

Determinación serológica de adenovirus canino tipo 2 (CAV-2) en un refugio canino de Quito

*Serological determination of canine adenovirus type 2 (CAV-2) in a canine
shelter of Quito*

<https://doi.org/10.5281/zenodo.7261779>

AUTORES: Ana Burgos Mayorga ^{1*}

Nadia Lopez ²

Grace Cepeda Ortiz ³

DIRECCIÓN PARA CORRESPONDENCIA:

Fecha de recepción: 11 / 01 / 2022

Fecha de aceptación: 15 / 03 / 2022

RESUMEN

La traqueobronquitis infecciosa canina (TBIC) es una enfermedad frecuente y de alta morbilidad en lugares de hacinamiento como refugios o guarderías caninas. La aparición de brotes representa grandes dificultades tanto en la salud animal como el costo que genera el tratamiento de estos animales por lo que es indispensable el diagnóstico oportuno para tomar medidas de prevención y control, con la consideración que ocasionalmente cursa sin signos clínicos evidentes. Uno de los agentes que forma parte de la etiología de esta enfermedad es el adenovirus canino tipo 2 (CAV-2), el cual está incluido en los calendarios rutinarios de inmunización. Este trabajo tuvo objetivo evaluar la presencia del CAV-2 en un grupo de 47 caninos pertenecientes a un refugio en la ciudad de Quito; se aplicó una prueba de inmunocromatografía en hisopados nasooculares, cuyo resultado fue obtenido con un lector colorimétrico. Se obtuvo una prevalencia de 8,51% (4/47) y mediante el test de chi-

^{1*} Facultad de Ciencias Pecuarias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo

²Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Central del Ecuador

³Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Central del Ecuador

cuadrado (X²) se determinó que la edad, el sexo y la presencia de signos clínicos durante el muestreo no son factores de riesgo para la presencia del virus, pero sí lo es ($p < 0,05$) la existencia de antecedentes respiratorios en el historial de los caninos. Un aspecto importante de la investigación es que todos los animales infectados mantenían un calendario vacunal vigente, denotando que la protección para el CAV-2 no es completa.

Palabras clave: adenovirus canino, diagnóstico, inmunocromatografía, prevalencia.

ABSTRAC

Canine infectious tracheobronchitis (CITB) is a common and high morbidity disease in overcrowded places such as shelters or kennels. The occurrence of outbreaks implies great difficulties both in animal health and the cost of treating these animals, so timely diagnosis is essential to take preventive and control measures, considering that occasionally it occurs without obvious clinical signs. One of the agents that is part of the etiology of this disease is canine adenovirus type 2 (CAV-2), which is included in routine immunization schedules. This study aimed to evaluate the presence of CAV-2 in a group of 47 canines belonging to a shelter in Quito; an immunochromatography test was applied to nasocular swabs, the result of which was obtained with a colorimetric reader. A prevalence of 8.51% (4/47) was obtained and through the chi-square test (X²) it was determined that age, sex, and the presence of clinical signs during the sampling are not risk factors for the presence of the virus, but it is the existence of respiratory background in the history of the canines ($p < 0.05$). An important aspect of the research is that all infected animals maintained a current vaccination schedule, indicating that protection against CAV-2 is not complete.

Key words: canine adenovirus, diagnosis, immunochromatography, prevalence.

INTRODUCCIÓN

Los centros o refugios encargados del rescate de animales abandonados, el cuidado de su salud y su adopción han aumentado por la gran problemática de fauna urbana y maltrato animal que existe en la ciudad de Quito (Orna, 2018). El hacinamiento de población canina

en estos centros constituye un problema de tipo sanitario debido a que al no tener los recursos necesarios para implementar medidas de control y prevención, el desarrollo y diseminación de las enfermedades infecciosas se facilita (Gallegos, 2018; Mazacon, 2018).

Una de las principales enfermedades respiratorias cuya incidencia está vinculada al hacinamiento es la traqueobronquitis infecciosa canina (TBIC), conocida también “tos de las perreras”. Es una enfermedad de alta morbilidad que afecta a las vías respiratorias de caninos domésticos y salvajes, caracterizada por una tos paroxística con expectoración y secreción nasooocular (King, 2006).

Su etiología es multifactorial, involucrando agentes bacterianos y virales, entre los que se destacan: Bordetella bronchiseptica, virus de la parainfluenza canina (CPIV) y adenovirus canino tipo 2 (CAV-2); estos dos últimos pueden iniciar o complicar el curso de la enfermedad (Schulz et al., 2014)

El CAV-2 se considera como uno de los patógenos virales más importantes en el desarrollo de la TBIC. Es un virus de la familia Adenoviridae perteneciente al género Mastadenovirus, el cual infecta a mamíferos, incluido el ser humano. Tiene afinidad por el epitelio de la cavidad nasal, faringe, criptas tonsilares y tráquea e incluso llega a replicarse en los bronquios y el epitelio alveolar (Lynch, Fishbein y Echevarria, 2011).

Los niveles inestables de temperatura ambiental, la falta de sistemas de ventilación, espacio reducido, escasos programas de vacunación y condiciones sanitarias deficientes pueden contribuir a la propagación de infecciones respiratorias dentro de los refugios (Crawford, 2015; Valle, Miele y Lazo, 2016).

El virus presenta gran resistencia al medio por lo que puede permanecer de 3 a 8 semanas en el suelo y superficies a temperatura ambiente; la inactivación física del CAV-2 se logra a los 60 °C por más de 5 minutos (Avendaño, 2019). Es resistente al éter pero susceptible a los desinfectantes de hipoclorito de sodio al 1%, glutaraldehído al 2% e hidróxido de sodio (CDC, 2019).

La transmisión ocurre a través del contacto directo con animales enfermos con y sin signos clínicos, por medio de secreciones nasales y aerosoles contaminados (Vieson, Piñeyro y Leroith, 2012). El período de incubación del virus es de 3 a 6 días, por lo que los animales infectados manifiestan los signos clínicos de manera rápida. Estudios reportan mayor

mortalidad por neumonía en cachorros menores a 4 semanas de edad (Maurol, 2006; Greene, 2008).

En gran parte de los casos, la infección ocasionada por el CAV-2 no compromete la vida del paciente, siendo de corta duración y fácil resolución, incluso autolimitante en algunos animales. El diagnóstico se basa en la anamnesis y los hallazgos del examen físico; sin embargo, determinar el agente etiológico requiere de pruebas de diagnóstico específicas y los resultados pueden ser difíciles de interpretar debido a la presencia concurrente de infecciones subclínicas generalizadas (Bobadilla et al., 2009).

El pronóstico es favorable en pacientes con infecciones no complicadas, los signos clínicos desaparecen en pocos días e incluso la mayoría de los individuos no requieren terapia. En infecciones complejas, el aislamiento del animal más la administración de antibióticos y fármacos antitusivos son la base de la terapia (González et al., 2006).

El aislamiento viral, la inmunofluorescencia indirecta y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) son las pruebas de elección por su alta sensibilidad y especificidad para la detección de este patógeno (Yoon et al., 2010).

Ante el alto nivel de contagiosidad que tiene la TBIC, la Asociación Mundial de Veterinarios de Pequeños Animales (WSAVA) establece planes vacunales para la protección de perros frente a los principales agentes víricos y bacterianos asociados a dicha enfermedad, pero la experiencia de los veterinarios y los resultados obtenidos sugieren que las vacunas actuales no otorgan una protección completa en los pacientes (WSAVA, 2016).

Los protocolos de vacunación típicamente utilizados para las mascotas de casa no son los más adecuados para los animales que están en refugios y por ende, la estrategia de vacunación debe ser distinta, puesto que esta población tiene mayor exposición a enfermedades infecciosas (Smith, 2010).

Los recursos económicos limitados comprometen la capacidad de cumplir las medidas de prevención, sobretodo la vacunación contra virus respiratorio debido al costo de la vacuna para todos los caninos del refugio (Newbury et al., 2010). Por lo tanto, la TBIC es una amenaza para los perros de refugios con un gran impacto en la salud, el bienestar de los animales y la economía de los operadores de las instalaciones (Crawford, 2015).

En Ecuador existen pocos estudios que aborden la presencia de patógenos respiratorios en refugios o lugares de hacinamiento canino. Un estudio (Mazacon, 2018) determinó la prevalencia del distemper canino (CDV) y CAV-2 en la zona noroeste de la provincia de Guayaquil mediante la prueba serológica Uranotest® para moquillo-adenovirus tipo 2 en caninos, reportando un 3% para CDV y 0% de CAV-2 de la población de perros callejeros muestreados. En la provincia de Pichincha no están disponibles estudios con los que se pueda conocer y comparar la existencia o ausencia del virus.

El presente trabajo evaluó la presencia de CAV-2 en perros de refugio con calendario vacunal anual vigente pero con historial de problemas respiratorios, mediante una prueba inmunocromatográfica de detección del antígeno de CAV-2 en secreciones nasooculares.

METODOLOGÍA

Fue un estudio de tipo observacional transversal, ejecutado en un refugio canino que alberga 47 caninos de varias edades, con calendario anual vigente contra CDV, hepatitis infecciosa canina, parvovirus, coronavirus, leptospirosis, rabia y el complejo respiratorio (parainfluenza-CpiV y CAV-2).

Como técnica diagnóstica, se empleó el kit de detección CAV-2 Ag de GenBody®, cuyo fundamento es la inmunocromatografía. Se incluyeron todos los caninos del refugio, en los cuales se muestrearon las secreciones nasales y oculares con el hisopo estéril incluido en la prueba. Se siguieron las instrucciones del fabricante y para la obtención del resultado se realizó una lectura visual (cualitativa) de la prueba y también con el lector colorimétrico Confiscope G20® (cuantitativa).

De manera adicional, se efectuó un examen clínico general a todos los caninos con el objetivo de discriminar entre pacientes con o sin signos respiratorios y también se revisaron los historiales clínicos para definir si tuvieron o antecedentes respiratorios como parte la anamnesis.

Para el análisis estadístico se aplicó la prueba de chi-cuadrado (χ^2) con valor $p < 0,05$ a través del programa SPSS Statistics 24, a fin de determinar si existe o no relación entre la presencia de CAV-2 y las variables de edad (macho/hembra), sexo (cachorro/adulto/geronte), signos respiratorios (sintomáticos/asintomáticos) y antecedentes

respiratorios (positivo/negativo). A efectos de agrupación, se consideró cachorros a los caninos menores a 1 año; adultos, entre 1 y 6 años y geriátricos, a partir de 7 años.

DISCUSIÓN Y RESULTADOS

CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN.

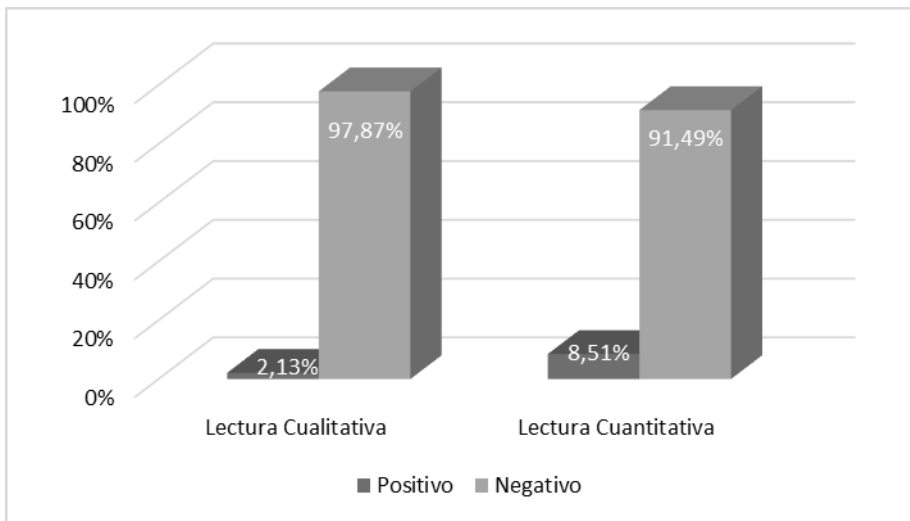
Acorde al sexo, el 74,46% (35/47) de los caninos fueron hembras y el 25,54%, machos (12/47). En relación con la edad, el 59,57% (27/47) corresponde a animales adultos, el 34,04% (17/47) a animales geriátricos y el 6,38% (3/47) a cachorros.

El 40,42% fueron pacientes sintomáticos (19/47), mientras que 59,57% (28/47) se clasificaron como pacientes asintomáticos. El grupo de animales sintomáticos fueron aquellos que presentaron al chequeo clínico por lo menos un parámetro fuera de lo normal. Con base en el historial, el 19,15% (9/47) tuvieron antecedentes respiratorios y el 80,85% (38/47) no lo registraron.

PRESENCIA DEL VIRUS.

Al determinar visualmente (de forma cualitativa) el resultado de la prueba diagnóstica, se obtuvo una prevalencia de 2,13% (1/47) y un 97,87% (46/47) de pacientes negativos a CAV-2. No obstante, al evaluar el test con el lector (método cuantitativo), se determinó una prevalencia de 8,51% (4/47) y un 91,49% (43/47) de resultados negativos a CAV-2 (figura 1).

Figura 1. Comparación de resultados con lectura cualitativa y cuantitativa.



Fuente: elaboración de los autores.

Un dato adicional que provee el lector automatizado es la sensibilidad analítica (s/CO), que está relacionada con la cantidad de antígeno en la muestra; como se observa en la tabla 1, el único animal positivo con la evaluación visual fue el que más s/CO registró al utilizar el lector, mientras que los otros registran menor s/CO y no fueron identificados cualitativamente.

Tabla 1. Comparación de resultados positivos detectados mediante la lectura cualitativa y cualitativa.

Identificación del animal	Resultado cualitativo (visual)	Resultados cuantitativo (Lector Confiscope G20®)	s/CO
3	Negativo	Positivo	1.55
15	Negativo	Positivo	1.52
27	Negativo	Positivo	1.53
43	Positivo	Positivo	3.32

s/CO: sensibilidad analítica

Fuente: elaboración de los autores.

RELACIÓN CON POSIBLES FACTORES DE RIESGO.

Como se observa en la tabla 2, no existe relación estadística entre las variables de sexo, edad y presencia de signos respiratorios y la presentación de CAV-2; por otro lado, sí existe significancia en el caso de los antecedentes respiratorios positivos (p=0,003), que son factor de riesgo para la detección de la enfermedad.

Tabla 2. Asociación de variables en estudio con la presencia de CAV-2 detectada con el lector Confiscope G20®.

Resultado	EDAD			SEXO		A. RESPR.		S. RESP A.		
	Cach.	Adlt.	Grt.	H	M	Sí	No	Sint.	Asint.	
Positivo	0	2	2	4	0	3	1	3	1	
Negativo	3	25	15	31	12	6	37	16	27	
Prueba de X² (p<0,05)		0,759			0,221		0,003		0,141	

Cach: Cachorro, Adlt: Adulto, H: Hembra, M: Macho, A. Respr: Antecedentes respiratorios, S. Resp A: Signos respiratorios actuales, Sint: Sintomático, Asint: Asintomáticos

Fuente: elaboración de los autores.

En cuanto a la prevalencia de CAV-2, en estudios realizados en Alemania fue del 1.1% de los animales muestreados, formando parte de infecciones y coinfecciones respiratorias (Schulz et al., 2014). Un estudio similar llevado a cabo en Nueva Zelanda determinó una

prevalencia de CAV-2 en 13% de la población canina de varios refugios de la ciudad (Sowman, Cave y Dunowska, 2018). En Japón, Mochizuki (2008) determinó la presencia de CAV-2 en un 2.9% de una muestra de perros con signos clínicos de TBIC de varios hospitales veterinarios.

Lavan & Knesl (2015) determinaron la presencia de patógenos infecciosos respiratorios en animales asintomáticos de varios refugios de Estados Unidos siendo la prevalencia de CAV-2 del 12.5%, mientras en Brasil la prevalencia de CAV-2 se manifiesta como infección única en un 7,8% y formando parte de coinfección con CDV y CPiV en un 2.7% de los perros de tres refugios que contaban con diferentes condiciones sanitarias (Monteiro et al., 2016).

La prevalencia obtenida en este estudio es mayor a la encontrada en la única investigación realizada a nivel local (en que la prevalencia es nula), pero se mantiene en valores bajos en forma similar a las investigaciones realizadas en otros países.

Un punto importante para la determinación de la prevalencia fue el incremento de la sensibilidad al emplear el lector automatizado, disminuyendo o anulando la tasa de falsos negativos existentes con la observación visual, los cuales podrían ser atribuibles a una baja carga antigénica por la acción del sistema inmune, la edad del individuo y la virulencia de la cepa infectante (Buñay, 2019).

En otros estudios como el de Maboni et al. (2019) o de León (2009) se reporta que los cachorros tienen mayor susceptibilidad a la TBIC por su sistema inmune poco desarrollado; sin embargo, el virus afecta a pacientes de cualquier edad, y es probable que en este trabajo no se haya evidenciado relación estadística debido al bajo porcentaje de cachorros en la muestra estudiada.

Todos los pacientes positivos en este estudio fueron hembras, sin embargo la prevalencia la baja y el mayor porcentaje de la población son hembras, por lo que no existió significancia estadística, lo cual es concordante con lo reportado por Maboni et al. (2019) y Leon (2009), en cuyos estudios también existieron más infecciones en hembras pero no en grado que sugiera una relación de riesgo.

Los antecedentes respiratorios más comunes descritos en los animales que sí registraron esta variable fueron tos paroxística o persistente más la observación de secreciones

nasooculares verdosas y blancas. En las historias clínicas no constaba el diagnóstico definitivo, por lo cual solamente se trató los signos clínicos con tratamiento empírico a toda la población.

Maboni, et al. (2019) en su investigación sobre identificación de patógenos respiratorios caninos, realizó una asociación entre los resultados positivos a CAV-2 y los animales con antecedentes respiratorios en el último año de vida del paciente, obteniendo que de los animales enfermos, el 43,64 % presentó signos leves como tos, estornudo y secreción nasal mientras que el 45,65% presentó en su historial signos moderados como fiebre, letargo, neumonía y solo el 10,65% tenían una anamnesis sin alteraciones, determinando que los antecedentes respiratorios presentaron relación con los resultados obtenidos.

Respecto a la presencia de signos respiratorios, un estudio realizado en Japón analizó hisopados de la cavidad nasal, orofaringe y zona conjuntival mediante PCR con el objetivo de identificar la etiología de infecciones respiratorias en perros domésticos que presentaban cuadro compatible a TBIC y aquellos que no presentaron manifestaciones clínicas. En ambos grupos se identificó al CAV-2 junto a otros agentes y se concluyó que tanto animales sintomáticos como asintomáticos podrían ser positivos a estos patógenos pero variar entre un curso clínico o subclínico (Mochizuki et al., 2008).

Por ello, como evidencian los resultados de este estudio, la presentación clínica no es un factor determinante para la presencia o ausencia de CAV-2 debido a su alta morbilidad y a que el curso depende del estado inmune del paciente y otros factores (Lavan y Knesl, 2015).

Cabe recalcar que el 100% de los animales positivos estuvieron vacunados contra CAV-2; en ese sentido, es importante señalar que este virus produce enfermedades respiratorias restringidas o localizadas, es decir que la fase de replicación del virus se da a nivel de la mucosa respiratoria. Por otro lado, los antígenos de CAV-2 que se encuentran en la vacuna no se replican a nivel sistémico, por ende el virus vacunal no se va encontrar en las secreciones nasales y oculares del paciente (MacLachlan y Dubovi, 2017), infiriendo que los resultados obtenidos se interpretan como verdaderos positivos.

Un estudio realizado en Alemania evaluó la presencia de patógenos del complejo respiratorio infeccioso canino mediante hisopados nasofaríngeos analizados por PCR. El

100% de los caninos contaban con historiales de vacunación contra CDV y CAV-2 y el 45% de ellos fueron vacunados adicionalmente contra TBIC (Schulz et al., 2014).

Todos los perros fueron positivos para, al menos, un agente del complejo respiratorio canino. Identificaron que el 13% de los animales sanos fueron positivos a CAV-2, mientras que en animales enfermos identificaron el 6% para Bordetella bronchiseptica y CPiV a pesar de que en los historiales de vacunación contaban con vacunas para los tres agentes (Schulz et al., 2014).

Esto contrasta con un estudio realizado en Italia en el que la prevalencia de infección por CAV-2 y CAV-1 fue 58.8% y 7.8%, respectivamente. El 100% de los animales habían sido vacunados contra ambos agentes hace menos de un año e inclusive existían caninos vacunados por última vez hace 40 días, por lo que concluyeron que las vacunas contra CAV-1 y CAV 2 limitan la manifestación clínica de la enfermedad pero no protegen de la infección y eliminación a nivel fecal (Balboni et al., 2014).

CONCLUSIÓN

La prevalencia de CAV-2 determinada con la evaluación cualitativa fue del 2,13% mientras que con el lector fue cuantitativo fue 8,51%, lo que implica que el equipo tiene mayor sensibilidad al detectar casos con menor carga antigénica.

En los factores de riesgo, no se evidenció relación estadística entre la presencia de CAV-2 y la edad, el sexo o la presencia de signos respiratorios, pero sí existió asociación ($p < 0,05$) con los antecedentes de signos respiratorios como parte del historial durante la estadía en el refugio, probablemente debido a la aplicación de tratamientos empíricos que dan lugar a recurrencia de la infección en los pacientes previamente enfermos.

En cambio, los animales con signos respiratorios al momento del estudio podrían atribuir dichas manifestaciones clínicas a la existencia de otros patógenos del complejo respiratorio infeccioso canino.

A pesar de que los caninos del refugio fueron inmunizados de forma anual contra CAV-2 se evidenció la presencia del antígeno en los animales; por la distribución del antígeno vacunal se afirma que el antígeno detectado por el kit diagnóstico corresponde a un virus de infección, denotando una brecha en la cobertura de protección de las vacunas utilizadas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Avendaño, L. (2019) “Infección Respiratoria por Adenovirus en pediatría: de ayer y hoy”, *Neumol Pediatr*, 14(1), pp. 12–18. Disponible en: <https://www.neumologia-pediatria.cl/wp-content/uploads/2019/05/3.pdf>.
- Balboni, A. et al. (2014) “Investigación de la presencia de adenovirus canino (CAV) en perros en el norte de Italia”, *Research in Veterinary Science*. Elsevier Ltd, 97(3), pp. 631–636. doi: 10.1016/j.rvsc.2014.10.010.
- Bobadilla, J. et al. (2009) “Métodos y Técnicas de diagnóstico”, en UNAM (ed.) *Diplomado a Distancia en Medicina Cirugía y Zootecnia en Perros y Gatos*. Séptima. México, pp. 11–25.
- Buñay, T. (2019) *Diagnóstico comparativo de moquillo en caninos (Canis lupus familiaris) machos y hembras mediante la técnica ELISA cuantitativa y ELISA cualitativa*, Universidad Politécnica Salesiana De Cuenca. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/17819/1/UPS-CT008428.pdf>.
- CDC (2019) “Adenovirus”, Centro Nacional de Inmunización y Enfermedades Respiratorias (NCIRD). Disponible en: <https://www.cdc.gov/adenovirus/hcp/clinical-overview.html>.
- Crawford, C. (2015) “Infecciones respiratorias de caninos en refugios de animales”, *Shelter Medicine Program*. Disponible en: <https://www.sheltermedicine.com/library/resources/?r=canine-infectious-respiratory-disease-complex-a-k-a-kennel-cough#Environmental>.
- Gallegos, G. (2018) *Evaluación de bienestar animal mediante un sistema de control de calidad en el Refugio ‘Paraíso Huellas Rescate Animal’ en la Parroquia Guayllabamba del Cantón Quito*. Universidad de Las Américas. Disponible en: <http://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/8887/1/UDLA-EC-TMVZ-2018-21.pdf>.
- GenBody (2018) “Canine Adenovirus 2 Antigen (CAV2 Ag) Test”. Korea, pp. 1–2.
- González, M. et al. (2006) “Aislamiento y caracterización de cepas de Bordetella bronchiseptica de origen canino.”, *Veterinaria México*, 25, pp. 314–315. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/423/42337304.pdf>.

- Greene (2008) *Enfermedades infecciosas del perro y el gato*. 3a ed. Editado por I. Medica. Buenos Aires.
- King, L. (2006) *Enfermedades Respiratorias en el Perro y en el Gato*. Editado por M. E. Veterinarias. Barcelona.
- Lavan, R. y Knesl, O. (2015) “Prevalencia de patógenos respiratorios infecciosos caninos en perros asintomáticos presentados en refugios de animales de EE. UU”, *Journal of Small Animal Practice*, 56(9), pp. 572–576. doi: 10.1111/jsap.12389.
- Leon, C. (2009) Estudio retrospectivo de los casos de enfermedad respiratoria presentados en caninos y felinos de la clinica veterinaria Dover de Bogota durante 15 años (1993 - 2007). Universidad de la Salle.
- Lynch, J., Fishbein, M. y Echevarria, M. (2011) “Adenovirus”, Thieme Medical, 32, pp. 494–500. Disponible en: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0031-1283287>.
- MacLachlan, J. y Dubovi, E. (2017) “Chapter 10 – Adenoviridae”, en Elsevier (ed.) *Fenner’s Veterinary Virology*, pp. 217–227. doi: 10.1016/B978-0-12-800946-8.00010-6.
- Maurol, L. (2006) “Manejo de la traqueobronquitis infecciosa canina (TIC)”, *REDVET*, 02, pp. 1–6. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/636/63612643015.pdf>.
- Mazon, J. (2018) Prevalencia de Distemper y Adenovirus Tipo II en perros de La Cooperativa Balerio Estacio Bloque 1. Universidad de Guayaquil. Disponible en: [http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/32883/1/2018-320 Mazon Guanoluiza Jonathan Javier.pdf](http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/32883/1/2018-320-Mazon-Guanoluiza%20Jonathan%20Javier.pdf).
- Mochizuki, M. et al. (2008) “Estudio etiológico de infecciones respiratorias superiores de perros domésticos”, *Journal of Veterinary Medical Science*, 70(6), pp. 563–569. doi: 10.1292/jvms.70.563.
- Monteiro, F. et al. (2016) “Detección de virus respiratorios en perros de refugio mantenidos en condiciones ambientales variables.”, *Brazilian Journal of Microbiology*. Sociedade Brasileira de Microbiologia, 20, pp. 4–9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjm.2016.07.002>.

- Newbury, S. et al. (2010) Pautas para los estándares de cuidado en refugios de animales. Editado por Asociación de refugios veterinarios. Disponible en: [https://www.semanticscholar.org/paper/Guidelines-for-standards-of-care-in-animal-Smith, M. \(2010\) Guía operativa para las agencias de control y cuidado de animales: saneamiento y control de desastres en el entorno del refugio. Editado por A. H. Americana. Disponible en: https://www.americanhumane.org/](https://www.semanticscholar.org/paper/Guidelines-for-standards-of-care-in-animal-Smith, M. (2010) Guía operativa para las agencias de control y cuidado de animales: saneamiento y control de desastres en el entorno del refugio. Editado por A. H. Americana. Disponible en: https://www.americanhumane.org/).
- Sowman, H. R., Cave, N. J. y Dunowska, M. (2018) “Encuesta de patógenos respiratorios caninos en perros de Nueva Zelanda”, *New Zealand Veterinary Journal*. Taylor & Francis, 14, pp. 1–19. doi: 10.1080/00480169.2018.1490214.
- Valle, M., Mieles, G. y Lazo, G. (2016) Patologías diagnosticadas en perros de la Clínica Veterinaria de La Universidad Agraria del Ecuador durante el periodo 201-2014. Universidad Agraria del Ecuador. Disponible en: http://www.uagraria.edu.ec/publicaciones/revistas_cientificas/13/049-2017.pdf.
- Vieson, M. D., Piñeyro, P. y Leroith, T. (2012) “Una revisión de la patología y el tratamiento de las infecciones respiratorias caninas.”, *Dovepress*, 3, pp. 25–39. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6065594/>.
- WSAVA (2016) “Directrices para la vacunación de perros y gatos”, *Small Animal Practice*, 57, pp. 10–15. Disponible en: <https://www.wsava.org/WSAVA/media/Documents/Guidelines/WSAVA-vaccination-guidelines-2015-Spanish.PDF>.
- Yoon, S. S. et al. (2010) “Comparación de los métodos de diagnóstico sobre la infección por adenovirus canino tipo 2”, *Basic and Applied Pathology*, 3(2), pp. 52–56. doi: 10.1111/j.1755-9294.2010.01073.x.