que mantiene una secuencia tanto sentido como antisentido formando un bucle, sin dejar de mencionar 2 cebadores bucle F(FLP) y B(BLP)²⁹. Estos cebadores aceleran el proceso de replicación reconociendo 8 secuencias distintas del ácido nucleico diana³¹.

Los cebadores internos son llamados Forward Inner Primer (FIP) y Bac-kward Inner Primer (BIP), respectivamente, cada uno contiene dos secuencias diferentes que corresponden a las secuencias sentido y antisentido del ácido nucleico blanco, uno para cortar en la primera etapa y el otro para auto dividirse en siguientes etapas. Las secuencias (23-24 nucleótidos típicamente) dentro de ambos extremos de la región blanco para la amplificación en un ADN son denominadas F2c y B2, respectivamente. Dos secuencias internas (23-24 nucleótidos típicamente) a 40 nucleótidos de los extremos de F2c y B2 son designadas F1c y B1 y dos secuencias (17-21 nucleótidos) externas a los extremos de F2c y B2 son denominadas F3c y B3. ³²

En el caso de los cebadores internos: FIP contiene F1c, un espaciador de TTTT y la secuencia F2 complementaria a F2c mientras que BIP contiene una secuencia B1c que integrara a B1, un espaciador de TTTT y a B2. Los dos cebadores externos consisten en B3 y la secuencia F3 complementaria a F3c.³²

Un buen primer debe contener una relación guanina-citosina (GC) de los aproximadamente del 50-60% y alrededor de 40-50 % para la relación adenina-timina (AT). Un buen cebador no debe formar fácilmente estructuras secundarias. La secuencia del extremo 3' no debe ser rica en AT o complementarias de otros cebadores. La distancia del extremo 5' de F2 y B2 debería ser de 120 hasta 180pb y la distancia entre F2 y F3 así como de B2 y B3 debe ser 0- 20pb. La distancia para las regiones de formación de bucle (5' de F2 a 3' de F1, 5' de B2 a 3' de B1) debe ser 40-60pb.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. Tipo de Estudio

La investigación fue a través de encuestas CAP (conocimiento actitud y práctica) con un enfoque social mediante formularios de tipo online (140) y físicas (20) a médicos veterinarios especializados en pequeñas especies, las mismas que fueron realizadas entre los meses de noviembre 2020 y enero 2021.

7.2. Población encuestada

Las encuestas se dirigieron a médicos veterinarios de pequeñas especies en la zona del Distrito Metropolitano de Quito, a los socios de la Asociación de Médicos Veterinarios de Pequeñas Especies de Quito (AMVEPE-Quito) y de forma física en clínicas veterinarias de la ciudad.

7.3. Herramientas del diseño

7.3.1 Encuestas CAP

Una encuesta de conocimiento, actitud y práctica (CAP) es un estudio investigativo de carácter cualitativo en una determinada población para obtener una muestra. En este tipo de formularios, se demuestra cómo un individuo se comporta, actúa, y si tiene conocimientos prácticos para un tema determinado. Para el levantamiento de las encuestas CAP, se contó con la rectificación del doctor Edie Gabriel Molina Cuasapaz, docente de la Carrera de Medicina Veterinaria en la Universidad Técnica de Cotopaxi (UTC). Posteriormente, estos documentos fueron validados por dos médicos veterinarios. La encuesta consta de 22 preguntas entre cerradas y abiertas. Las primeras cinco preguntas se relacionan con el criterio personal y social del profesional, por consiguiente las demás muestran una variación de preguntas entre cerradas y abiertas con temática de actitud, conocimiento y práctica frente al tema de técnicas moleculares. Finalmente, se presentan dos preguntas con respuestas divididas en la escala de Likter (pregunta 17 y 25).

7.3.2 Aplicación de la encuesta

El formato se lo realizó en la plataforma online de Google Forms (<https://docs.google.com/forms>), y con el fin de que los participantes realizaran la encuesta, se aplicaron diferentes métodos:

- Envío de correos electrónicos a los participantes
- Divulgación de las encuestas por medio de redes sociales por la plataforma Facebook
- Visitas presenciales a las diferentes clínicas veterinarias de la ciudad.

8. RESULTADOS

Inicialmente se realizaron 160 encuestas, de las cuales 26 no cumplieron con los criterios de la investigación. Las razones de no inclusión son las siguientes:

1. Encuestas realizadas por médicos veterinarios de otras provincias que no son Pichincha (21/160)
2. Encuestas realizadas por médicos veterinarios en otras ciudades que no son Quito (24/160)
3. Encuestas realizadas por médicos veterinarios sin datos de provincia ni ciudad (1/160)

De las 160 encuestas registradas, se considerará solo 83% (134/160), en virtud de que cumplen con los requisitos para la investigación. De las 134 encuestas, 89 fueron llenadas completamente, y 45 fueron incompletas en el dato Parroquia.

8.1.Preguntas de criterio personal y social

a) Se toman los datos de las 134 encuestas que fueron registradas para el criterio personal y social. Para conocer el año de obtención de títulos se dividió en tres secciones:

1. Año desde 1990 - hasta 1999
2. Año desde 2000 - hasta 2009
3. Año desde 2010 - hasta 2020

Se observó que el 8% (11/134) de los médicos encuestados obtuvieron su título desde 1989 hasta 1999, el 15% (21/134) desde el 2000 hasta 2009, y el 76% (102/134) de los participantes desde el 2010 hasta el 2020.

Tabla 1 Año de graduación (Narváez 2021)

Pregunta 1	1989-1999	2000-2009	2010-2020	x-squared	Pvalue
Participantes	11	21	102	104.27	1,19E-08
Por ciento	0,08	0,15	0,76		

Nota:

- b) Médicos con estudios superiores al título de tercer nivel es reflejado con el 52% (70/134) de los participantes y el 48% no presenta estudios posteriores al universitario.

Tabla 2 Estudios Superiores (Narváez 2021)

Pregunta 2	Positivo (%)	Negativo (%)	Intervalo	pvalue	x-squared
Por ciento	0,52	0,48	0,17	0,6	0,26

Nota:

- c) Médicos menores 30 años representan un 47% (63/134), desde 31 a 40 años el 30% (40/134), desde 41 a 50 años 13% (18/134), de 51 a 60 años el 7% (10/134) y el 2% (3/134) de los participantes son mayores a 60 años.

Tabla 3 Edad del médico veterinario (Narváez 2021)

Pregunta 3	menos				más		x-squared	pvalue
	30	31-40	41-50	51-60	60			
Participantes	63	40	18	10	3	89,95	2,20E-	16
Por ciento	0,47	0,30	0,13	0,07	0,02			

Nota:

- d) Los cargos en la clínica demostraron que el 52% son clínicos, el 30% son gerentes, el 5% son administradores, especialistas un 3%, y el 10 % representan otros cargos.

Tabla 4 Cargo en la clínica (Narváez 2021)

Pregunta	Clínico	Gerente	Otro	Administrador	Especialista	x-squared	pvalue
5							
Participant							2,20E-
es	70	40	13	7	4	117	16
			0,1				
Porcentaje	0,52	0,30	0	0,05	0,03		

Nota:

8.2. Conocimiento de los médicos veterinarios frente a las técnicas moleculares

Se recopiló 134 encuestas para determinar el conocimiento que llevan los médicos veterinarios frente al desarrollo de las técnicas moleculares.

a) En la pregunta 7, el 75% (101/134) de los participantes respondieron correctamente afirmando que la sensibilidad representa la proporción de verdaderos positivos; mientras que el 25% (33/134) contestaron incorrectamente.

Tabla 5 La sensibilidad de una prueba para el diagnóstico de laboratorio que proporción representa (Narváez 2021)

Pregunta	Positivo	Negativo	intervalo	pvalue	x-squared
7	(%)	(%)			
				2,20E-	
Porcentaje	0,75	0,25	0,15	16	184,27

Nota:

b) Se preguntó a los encuestados sobre qué proporción demuestra la especificidad en el diagnóstico de laboratorio, el 60% (80/134) respondió acertadamente mencionando que presenta la cantidad de verdaderos negativos en los resultados de una prueba de laboratorio; no así el 40% (54/134) que contestaron erróneamente.

Tabla 6 La especificidad de una prueba para el diagnóstico de laboratorio se representa por la proporción de: (Narváez 2021)

Pregunta	Positivo	Negativo			x-
8	(%)	(%)	intervalo	pvalue	squared
Por					
ciento	0,60	0,40	0,17	2,20E-16	93

Nota:

c) Otra de las preguntas se relacionan a que si es posible diferenciar entre el ADN de un canino y el Ácido nucleico del Distemper canino, cuyo resultado demostró que el 78% (104/134) acertó confirmando en que sí se puede diferenciar; no obstante, el 22% (30/134) se equivocó rechazando el contenido de esta consulta.

Tabla 7 Es posible diferenciar entre la secuencia de ADN de un canino y del Distemper canino (Narváez 2021)

Pregunta	Positivo	Negativo (%)	Intervalo	pvalue	x-
9	(%)				squared
Por ciento	0,78	0,22	0,14	1,63E-10	41

Nota:

d) En lo relacionado al genoma animal, de bacterias y virus es codificado en ADN o ARN, el 72% (97/134) contestó correctamente, mientras que el 28% (37/134) registró respuestas incorrectas.

Tabla 8 El genoma de animales, bacterias y virus se encuentra diferenciado en (respuesta ADN o ARN) (Narváez 2021)

Pregunta	Positivo	Negativo			x-squared
10	(%)	(%)	Intervalo	pvalue	
Por ciento	0,72	0,28	0,15	2,20E-16	167,69

Nota:

e) Respecto al agente patógeno, el 77% (103/134) respondió correctamente afirmando que se puede identificar analizando la cadena de ARN o ADN (sin analizar anticuerpos o proteínas), y el 23% (31/134) contestaron de manera negativa.

Tabla 9 ¿Es posible identificar el agente patógeno únicamente utilizando el ADN o ARN (sin analizar anticuerpos o proteínas)? Respuesta: Verdadero (Narváez 2021)

Pregunta 11	Positivo (%)	Negativo (%)	intervalo	Pvalue	x-squared
Por ciento	0,77	0,23	0,14	4,97E-16	38,68

Nota:

f) La pregunta 12 expuso 14 opciones entre virus y enfermedades y una de “Otros”, para que los participantes consideren qué patologías y patógenos requieren pruebas de laboratorio para confirmar su diagnóstico. En todas las opciones se requieren de pruebas de diagnóstico, pero al ser una pregunta de opción múltiple sin límite de respuestas, los participantes las escogieron de la siguiente manera:

El 93% (125/134) eligió Distemper, el 84% (113/134) parvovirus, el 55% (74/134) traqueobronquitis por bordetella, el 70% (94/134) Virus de la Panleucopenia, el 58% (78/134) rinotraqueitis viral, el 66% (89/134) Calicivirus, el 81%(109/134) Virus de la inmunodeficiencia felina (VIF), el 64% (86/134) brucelosis, el 41% (55/134) Neospora Caninum, el 38% (51/100) Aspergillus, el 43% (57/134) Malassezia, el 55% (74/134) Erlichiasis, el 66% (89/134) Coronavirus, y el 44% (59/134) Giardiasis.

En la opción “Otros” de esta misma pregunta, los participantes respondieron con: el 4% (6/134) leucemia viral, el 0,75% (1/134) tanto para Toxoplasma, como para Parásitos en general y Micoplasma.

Tabla 10 Enfermedades que se considere necesitan pruebas de laboratorio para su diagnóstico (Respuesta: varias opciones) (Narváez 2021)

Pregunta 12	Positivo (%)	Negativo (%)	Intervalo	Pvalue	x-squared
Distemper	0,93	0,07	0,08	2,20E-16	100,4
Parvovirus	0,84	0,16	0,12	2,20E-16	156,73
Traqueobronquitis por Bordetella	0,55	0,45	0,17	0,22	1,46
Panleucopenia viral	0,70	0,30	0,15	3,08E-06	21,76
Rinotraqueitis viral	0,58	0,42	0,17	0,057	3,611
Calicivirus	0,66	0,34	0,16	1,00E-04	14,48
Virus de la Inmunodeficiencia felina	0,81	0,19	0,13	3,97E-13	52,65
Brucelosis	0,64	0,36	0,16	0,001	10,77
Neospora Caninum	0,41	0,59	0,17	0,03	4,29
Aspergillus	0,38	0,62	0,16	0,005	7,6
Malassezia	0,43	0,57	0,17	0,08	2,98
Erlichiosis	0,55	0,45	0,17	0,22	1,46
Coronavirus	0,66	0,34	0,16	0,0001	14,48
Giardiasis	0,44	0,56	0,17	0,16	1,9
Otros					
Leucemia felina	0,04	0,96	0,07	2,20E-16	111,07
Toxoplasma	0,0075	0,99	0,03	2,20E-16	130,03
Parásitos en general	0,0075	0,99	0,03	2,20E-16	130,03
Micoplasma	0,0075	0,99	0,03	2,20E-16	130,03

Nota:

g) A los participantes se les preguntó en escala de Likter, cuánto consideran que sabe acerca de ácidos nucleicos, siendo: 1 muy bajo; 2 bajo; 3 regular; 4 alto; 5 muy alto. Como resultado se obtuvo que el 8% (12/134) respondió muy bajo, el 24% (33/134) bajo, el 46% (62/134) regular y el 16% (22/134) conocimiento alto, finalmente, el 3% (5/134) posee un conocimiento muy alto.

Tabla 11 Considera que sus conocimientos sobre análisis de ácidos nucleicos es: 1 muy bajo; 2 bajo; 3 regular; 4 alto; 5 muy alto (Narváez 2021)

Pregunta	1	2	3	4	5	n
25						
Participantes	12	33	62	22	5	134
Por ciento	0,08955224	0,24626866	0,46268657	0,1641791	0,037313433	

Nota:

8.3. Actitud de los médicos veterinarios frente a las técnicas moleculares

Para el análisis de la actitud, se utilizó un total de 134 encuestas, de las cuales existen diferentes criterios y respuestas de los participantes.

a) Al escoger la característica de mayor peso en el diagnóstico de laboratorio, el 54% (73/134) escogió la sensibilidad, el 28% (38/134) la especificidad, el 16% (21/134) eligió el precio sobre las demás opciones y el 1% (2/134) optó por otras alternativas.

Tabla 12 ¿Cuál es la característica de mayor peso al escoger utilizar una prueba para el diagnóstico de laboratorio? (Narváez 2021)

Pregunta 6	Sensibilida d	Especificida d	Precio	Otr o	x- squared	pvalu e
Participante						2,20E-
s	73	38	21	2	81,46	16
Por ciento	0,54	0,28	0,16	0,01		

Nota:

- b) Esta pregunta considera que la respuesta afirmativa se encadenaba con tres preguntas adicionales; no así con la respuesta negativa que solo se relacionaba con una sola pregunta más.

Del análisis se determinó que el 94% (126/134) respondieron que sí les interesaría usar pruebas de ácidos nucleicos con igual certeza que un ELISA. A estos participantes (n=126) se les preguntó si seguirían reconsiderando usar técnicas moleculares con un costo de 50% más elevado que un ELISA, ante lo cual el 63% respondió afirmativamente.

Posteriormente, solo 124 personas contestaron a lo relacionado con seguir usando pruebas moleculares si el tiempo de respuesta es de 24 a 48 horas, de quienes el 74% (92/124) afirmaron su respuesta. Seguidamente, de las 124 personas solo 111 registraron su respuesta en la pregunta sobre la instalación de un laboratorio molecular en la clínica o utilizarían un servicio aparte (envío de muestra), ante lo cual 49% (59/111) confirmó que instalaría su propio laboratorio; mientras que el 51% (62/111) usaría un servicio de envío de muestra.

De otra parte, del análisis se determinó que 33 encuestados respondieron la pregunta relacionada al no uso de técnicas moleculares, cuyas razones fueron: falta de familiaridad con las técnicas moleculares el 27% (9/33); no considera útil su aplicación el 3% (1/33), se siente satisfecho con las técnicas que actualmente utiliza el 21% (7/33), y, que su clientela no estaría dispuesta a pagar pruebas moleculares el 48% (16/33).

- c) De los 134 participantes, el 98% (131/134) estaría interesado en un curso de técnicas de análisis nucleicos, de quienes el 5% (7/131) desearía un curso práctico, el 3% (4/134) un curso teórico, y el 92% (120/134) un curso teórico-práctico.

Tabla 13 Estaría interesado en un curso de actualización en técnicas de análisis de ácidos nucleicos para el diagnóstico veterinario? (Narváez 2021).

Pregunta 26	Negativo		Intervalo	Pvalue	x-squared
	Positivo (%)	(%)			
q50	0,98	0,02	0,05	2,20E-16	122,27

Nota:

Tabla 14 En caso de responder que SI (a la pregunta 26), quisiera que este curso sea (Narváez 2021)

Pregunta 27	Práctico	Teórico	Teórico- práctico	x-squared	Pvalue
Participantes	7	4	120	200,26	2,20E-16
por ciento	0,05	0,03	0,92		

Nota:

d) En la pregunta 14 se dio a escoger las técnicas moleculares que los participantes pueden conocer; por lo que el 99% (133/134) eligió el PCR, el 23% (31/134) el qPCR, el 16% (22/134) el método LAMP y método de secuenciación, en ambos casos. El 100% de los participantes afirma conocer al menos un método de diagnóstico molecular.

Tabla 15 De las siguientes pruebas para el diagnóstico de laboratorio basado en análisis de ácidos nucleicos, señale las que conoce. (Narváez 2021)

Pregunta 14	Negativo			Pvalue	x-squared
	Positivo (%)	(%)	intervalo		
PCR	0,99	0,01	0,03	2,20E-16	130,03
Qpcr	0,23	0,77	0,14	4,97E-10	38,68
LAMP	0,16	0,84	0,12	1,90E-15	63,14
Secuenciación	0,16	0,84	0,13	7,50E-15	60,44

Nota:

Se les preguntó a los participantes la estimación del precio de pruebas de ácidos nucleicos con una sensibilidad y especificidad superior al 95%, por lo que los participantes respondieron de la siguiente manera: el 1% (1/134) costo menor de 10 dólares, el 7% (10/134) entre 11 a 20 dólares, el 16% (21/134) entre 21 a 30 dólares, el 17% (23/134) costo entre 31 a 40 dólares, el 16% (21/134) costo desde 41 a 50 dólares, el 13% (17/134) entre 51 a 60 dólares, el 13% (17/134) dio un costo de 61 a 70 dólares y el 19% conoce un costo mayor a 70 dólares.

Tabla 16 ¿Cuál estima que es el precio de una prueba para el diagnóstico de laboratorio basada en análisis de ácidos nucleicos con una sensibilidad y especificidad superior al 95%? (Narváez 2021)

Pregunta	Menos	11 a	21 a	31 a	41 a	51 a	61 a	más 70	Pvalue
19	10	20	30	40	50	60	70		
Participantes	1	10	21	23	21	17	16	25	0,0004
por ciento	0,01	0,07	0,16	0,17	0,16	0,13	0,12	0,19	

Nota

8.4.Práctica de los encuestados

La práctica revela si los encuestados tienen experiencia o han realizado trabajos con técnicas moleculares.

- a) La pregunta 13 del cuestionario (sin límite de opción) corresponde a conocer cuáles son las pruebas que usan los participantes en el diagnóstico habitual; por lo que el 97% (130/134) usan kit rápido, el 39% (53/134) ELISA, el 22% (30/134) inmunofluorescencia, el 9% (12/134) aglutinación, y el 8% (11/134) eligió la opción “Otras”.

Tabla 17 De las siguientes pruebas de laboratorio señale las que utiliza en su práctica actual (Narváez 2021)

Pregunta 13	Positivo (%)	Negativo (%)	Pvalue	x-squared
Kit Rápido	0,97	0,03	2,20E-16	118,48
ELISA	0,39	0,61	1,20E-02	6,2
Inmunofluorescencia	0,22	0,78	1,08E-10	41,67
Aglutinación	0,09	0,91	2,20E-16	90,2
Otras	0,08	0,92	2,20E-16	93,62

Nota

- b) La pregunta 15 pidió a los médicos veterinarios saber si alguna vez han realizado pruebas moleculares para su diagnóstico; por lo que el 27% (36/134) afirmó haber realizado técnicas moleculares en su diagnóstico.

Tabla 18 ¿Ha empleado alguna de las pruebas de laboratorio basado en análisis de ácidos nucleicos durante su rutina de diagnóstico? (Narváez 2021)

Pregunta 15	Positivo (%)	Negativo (%)	pvalue	x-squared
Por ciento	0,27	0,73	8,50E-08	28,68

Nota:

De las 36 personas que afirmaron el uso de laboratorio molecular, solo 26 respondieron la pregunta 16 especificando qué técnicas moleculares habían utilizado; ante lo cual el 96% (25/26) han usado PCR; mientras que el 3% (1/26) ha usado qPCR.

Tabla 19 -De haber respondido SI (a la pregunta 15), indique cual prueba para el diagnóstico de laboratorio ha usado (Narváez 2021).

Pregunta 16	PCR	qPCR	n	x-squared
Participantes	25	1	26	40,62
por ciento	0,96153846	0,03846154		

Nota:

Para la pregunta 17, únicamente debían contestar 36 personas que afirmaron a la pregunta 15; sin embargo, se obtuvo 57 resultados, que calificaron la utilidad de las técnicas moleculares en una escala de Likter siendo: 1 inútil; 2 poco útil; 3 regular; 4 útil; 5 muy útil. El 2% (1/57) informó que las pruebas moleculares son poco útiles, 9% (5/57) que su uso es regular, el 33% (19/57) afirmaron que son muy útiles y el 56% (32/57) las describe como muy útiles.

Tabla 20 De haber respondido SI (a la pregunta 16), califique de 1 a 5 su utilidad. Siendo: 1 inútil; 2 poco útil; 3 regular; 4 útil; 5 muy útil. (Narváez 2021)

Pregunta	2	3	4	5	x-squared	Pvalue
17						
Participantes	1	5	19	32	42,08	3,97E-09
por ciento	0,02	0,09	0,33	0,56		

Nota:

De otra parte, para la pregunta 18 debían contestar 98 participantes pero se encontraron 109 respuestas indicando la razón por la que no han usado pruebas moleculares, es así que el 58% (63/109) eligieron falta de disponibilidad, el 3% (3/109) mucho tiempo de respuesta (tiempo entre la toma de muestra y la obtención de resultado), el 30% (33/109) afirman que soy muy costosas, el 4% (4/109) dicen que no son necesarias, y finalmente el 6% (6/109) eligieron otros.

Tabla 21 De haber respondido NO (a la pregunta 16), indique cual es la razón (Narvárez 2021)

Pregunta	falta de	mucho	tiempo de	muy	no son	x-	squared	Pvalue
18	disponibilidad	respuesta	costosas	necesarias	otro			
Participantes	63	3	33	4	6	125,82	16	2,20E-
por ciento	0,58	0,03	0,30	0,04	0,06			

Nota:

9. DISCUSIÓN

En este estudio descriptivo se logró obtener un resultado de 134 encuestas viables para la investigación.

Es interesante observar que el mayor número de encuestados se graduaron entre 2010 y 2020 (76%) (tabla 1), de la misma manera el rango “menor a 30 años” (tabla 3) es el que posee mayor número de participantes (47%). Esto puede deberse a la aceptación de las encuestas por medio de redes sociales por la plataforma Facebook. Aunque en el Ecuador, 12 millones de ecuatorianos usan la plataforma Facebook la edad parece ser significativa; estudios realizados por el Diario Primicias, un periódico ecuatoriano de carácter virtual, afirma que la edad en la que usan más redes sociales es entre 18 a 34 años con una cifra de más de 7 millones de ecuatorianos usando dicha plataforma hasta el 2020³³. Por otro lado, el mismo artículo menciona que la población que menos utiliza la red social oscila entre 45 años en adelante con menos de dos millones de ecuatorianos. Existe una tendencia relacionada entre personas menores de 30 años y la aceptación de las encuestas.

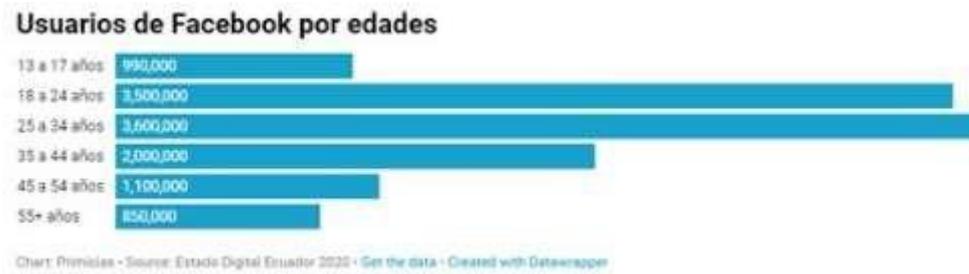


Imagen 1 Usuarios de facebook por edades, diario Primicias 2020

El 81% de las personas que obtuvieron su título universitario entre 1989 y 1999 tienen estudios superiores al universitario, mientras que el 80% de los graduados entre el año 2000 hasta el 2009 también poseen posgrados; así mismo el 43% de los graduados entre el 2000 al 2021. Si bien un posgrado no es un requisito para ejercer, la carrera es demandante por lo que muchos de los participantes han optado por realizarlos para complementar sus conocimientos y obtener un mejor salario o un mejor puesto de trabajo.

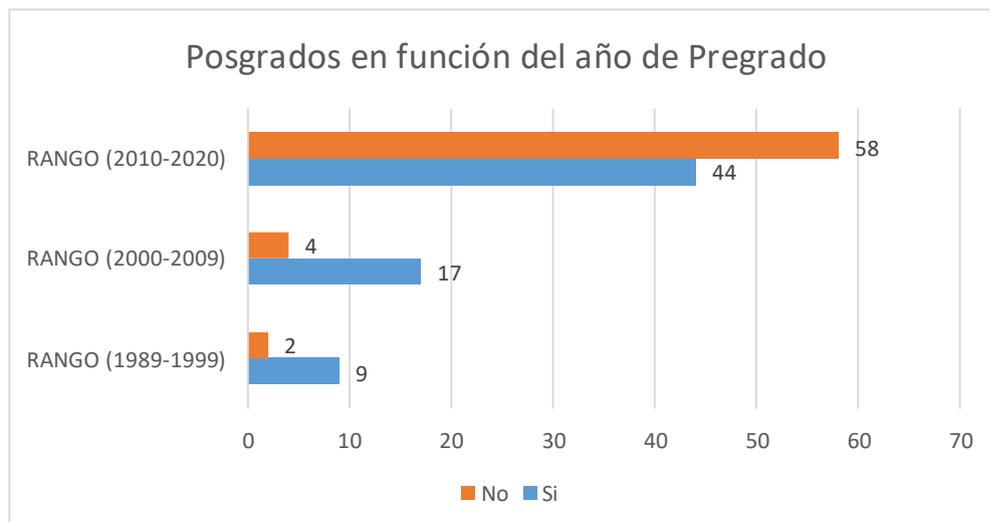


Imagen 2 Posgrados en función de año de pregrado, (Narváez 2021)

La pregunta 5 de la encuesta, demuestra que existe un rango alto de médicos clínicos (70/134), esta tendencia también refleja que 45 de estos clínicos son menores de 30 años y que tan solo 11 encuestados menores de 30 años son gerentes propietarios del establecimiento. Esto tal vez se debe a la economía nacional y a las nuevas leyes de regulación del país, puesto que actualmente existen más reglamentos y normas requeridas por la Resolución 121 de Agrocalidad, las mismas que son estrictas para el funcionamiento de los centros veterinarios y por lo tanto, sus sanciones son más duras que años atrás. ³³

Por otra parte, se realizó una comparación entre las respuestas de los encuestados sobre la definición de la especificidad y la sensibilidad. Mientras que la sensibilidad es la proporción de enfermos (verdaderos positivos), la especificidad es la proporción de sanos (verdaderos negativos), es así que el 17,91% no acertó ninguna respuesta, mientras que el 6,72% acertó la especificidad, el 22,39% respondió correctamente en la sensibilidad y el 52,99% en la sensibilidad y la especificidad. Esta comparación nos demuestra que más de la mitad de los encuestados, tiene claro la definición de sensibilidad y especificidad con respecto a las pruebas de laboratorio. Sin embargo, muchos médicos aún no tienen claro el significado de estos dos términos. En pruebas de laboratorio es fundamental conocer estas dos palabras ya que son base para un buen trabajo clínico.

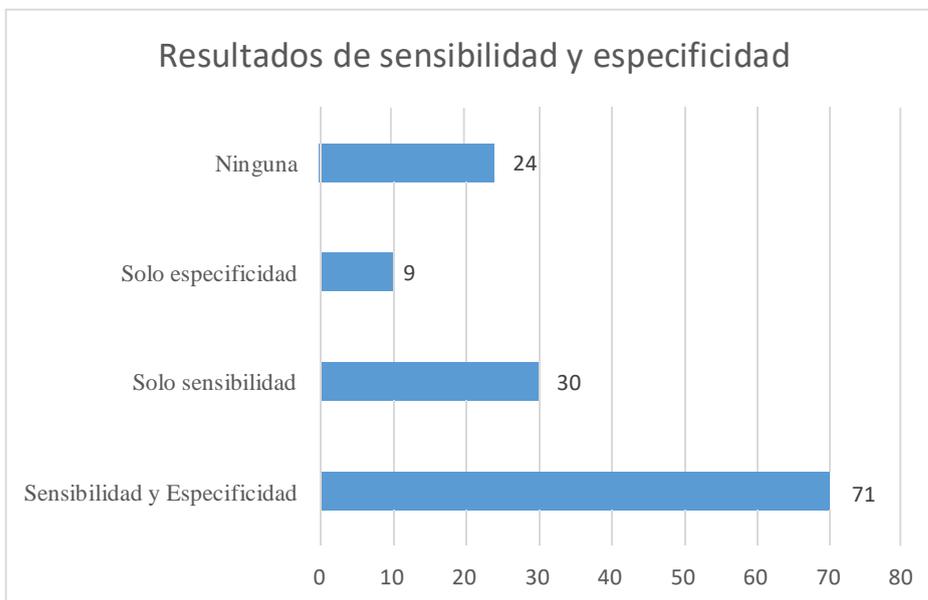


Imagen 3 Resultados de las preguntas con respecto a la sensibilidad y a la especificidad (Narváez 2021)

El 72% de los médicos contestó correctamente afirmando que los animales, bacterias y virus se codifican en ADN o ARN, así mismo el 78% registraron una respuesta correcta afirmando que se puede diferenciar entre la cadena de ADN. Similar porcentaje, esto es el 77% afirmó que se puede distinguir un agente patógeno solo utilizando su ADN o ARN (tabla 9). Los encuestados demuestran un nivel de conocimiento aceptable en general, que bien podría mejorar, posiblemente dando mayor énfasis materias como biología molecular o genética en la carrera de veterinaria. Un ejemplo claro es en la Universidad Central del Ecuador, ya que la malla académica hasta 2020, no se oferta más de 4 materias a relacionadas con técnicas moleculares en un pénsum de más de 50 materias a lo largo de la carrera.³³

La pregunta 12 dio a elegir a los participantes varias opciones de enfermedades y patógenos (bacterias, virus y hongos). Era una pregunta de opción múltiple donde todas las respuestas son correctas ya que todos los patógenos y enfermedades deben ser diagnosticados correctamente a manera de laboratorio. Existe una tendencia a marcar a las enfermedades virales y sus patógenos para el diagnóstico con pruebas de laboratorio. Esto se puede suscitar, ya que la pandemia Covid-19 en el año 2020, refirió noticias de actualización sobre métodos de diagnóstico virales.

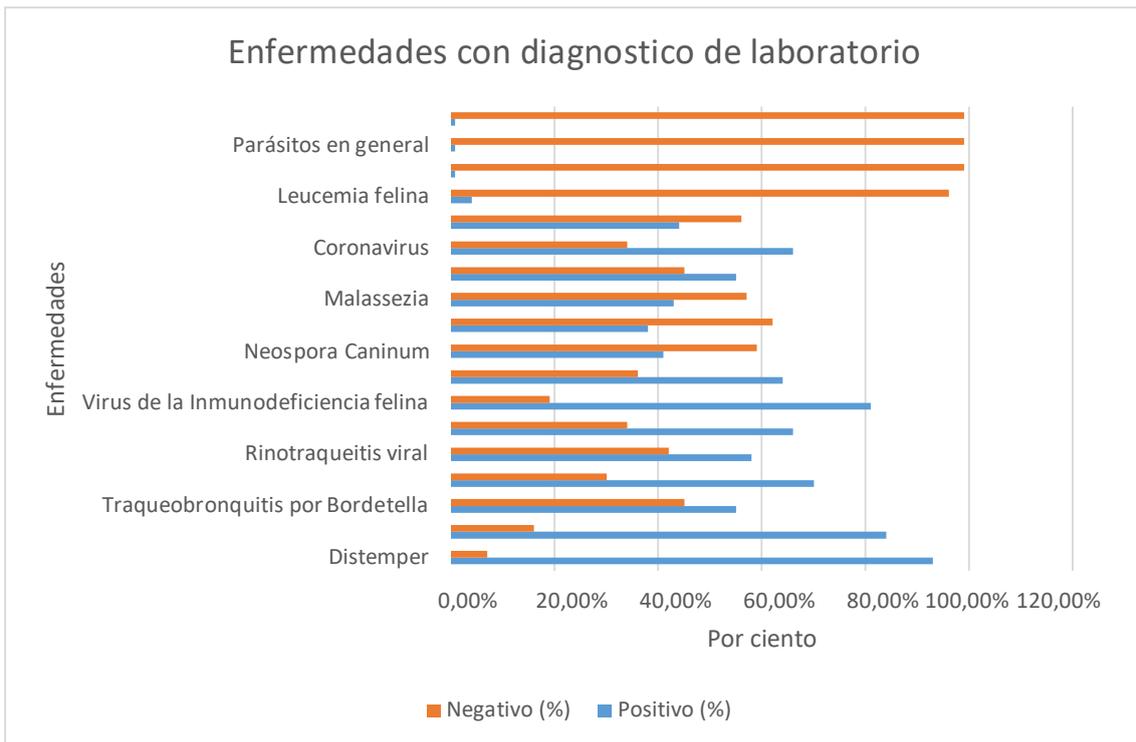


Imagen 4 Resultados de las preguntas con respecto a las enfermedades con diagnóstico de laboratorio (Narváez 2021)

La pregunta 25 hizo referencia a los conocimientos sobre ácidos nucleicos de los encuestados. El 46% de ellos afirmó tener un conocimiento regular y tan solo el 3% concibe un dominio del tema. Mientras que el 8% obtiene un conocimiento sumamente bajo. Posiblemente esto se da por planteado anteriormente ya que las Universidades no aportan un conocimiento amplio del tema. Lamentablemente en el país no existen muchos posgrados en genética ni laboratorio molecular. Por lo que es correcto considerar un cambio en las reformas universitaria para abarcar debidamente temas de ácidos nucleicos

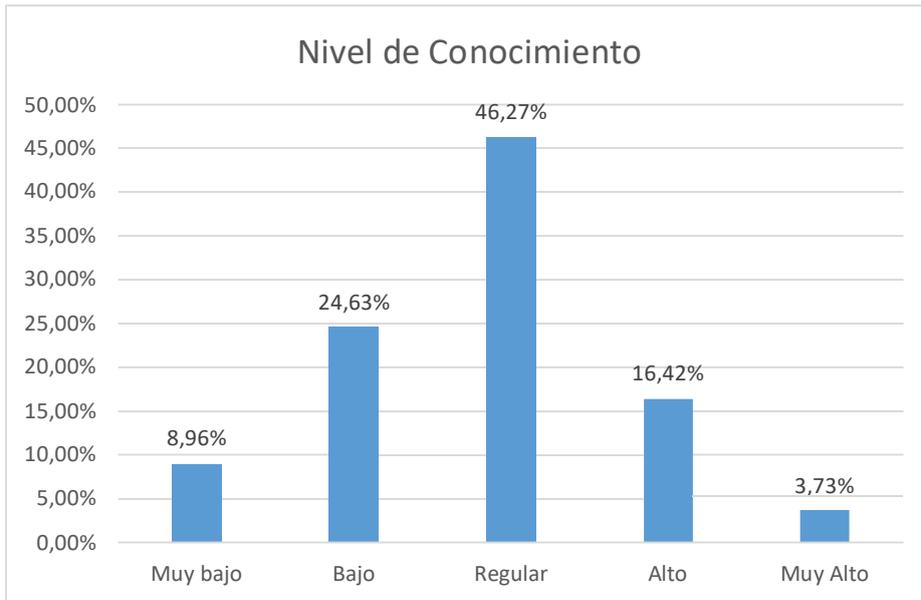


Imagen 5 Considera que sus conocimientos sobre análisis de ácidos nucleicos es: 1 muy bajo; 2 bajo; 3 regular; 4 alto; 5 muy alto (Narváez, 2021)

Positivamente hubo una gran aceptación de los médicos acerca de considerar realizar un curso de técnicas moleculares. El 98% afirmó que desea hacer un curso para mejorar sus conocimientos moleculares, tan solo 3 personas rechazaron la idea. Posiblemente esto se da a porque los médicos se dan cuenta que la manera más efectiva de diagnóstico en la actualidad son las pruebas moleculares.

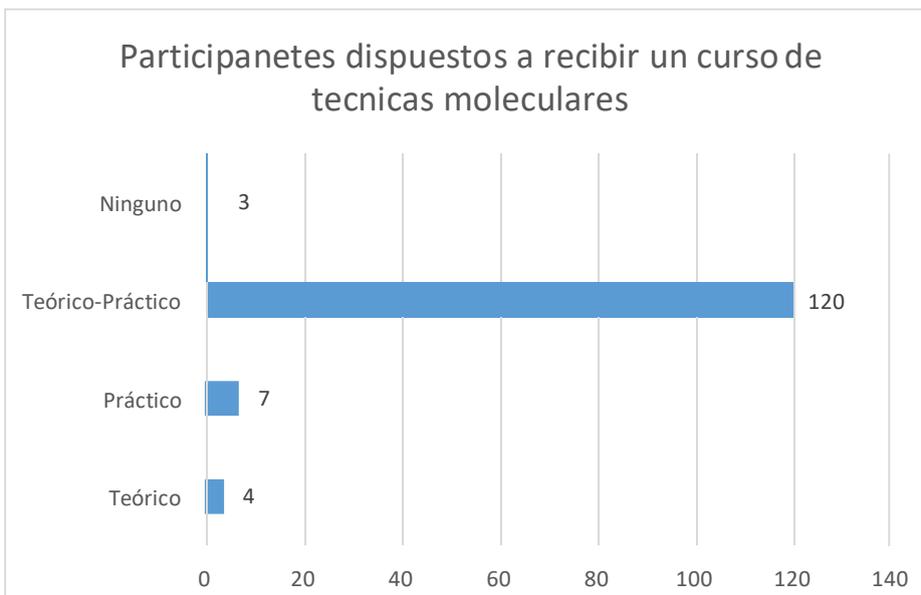


Imagen 6 Participantes dispuestos a recibir un curso de técnicas moleculares (Narváez 2021)

Al preguntar a los encuestados sobre el valor que considera cuesta un examen de laboratorio molecular; se originaron resultados mixtos. Posiblemente se debe a los acontecimientos ocurridos por la pandemia de COVID-19, ya en la ciudad de Quito en el año 2020 se especuló

con varios precios para la detección de este virus con técnicas moleculares; esto produjo un criterio sobre el valor de este tipo a los médicos veterinarios ya que los laboratorios entregaban diferentes precios para la realización del examen de diagnóstico. El médico veterinario al ser parte de la población, tiene un criterio general de estos costos considerando el panorama presentado por el laboratorio y el gobierno. Otra de las razones de los diferentes criterios que manejan los participantes puede ser que existen pocos laboratorios veterinarios que realicen ensayos moleculares en la ciudad, pocas universidades de la capital y una que otra empresa estatal.

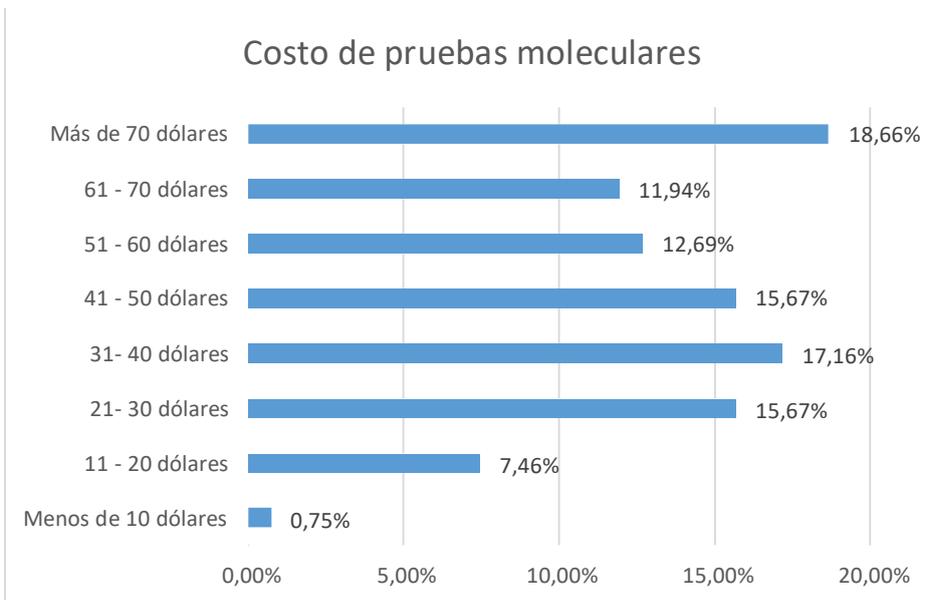


Imagen 7. Consideración de costos de los participantes (Narvaz2021)

10. IMPACTOS.

10.1. IMPACTO SOCIAL

De manera social, la población de la ciudad no tiene un buen conocimiento sobre las técnicas moleculares que pueden usar para la detección de enfermedades virales; conceptos básicos y definiciones utilizadas en laboratorio molecular son un obstáculo para los profesionales veterinarios. Se define que aún faltan capacitaciones y actualización de conocimiento en Quito acerca del tema, sin embargo los veterinarios tienen la disponibilidad de aprender y de trabajar con este tipo de ensayos. La capital del Ecuador no muestra un estudio, ni un número determinado de laboratorios moleculares para el veterinario moderno; determinando así que existen muy pocos laboratorios con los que el veterinario se pueda guiar en pruebas de ácidos nucleicos.

10.2. IMPACTO ECONOMICO

Al existir un número muy pequeño de laboratorios en Quito destinados al estudio molecular en virus, para los veterinarios se les hace muy difícil realizar una detección molecular de manera inmediata. Menos de 30% de los veterinarios en este estudio ha realizado pruebas moleculares lo que indica poco consumo de estos ensayos, los diferentes criterios de los veterinarios acerca del precio muestra que no tienen una idea clara del costo.

11. CONCLUSIONES

Las técnicas moleculares se han desarrollado exponencialmente en los últimos 20 años, permitiendo su aplicación en técnicas diagnósticas en medicina veterinaria, esta alternativa resulta nueva para la mayoría de médicos que trabajan en las clínicas y hospitales veterinarios de la ciudad de Quito, principalmente por la falta de disponibilidad de estas, así como el elevado costo que se presume tienen, no obstante, están dispuestos a aprender, utilizar e implementar técnicas moleculares para el diagnóstico de patologías en su práctica habitual.

Existe un grado de conocimientos positivos de más del 50% de los participantes sobre ácidos nucleicos. Si bien no demuestran un desempeño sobresaliente por la limitada cantidad de materias que ofertan las universidades al tema molecular, los encuestados desearían actualizar sus documentos

En el desempeño práctico, lamentablemente un pequeño porcentaje ha realizado pruebas moleculares (27%). Esto se debe a que no existen muchos laboratorios especializados en la ciudad de Quito acerca del tema. No así, los encuestados tienen una mayor aceptación en realizar otras pruebas como los kits rápidos (97%) ya que tienen fácil disponibilidad en la ciudad.

12. RECOMENDACIONES

El estudio de las pruebas de ácidos nucleicos no debería quedarse solo en universidades. Para complementar conocimientos se puede crear cursos y seminarios conjuntamente con universidades. En México la UNAM, en el año 1019 dictó aproximadamente 40 cursos entre seminarios, congresos y actualización de conocimientos relacionados a genética molecular y técnicas de laboratorio. En Quito no se registra un dato concreto sobre el número de cursos realizados en este tema por lo que se recomienda un estudio acerca de las actividades que se realizan en la ciudad sobre técnicas moleculares.

La encuesta tuvo una buena aceptación frente a las técnicas moleculares, se recomienda realizar estudios sobre el número real de laboratorios dedicados a las técnicas moleculares de la ciudad de Quito para médicos veterinarios y los servicios que prestan. La implementación de nuevos laboratorios moleculares sería un punto a tomar en cuenta para que los médicos veterinarios se abran camino en este campo.

El uso de métodos actualizados como la LAMP no es conocida en la ciudad de QUITO. Solo 21 personas afirmaron que conocían este método. Si bien la aplicación del LAMP es nueva, es una buena opción para la detección precoz de la enfermedad y realizar un diagnóstico correcto y a tiempo. Se recomienda realizar más estudios sobre este método para mejorar y actualizar las técnicas moleculares en la ciudad de Quito

13. BIBLIOGRAFÍA

1. De C, Veterinaria M, Zootecnia Y. UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA ÁREA agropecuaria y de recursos naturales renovables.
2. Historia y Medicina: Los Aportes de Louis Pasteur [Internet]. [cited 2021 Feb 22]. Available from: https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/spmi/v09n1/aport_luis_past.htm
3. Edward Jenner e Ignaz Philipp Semmelweis. Vacunas y antisépticos antes de la teoría microbiana | Offarm [Internet]. [cited 2021 Feb 11]. Available from: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-edward-jenner-e-ignaz-philipp-13126074>
4. Martinus_Willem_Beijerinck [Internet]. [cited 2021 Feb 15]. Available from: https://www.quimica.es/enciclopedia/Martinus_Willem_Beijerinck.html
5. Diagnóstico viral: historia y capacidades actuales - El Sitio Avicola [Internet]. [cited 2021 Feb 3]. Available from: <https://www.elsitioavicola.com/articles/2114/diagnostico-viral-historia-y-capacidades-actuales/>
6. Los anticuerpos y su papel como herramientas analíticas en los ensayos inmunoenzimáticos [Internet]. [cited 2021 Feb 11]. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602010000200001
7. Técnicas de Biología Molecular en el desarrollo de la investigación. Revisión de la literatura [Internet]. [cited 2021 Jan 12]. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2017000500012
8. De A, Fluorescentes Y, Su A, En V, Kirsh D. La Técnica de anticuerpos fluorescentes en virología.
9. (No Title) [Internet]. [cited 2021 Feb 15]. Available from: <https://lynslab.uconn.edu/wp-content/uploads/sites/2599/2020/09/Kohler-and-Milstein-.pdf>
10. History of PCR [Internet]. [cited 2021 Feb 9]. Available from:

<https://diagnostics.roche.com/global/en/article-listing/history-of-pcr.html>

11. Melo A A, Roa E I, Montenegro H S, Capurro V I, Roa S JC. Estudio comparativo de detección del virus papiloma humano (VPH) en muestras citológicas y biopsias de cuello uterino. *Rev Med Chil* [Internet]. 2005 [cited 2021 Feb 15];133(6):639–44. Available from: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872005000600003&lng=es&nrm=iso&tlng=es
12. Fan J, Henrickson KJ, Savatski LL. Rapid simultaneous diagnosis of infections with respiratory syncytial viruses A and B, influenza viruses A and B, and human parainfluenza virus types 1, 2, and 3 by multiplex quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction-enzyme hybridization assay (Hexaplex). *Clin Infect Dis* [Internet]. 1998 [cited 2021 Feb 15];26(6):1397–402. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9636869/>
13. García F, Álvarez M, Bernal C, Chueca N, Guillot V. Diagnóstico de laboratorio de la infección por el VIH, del tropismo viral y de las resistencias a los antirretrovirales. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2011 Apr;29(4):297–307.
14. Garrido P. TÉCNICA DE AMPLIFICACIÓN ISOTÉRMICA MEDIADA POR BUCLE O LAMP. VENTAJAS EN EL DIAGNÓSTICO SANITARIO. *ECUADOR ES Calid* [Internet]. 2016 Sep 6 [cited 2021 Feb 16];3(1). Available from: <https://revistaecuadorestcalidad.agrocalidad.gob.ec/revistaecuadorestcalidad/index.php/revista/article/view/50>
15. *Revista TecnoVet* [Internet]. [cited 2021 Feb 16]. Available from: https://web.uchile.cl/vignette/tecnovet/CDA/tecnovet_articulo/0,1409,SCID%253D9772%2526ISID%253D461,00.html
16. Dispositivos Médicos | FDA [Internet]. [cited 2021 Feb 16]. Available from: <https://www.fda.gov/consumers/articulos-en-espanol/dispositivos-medicos>
17. Pruebas para el diagnóstico de laboratorio en Medicina Veterinaria - Formularios de Google [Internet]. [cited 2021 Feb 22]. Available from: https://docs.google.com/forms/d/1cMQc5dWK3EbyNEFBDBuib-ASADaHzkM7KJYJOD6_s4k/edit#responses

18. Figueroa B, Victoria Á. Universidad Católica de Santiago de Guayaquil Facultad de Educación Técnica para el desarrollo carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia Tema “DETERMINACIÓN DE LA INCIDENCIA DE DISTEMPER CANINO POR EL MÉTODO DE TEST RÁPIDO CDV EN EL CANTÓN NARANJAL” AUTORA.
19. Castro RF. PARVOVIROSIS CANINA Y ASPECTOS DE INMUNIZACIÓN. Ciencia Veterinaria.
20. Parvovirus Canino.
21. Adenovirus canino tipo 2 (Canine adenovirus type 2) - Diagnóstico molecular (PCR). - IVAMI [Internet]. [cited 2021 Feb 3]. Available from: <https://www.ivami.com/es/microbiologia-veterinaria-molecular/578-adenovirus-canino-tipo-2-canine-adenovirus-type-2-cav-2-hepatitis-canina>
22. Arribas MTV, Andrés MCM. Panleucopenia felina: Una revisión.
23. Revista TecnoVet [Internet]. [cited 2021 Feb 3]. Available from: https://web.uchile.cl/vignette/tecnovet/CDA/tecnovet_articulo/0,1409,SCID%253D9485%2526ISID%253D465,00.html
24. Luisa Palmero M. Calicivirus Virulento Sistémico (VS-FCV) [Internet]. [cited 2021 Feb 3]. Available from: www.gattos.net
25. Ayala I, Talone T, Castillo C, Gerardi G, Hernandez J, Benedito JL. El síndrome de inmunodeficiencia adquirida del gato causado por el F.I.V. (Feline Immunodeficiency Virus). Arch Med Vet [Internet]. 1998 [cited 2021 Feb 9];30(1):5–12. Available from: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-732X1998000100001&lng=es&nrm=iso&tlng=es
26. Consejo DH, De D, De LF, Médico D:, Zootecnista V. UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECCIA TRABAJO DE TITULACIÓN SOMETIDO A CONSIDERACIÓN. 2014.
27. De Revisión A, Felipe Calle-Restrepo J, Fernández-González L, Morales-Zapata LM, Ruiz-Sáenz J. julio-diciembre de 2013 ©Universidad de Caldas Veterinaria y Zootecnia.

Vol. 7. 2013.

28. Ramírez Pérez YE. RV. Papiloma oral canino en un perro mestizo y su respuesta a la quimioterapia citostática [Internet]. 2012 [cited 2021 Feb 3]. p. 1–4. Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/636/63624429009.pdf>
29. Amplificación isotérmica mediada por LOOP (LAMP) de ácidos nucleicos en el diagnóstico clínico [Internet]. [cited 2021 Feb 9]. Available from: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2310-02652014000100014
30. Soto J. Revista TecnoVet [Internet]. Diciembre. 1991 [cited 2021 Jan 13]. Available from: http://web.uchile.cl/vignette/tecnovet/CDA/tecnovet_articulo/0,1409,SCID%253D9772%2526ISID%253D461,00.html
31. Poon LLM, Wong BWY, Ma EHT, Chan KH, Chow LMC, Abeyewickreme W, et al. Sensitive and Inexpensive Molecular Test for Falciparum Malaria: Detecting Plasmodium falciparum DNA Directly from Heat-Treated Blood by Loop-Mediated Isothermal Amplification. *Clin Chem*. 2006;52(2):303–6.
32. Mori Y, Notomi T. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): A rapid, accurate, and cost-effective diagnostic method for infectious diseases. Vol. 15, *Journal of Infection and Chemotherapy*. Springer Japan; 2009. p. 62–9.
33. 13 millones de personas tienen redes sociales en Ecuador [Internet]. [cited 2021 Feb 25]. Available from: <https://www.primicias.ec/noticias/tecnologia/13-millones-personas-redes-sociales-ecuador/>

14. ANEXOS

14.1 ANEXO 1

Link de la encuesta en la plataforma google forms <https://forms.gle/XE4X9EQ1oRhW9yUW6>

14.2 ANEXO 2

Aval de traducción



Universidad
Técnica de
Cotopaxi

CENTRO DE IDIOMAS

AVAL DE TRADUCCIÓN

En calidad de Docente del Idioma Inglés del Centro de Idiomas de la Universidad Técnica de Cotopaxi; en forma legal **CERTIFICO** que: La traducción del resumen del proyecto de investigación al Idioma Inglés presentado por el señor Egresado de la Carrera de **MEDICINA VETERINARIA** de la **FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES**, **NARVÁEZ CEVALLOS RICARDO NAPOLEÓN**, cuyo título versa **"CONOCIMIENTO, ACTITUD Y PRÁCTICA DE LOS VETERINARIOS EN CLÍNICA DE CANINOS Y FELINOS SOBRE LA IMPLEMENTACIÓN DE PRUEBAS BASADAS EN EL ANÁLISIS DE ÁCIDOS NUCLEICOS EN SU RUTINA DE DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES VIRALES EN EL DISTRITO METROPOLITANO DE QUITO"**, lo realizó bajo mi supervisión y cumple con una correcta estructura gramatical del Idioma.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad y autorizo al peticionario hacer uso del presente certificado de la manera ética que estimare conveniente.

Latacunga, marzo del 2021

Atentamente;

Mg. Patricia Marcela Chacón Porras
DOCENTE CENTRO DE IDIOMAS
C.C. 0502211196

1803027935 Firmado
digitalmente por
VICTOR HUGO ROMERO GARCIA
ROMERO GARCIA
Fecha: 2021.03.10
10:22:48 -05'00'