



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY



Facultad de Veterinaria
Universidad de la República
Uruguay

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

**DETERMINACIÓN DE LA CIRCULACIÓN DE SARS-COV-2 EN PERROS Y
GATOS DE LA CIUDAD DE MONTEVIDEO CUYOS TUTORES SEAN
COVID 19 POSITIVOS O RECUPERADOS**

por

Inés VAZ, Andrea FREGOSI, Natalia CAMILO.

TESIS DE GRADO presentada como uno de los requisitos
para obtener el título de Doctor en Ciencias Veterinarias,
Orientación: Medicina Veterinaria.
MODALIDAD: Ensayo experimental.

MONTEVIDEO

URUGUAY

2022

PÁGINA DE APROBACIÓN

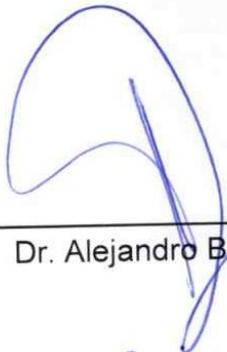
Tesis aprobada por:

1. Presidente de mesa:



Dra. Alicia Decuadro

2. Segundo miembro (tutor):



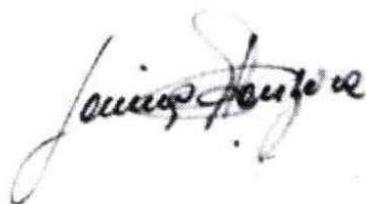
Dr. Alejandro Benech

3. Tercer miembro:



Dra. Gabriela Franco

4. Cuarto miembro (co-tutor) _____

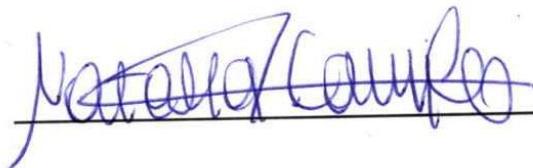


Dra. Yanina Panzera

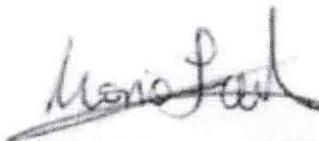
Fecha: 31/10/2022

Autores:

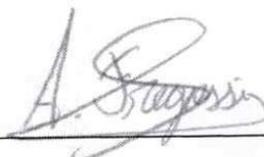
1. Br. Natalia Camilo:



2. Br. Inés Vaz:



3. Br. Andrea Fregossi:



Dedicatoria

A nuestra familia, amigos y personas que participaron de forma voluntaria en este trabajo, a ellos nuestro más sincero agradecimiento.

AGRADECIMIENTOS

Natalia Camilo: Deseo agradecer a quienes me apoyaron sólidamente en este largo, desafiante y gratificante camino, entre ellos incluyo a mi familia (principalmente a mis padres) por permanecer junto a mí incluso en los momentos en los que el cansancio y el estrés ganaban al disfrute de este sueño anhelado desde la infancia, por confiar en mí plenamente, por apoyarme de todas las formas posibles, por nunca derrumbar mis sueños sino fortalecerlos. También quiero agradecer a mi hermoso compañero de vida, por brindarme siempre una palabra de estímulo y ánimo cuando más lo necesité, por su actitud positiva, por ver mi potencial, y finalmente por acompañar mis diferentes estados anímicos en este largo camino que es la Facultad. Agradezco enormemente a mis amigos y compañeros, que con el pasar de los años, siempre demostraron estar en todo momento, siendo mi gran sostén; especialmente a Diego Álvez, Marta Méndez, Florencia Navarro, entre muchos otros.

Destaco a mis docentes que aportaron a mi formación académica y personal, y que con vocación e interés supieron cultivar la clase de profesional que deseo ser, entre ellos, nuestro tutor Dr. Alejandro Benech, Dra. Nadia Crosignani, Dra. Cecilia Menendez, Dra. Mary Cuns, Dra. Claudia Della Cella, a ellos mi más sincero e inmenso agradecimiento. Por otra parte, extendiendo mi agradecimiento a todas las personas que de una forma u otra participaron de esta investigación, destacando al Dr. Federico Machin por compartirnos material y brindarnos su apoyo. Y, finalmente, agradezco a cada animal que me dejó una enseñanza, por los cuales mantuve mi amor por esta profesión.

Ines Vaz: En primer lugar, me gustaría agradecer a mi madre, Susana Pacheco, quien con su cariño, paciencia y resiliencia me acompañó en cada etapa del camino hasta llegar este día. Siempre creyó en mí y no sería posible llegar hasta aquí sin ella, la mujer más admirable que haya conocido. En segundo lugar, a mi hermana Noely Vaz, por su complicidad y compañía durante toda mi vida.

Luego a mis amigos, esos de la vida, del trabajo, de la Facultad, por hacer más dulces los momentos amargos de la carrera. A mis compañeras de este trabajo por el apoyo y las ganas de culminar una etapa enorme de nuestras vidas dando lo mejor de nosotras.

Por último, a todos esos maestros y profesores que desde mi niñez me han forjado, me han incentivado a soñar, los que me enseñaron con pasión y alegría, y ya de adulta, los que me impregnaron con su ética profesional.

Andrea Fregossi: En primer lugar, quisiera agradecer a mis padres, Sergio Fregossi y Susana Viana por apoyarme incondicionalmente desde que era una niña de 10 años que básicamente abrazaba cualquier animalito que se le cruzara y decidí que quería ser Veterinaria. También quiero agradecer a mi hermana, Giulliana Scuoteguazza, que desde su lugar me ha ayudado a transitar la carrera de mejor manera y ha celebrado mis éxitos como si fueran suyos, así como me

ha acompañado en momentos no tan buenos. Agradezco igualmente al resto de mi familia, que de alguna manera siempre ha estado presente en este camino recorrido.

Por otra parte, agradezco a mis amigas que han vivido toda esta locura conmigo y han sabido comprender cada cancelación de planes, estando conmigo en las buenas para celebrar y en las malas para prestarme un oído o un hombro. A mis compañeros de facultad, que hacen el camino más liviano y principalmente a mis compañeras de tesis por su dedicación y comprensión cuando no podía ir a su mismo ritmo; sé que van a ser excelentes profesionales.

Por último, pero no menos importante, quiero agradecer a todos los docentes que he tenido a lo largo de la carrera, porque muchos de ellos han dejado huellas en mí y son mi ejemplo a seguir en muchos aspectos.

Tabla de contenido

PÁGINA DE APROBACIÓN	2
<i>Dedicatoria</i>	3
AGRADECIMIENTOS	4
RESUMEN	8
SUMMARY	9
INTRODUCCIÓN	10
Origen e Historia de SARS-CoV-2	10
<i>Taxonomía</i>	13
<i>Genoma</i>	18
<i>Receptor ACE2</i>	19
Origen Zoonótico y transmisión del SARS-CoV-2	21
Historial de casos reportados en animales.	24
SITUACIÓN MUNDIAL DESDE EL COMIENZO DE LA PANDEMIA.	24
HIPÓTESIS	30
OBJETIVOS	30
MATERIALES Y MÉTODOS	30
<i>Declaraciones de ética</i>	30
<i>Criterios de inclusión y diseño experimental</i>	31
<i>Examen clínico</i>	31
<i>Colección de muestras</i>	32
<i>Análisis Hematológico</i>	32
<i>Detección del virus SARS-CoV-2</i>	33
<i>Análisis serológicos</i>	33
RESULTADOS	34
<i>Muestras y signos clínicos de los animales:</i>	34
<i>Screening por qPCR:</i>	41
DISCUSIÓN	43
CONCLUSIONES	47
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Géneros de coronavirus y sus respectivos hospederos.....	13.
Figura 2. Coronavirus con potencial zoonótico.....	15.
Figura 3. Esquema de la estructura de un coronavirus.....	18.
Figura 4. Origen y Transmisión del Sars-Cov-2 junto con el rol potencial de las mascotas y otros animales en la transmisión de la enfermedad.....	22.
Figura 5. Representación gráfica de la distribución mundial de los brotes de SARS-CoV-2 en veintitrés especies animales notificadas a la OIE.....	24.
Figura 6. Sars-Cov-2 y el concepto “Un Mundo Una Salud”.....	46.

LISTA DE TABLAS.

Tabla 1. Nombre, huéspedes naturales y síntomas causados por los principales coronavirus.....	16.
Tabla 2. Tabla de datos.....	36.

LISTA DE FOTOS.

Foto 1, 2 y 3. Materiales utilizados.....	33.
Foto 4, 5, y 6. Tomando las muestras, hisopado nasofaríngeo y rectal, equipo de bioseguridad.....	34.
Foto 7. Rottweiler “Ivar” positivo a Sars-Cov-2.....	41.
Foto 8. Gato “Miguel” positivo al Sars-CoV-2.....	41.

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Sintomatología presentada por tutores.....	40.
Gráfico2. Resultados en porcentaje.....	42.

RESUMEN

Las infecciones esporádicas por SARS-CoV-2 en animales domésticos han ocurrido desde el comienzo de la pandemia hasta la actualidad. Por lo tanto, desde la perspectiva de One Health, la investigación de las redes de transmisión entre humanos y animales domésticos es un tema de interés científico y público mundial. El presente estudio analiza muestras nasofaríngeas y rectales de gatos domésticos (n=16) y perros (n=24) cuyos tutores tuvieron COVID-19 en las semanas previas. Las muestras fueron derivadas a los laboratorios específicos para evaluar el estado de salud de los animales y determinar la presencia de virus SARS-CoV-2. El análisis de las muestras detectó SARS-CoV-2 en un perro y un gato asintomáticos en diciembre de 2020 cuando la frecuencia de casos de COVID-19 aumentó considerablemente.

SUMMARY

Sporadic SARS-CoV-2 infections in domestic animals have occurred since the beginning of the pandemic to the present. Therefore, from a One Health perspective, the investigation of the networks of transmission between humans and domestic animals is a topic of scientific and public interest on a global level. The present study analyzes nasopharyngeal and rectal samples from domestic cats (n=16) and dogs (n=24) whose tutors had COVID-19 in the previous weeks. The samples were referred to the specific Laboratories to evaluate the health status of the animals and determine the presence of SARS-CoV-2 virus. The analysis of the samples detected SARS-CoV-2 in an asymptomatic dog and a cat in December 2020 when the frequency of COVID-19 cases increased considerably.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas afectan a las personas, los animales domésticos y la vida silvestre, y varios patógenos pueden infectar a múltiples especies. En las últimas décadas, ha habido un aumento en el número de enfermedades zoonóticas infecciosas emergentes en humanos que se originaron en la vida silvestre. Múltiples factores como la globalización y la urbanización, dentro de ellos, la movilidad, la población humana, densidad, estructuras de contacto, producción y consumo de alimentos, deforestación y contaminación, cambios en el clima, evoluciones moleculares en diferentes especies de huéspedes, respuestas del huésped a infecciones e interacciones entre animales salvajes, animales domésticos y humanos, dan oportunidades de diseminación de patógenos, lo que dificulta las actividades de prevención (Chen, Liu y Guo, 2020 citado por Costagliola et al., 2021).

Origen e Historia de SARS-CoV-2

En diciembre de 2019, en la ciudad de Wuhan, provincia de Hubei, China, surgió un nuevo serotipo de coronavirus (el séptimo que afecta al ser humano), causante de la enfermedad llamada Enfermedad por Coronavirus 2019 (COVID-19). Este virus se ha extendido por todo el mundo causando una pandemia y amenazando la salud y la economía mundial (Wu, et. al., 2020). El Comité Internacional de Taxonomía nombró oficialmente a este nuevo serotipo como coronavirus del *Síndrome Respiratorio Agudo Grave 2* (SARS-CoV-2), basándose en que comparte una secuencia altamente homóloga con SARS-CoV-1, además de compartir la misma patogénesis (Hoffman, 2020; Li et. al., 2020a).

El 30 de enero de 2020, la OMS declaró el brote de coronavirus como Emergencia Sanitaria Pública de importancia internacional. Con su rápida propagación por los continentes, la OMS clasificó el COVID-19 como una "pandemia" el 11 de marzo 2020 (Khalid et al., 2020). La OMS ha vinculado el brote de la enfermedad de COVID-19, que provocó una neumonía de origen desconocido, al mercado mayorista de mariscos de Huanan, un mercado de animales vivos ubicado en la ciudad de Wuhan, al cual asistieron un grupo de personas que presentaron enfermedad respiratoria grave (Li et al., 2020 y Zhou et al., 2020 citados por Leroy et al., 2020). Se informa que este mercado de mariscos y vida silvestre ha albergado una gran variedad de especies de mamíferos (Zhang y Holmes, 2020). Dichos mercados de animales vivos brindan condiciones ideales que facilitan el contacto entre las especies de animales salvajes y domésticas con el ser humano. Sin embargo, a pesar de que se han propuesto varias hipótesis, no se ha identificado ningún origen animal específico hasta ahora (Adhikari, et. al. 2020; Lu, et. al. 2020; Wang, Horby, Hayden y Gao, 2020).

Desde la aparición del SARS-CoV-2 en Wuhan, el virus llevó a cabo una mutación continua y evolución progresiva. Entre los principales generadores de mutaciones continuas se encuentra la capacidad del SARS-CoV-2 para cruzar

fácilmente la barrera entre especies. Tales mutaciones tienen como objetivo adaptar el genoma viral a su nueva especie huésped (Garry, 2021 citado por El-Sayed, Abdel-Daim y Kamel. (2021).

Aunque en humanos los síntomas clínicos y la gravedad de la enfermedad COVID-19 dependen en gran medida de la edad, el estado de salud de los pacientes infectados, entre otros factores, lo más frecuente es fiebre de leve a alta, tos seca, disnea, fatiga y dolor muscular, expectoración, cefalea, hemoptisis, diarrea, etc (Huang et. al. 2020). Los pacientes son epidemiológicamente significativos y responsables de la propagación exponencial del virus (Andersen, Rambaut, Lipkin, Holmes y Garry, 2020; Zhang, Wu y Zhang, 2020 citado por Ranganathan, *et al.*, 2020). La mayoría de las infecciones (aproximadamente el 81 %) son levemente sintomáticas, aunque estos pacientes pueden propagar la enfermedad a un individuo sano por contacto directo (tos, estornudos) del paciente infectado, a través de gotitas respiratorias (Guarner, 2020 citado por Golzar, Aneela, Sharmin y Sukumar, 2020). La transmisión indirecta también puede ocurrir por las superficies o materia fecal contaminada (Hindson, 2020 y Wu et al., 2020 citados por Golzar et al., 2020). Ya se ha informado que muchos de los pacientes infectados, no muestran ningún síntoma clínico, pero pueden propagar el virus. Por otro lado, la persona infectada puede transmitir el virus antes de la presentación de síntomas. Por lo tanto, el SARS-CoV-2 puede ser transmitido a personas sanas de tres formas posibles: pacientes con COVID-19 sintomáticos, presintomáticos o asintomáticos (OMS, reporte 73, 2020). Además, se postula que el SARS-CoV-2 puede transmitirse en ambientes cerrados por el aire, contribuyendo a la transmisión secundaria del virus (Morawska y Nishiura, 2020 citados por Golzar et al., 2020).

Independiente de la carga viral de COVID-19 en personas sanas, también se ha atribuido a la predisposición genética, en particular, la prevalencia de alelos HLA permisivos como los que conducen a una extrema y a menudo letal reacción inflamatoria (Correale et al., 2020; Mutti et al, 2020 citado por Costagliola et al., 2021). Así mismo, dos artículos recientes sugieren que las personas con sangre del grupo O pueden tener un menor riesgo de contraer el SARS-CoV-2 o pueden presentar sólo síntomas leves (Barnkob et al., 2020; Hoiland et al., 2020 citado por Costagliola et al., 2021).

Más recientemente, a medida que se expandía la pandemia, las mujeres parecían estar afectadas con la misma frecuencia que los hombres, lo que representa aproximadamente la mitad de la población adulta mundial. Sin embargo, las mujeres parecían sufrir y morir con menos frecuencia a causa del COVID-19 que los hombres. Esto se atribuyó a su diferente inmunidad innata, hormonas esteroideas y las propiedades de sus cromosomas sexuales (Conti y Younes, 2020; Pirhadi, Talaulikar, Onwude, Manyonda, 2020 citado por Costagliola et al., 2021).

El ARN del SARS-CoV-2 se puede detectar mediante RT-PCR en material de hisopado nasofaríngeo 1 a 3 días antes del inicio de síntomas, con valores máximos alrededor del inicio de los síntomas, seguido por una disminución gradual con el tiempo (Pan, Zhang, Yang, Poon LLM y Wang, 2020; Zou et al., 2020 citado por D de Vries et al., 2021).

Con respecto al tratamiento en humanos, la lactoferrina tiene una amplia gama de efectos antivirales, inmunomoduladores, y antiinflamatorios. Los estudios in vitro han demostrado actividad antiviral contra una amplia gama de virus, incluido el SARS-CoV, que está estrechamente relacionado con el SARS-CoV-2. Eso parece ser responsable de la ausencia de síntomas en los bebés nacidos de madres con COVID-19 (Peroni y Fanos, 2020; Yang et al., 2020 citado por Costagliola et al., 2021). Debido a sus actividades inmunomoduladoras y antiinflamatorias, se ha sugerido la lactoferrina como un posible complemento en los casos graves de COVID-19 (Campioni et al., 2020; Chang, Ng, y Sun, 2020 citado por Costagliola et al., 2021).

“Además de los múltiples casos de COVID-19, hospitalizaciones y muertes en humanos, se han informado varios casos de infecciones por SARS-CoV-2 en huéspedes animales (perro, gato, tigre, león y visón).” (Tazerji et al., 2020). Por lo tanto, ha surgido preocupación por parte de los tutores de animales de compañía en lo que respecta a la transmisión del virus de humanos a animales y viceversa (Tazerji et al., 2020). A pesar de haberse informado varios casos de transmisión del SARS-CoV-2 de personas infectadas a animales, es menester la realización de estudios adicionales a fin de evitar la ocurrencia de maltrato animal por temor a que estos representen una fuente de infección, además de lograr una mejor comprensión del comportamiento de este virus en el medio ambiente, humanos y animales. Las futuras investigaciones deben basarse en un concepto de “One Health”, con el objetivo de ayudar a elaborar y aplicar medidas preventivas para combatir la transmisión del COVID-19.

El primer caso positivo del denominado síndrome respiratorio agudo grave (SARS-CoV-2) en la región fue hecho público en la ciudad de São Paulo, Brasil, el 25 de febrero de 2020 (Statista Research Department. (2022) *El Coronavirus (COVID-19) en América Latina*. Recuperado de <https://es.statista.com/temas/6298/el-nuevo-coronavirus-covid-19-en-america-latina/>). Pocos días después se confirmaron las primeras infecciones en México, Ecuador y Chile, siendo estas algunas de las naciones latinoamericanas más afectadas. Brasil, el país más poblado de la región, es también el que cuenta con más casos confirmados de la enfermedad. En la actualidad, Argentina es el segundo país latinoamericano con la mayor cantidad de casos de coronavirus, habiendo sobrepasado a otros países como Perú y México en número de infecciones y casos fatales.

En Uruguay el primer caso fue confirmado el 13 de marzo del 2020, ocurriendo desde allí un crecimiento exponencial del número de casos. En noviembre del 2021, y luego de casi un control completo de la transmisión en nuestro país sostenido desde Julio, se da un nuevo aumento de los casos de SARS-CoV-2, coincidiendo con la introducción al país de la variante Omicron (Ministerio de Salud Pública (M.S.P) (2022). Informe Epidemiológico COVID-19 Recuperado de <https://www.gub.uy/ministerio-salud-publica/comunicacion/noticias/informe-epidemiologico-covid-19-actualizado-18-enero-2021>).

Taxonomía

Los coronavirus (CoV) son una causa reconocida de enfermedad en una amplia gama de huéspedes, incluidos humanos y animales. Desde finales de la década de 1930, se han aislado diferentes CoV de varios animales infectados y especies de aves, incluidos roedores, ganado, cerdos, gatos, camellos, murciélagos, perros, gallinas y pavos (Ye, Yuan, Yuen, et al., 2020; Saif LJ, 2004).

Los coronavirus producen enfermedades respiratorias, gastrointestinales, hepáticas y neurológicas en gran variedad de vertebrados, entre ellos mamíferos y aves (Lau et. al., 2010). Son un grupo de virus perteneciente al Orden Nidovirales, familia Coronaviridae, subfamilia Orthocoronavirinae, y se clasifican en cuatro géneros según sus propiedades genéticas y antigénicas: Alpha, Beta, Gamma y Deltacoronavirus (Figura 1). Los coronavirus alfa y beta infectan a mamíferos, entre ellos al hombre, mientras que los coronavirus gamma y delta infectan principalmente a las aves, aunque algunos de ellos pueden infectar a los mamíferos (King et. al., 2012; Woo et. al., 2012). El género Betacoronavirus incluye el *Síndrome Respiratorio Agudo Severo Coronavirus 2* (SARS-CoV-2), el agente causal de COVID-19 en humanos (Du Toit, 2020).

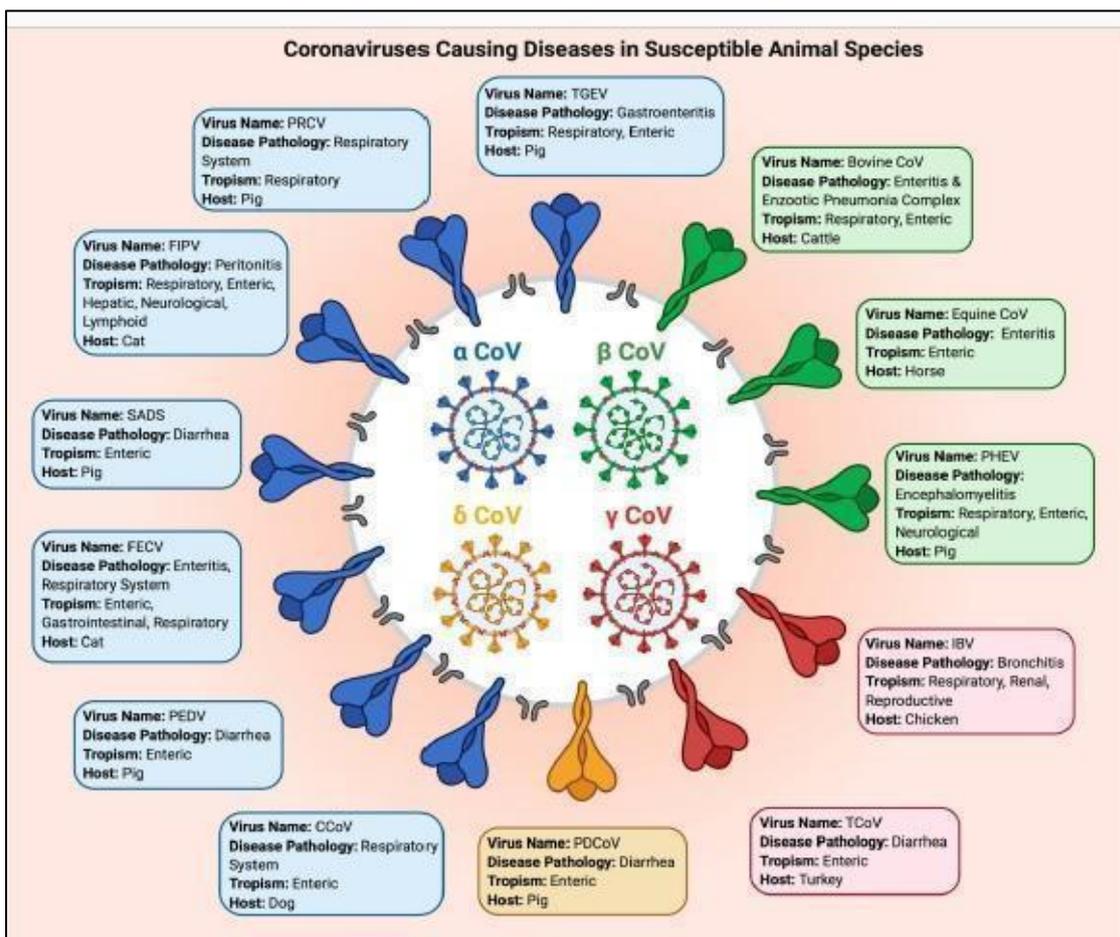


Figura 1. Géneros de coronavirus y sus respectivos hospederos. Coronavirus de importancia causantes de enfermedades en especies animales. La figura muestra los diferentes coronavirus, sus principales signos clínicos, especies hospederas, y tropismo en tejidos/órganos. PEDV: Virus de la Diarrea Epidémica Porcina; TGEV: Virus de la Gastroenteritis Transmisible; PRCV: Coronavirus Respiratorio Porcino; FIPV: Virus de

la Peritonitis Infecciosa Felina; FECoV: Coronavirus Entérico Felino; CCoV: Coronavirus Canino; PDCoV: Coronavirus Delta Porcino; TCoV: Coronavirus de Gallina; IBV: Virus de la Bronquitis Infecciosa; PHEV: Virus Hemoaglutinante y de la Encefalomiелitis Porcina; ECoV: Coronavirus Equino; BCoV: Coronavirus Bovino; SADS-CoV: Síndrome de Diarrea Aguda por Coronavirus. (Fuente: Zoonotic and reverse zoonotic events of SARS-CoV-2 and their impact on global health. Khalid Munir, et. al. 2020).

En la tabla 1 se mencionan en detalle los 4 tipos de CoV, la especie que afectan y los principales síntomas que producen.

La mayoría de los coronavirus humanos producen una enfermedad leve en el tracto respiratorio superior, mientras que algunas cepas son letales. Hasta diciembre de 2019 se conocían únicamente 6 serotipos de coronavirus que afectaban a los seres humanos. Cuatro de ellos (HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63 y HCoV-HUK1) son causantes de resfriado común que, ocasionalmente, pueden producir infecciones graves de las vías respiratorias inferiores, principalmente en lactantes, personas mayores y personas inmunocomprometidas (Cui et. al., 2011; Van der Hoek, 2007). Los dos serotipos restantes, surgidos recientemente, el *Síndrome Respiratorio Agudo Severo* (SARS-CoV-1), en China en el año 2003 (Cheng et. al., 2007) y el *Síndrome Respiratorio de Oriente Medio* (MERS-CoV), en Arabia Saudita en el año 2012 (Zaki et. al., 2012), causan infecciones respiratorias mucho más graves produciendo brotes de neumonía mortal en el presente siglo (Croman et. al. 2018). Se informó que estos dos coronavirus y el SARS-CoV-2 eran zoonóticos (Rodríguez-Morales et. al. 2020a) (Figura 2).

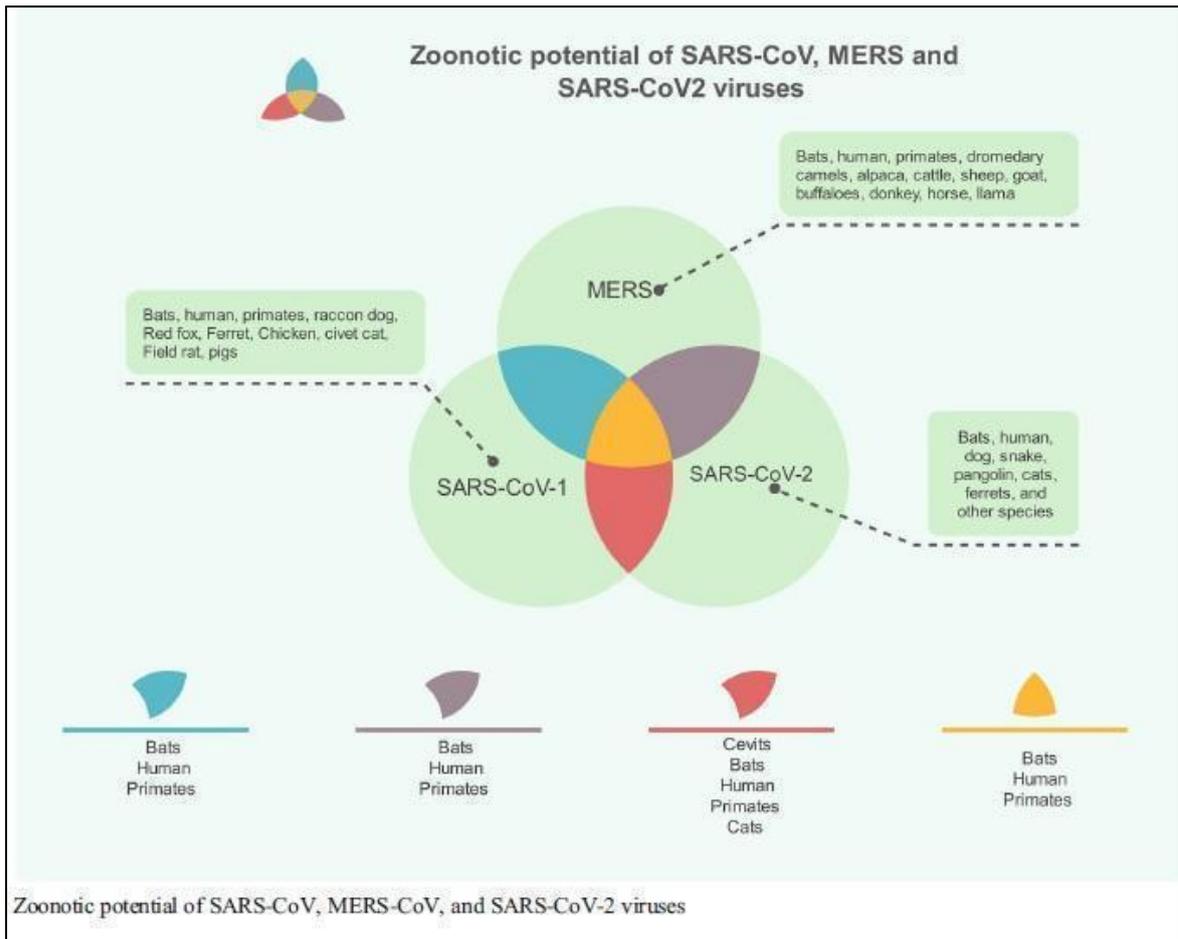


Figura 2. Coronavirus con potencial zoonótico: SARS-CoV, MERS-CoV, SARS-CoV-2. (Fuente: Zoonotic and anthroozoonotic potential of COVID-19 and its implications for public health. Amr El-Sayed, Mohamed M. Abdel-Daim y Mohamed Kamel, 2021).

Las variaciones de nucleótidos del coronavirus causante de COVID-19 están estrechamente relacionadas con el coronavirus del SARS (SARS-CoV), por lo que se le ha denominado SARS-CoV-2. Las investigaciones moleculares describen un alto porcentaje de homología de secuencia entre ambos (Lu, et. al., 2020; Jalava 2020). En comparación con los CoV zoonóticos anteriores, el SARS-CoV-2 es más infeccioso y contagioso, lo cual queda demostrado a partir del creciente número de casos de COVID-19 en todo el mundo debido a la transmisión eficiente de persona a persona (Dhama et. al. 2020).

Desde marzo de 2020, el SARS-CoV-2 (subgénero Sarbercovirus) ha generado la crisis de salud pública más importante del mundo, con graves impactos socioeconómicos adversos, afectando distintos aspectos de la actividad humana, incluida la salud animal (Ahmad, et. al. 2020; Ciotti, et. al. 2020; Gortázara y de la Fuente 2020; Nicola, et. al. 2020).

Tabla 1. Nombre, huéspedes naturales y síntomas causados por los principales coronavirus.

Grupo Viral	Virus	Huésped	Síntomas Respirat.	Síntomas entéricos	Síntomas Neurol.	Síntomas Hepát.
<i>Alfa</i>	CVH 229E	Humano	X			
<i>Alfa</i>	CVH NL63	Humano	X			
<i>Alfa</i>	VGPT	Porcino	X	X		
<i>Alfa</i>	CVC	Canino		X		
<i>Alfa</i>	CVEF	Felino		X		
<i>Alfa</i>	VPIF	Felino	X	X	X	X
<i>Beta</i>	CVH OC43	Humano	X			
<i>Beta</i>	CVH HUK1	Humano	X			
<i>Beta</i>	SARS	Humano	X			

	CoV-1					
<i>Beta</i>	MERS CoV	Humano	X			
<i>Beta</i>	SARS CoV-2	Humano	X	X		
<i>Beta</i>	VHM	Murino	X	X	X	X
<i>Beta</i>	VEH	Porcino	X	X	X	
<i>Beta</i>	CVB	Bovino		X		
<i>Beta</i>	CVco	Conejo		X		
<i>Gamm a</i>	VBIA	Aves	X			
<i>Delta</i>	CVP	Pavo	X			

CVH-229E, Coronavirus respiratorio humano; CVH-NL63, Coronavirus respiratorio humano; VGPT, virus de la gastroenteritis porcina transmisible; CVC, coronavirus canino; CVEF, coronavirus entérico felino; VPIF, virus de la peritonitis infecciosa felina; CVH-OC43, coronavirus respiratorio humano; CVH-HUK1, Coronavirus respiratorio humano; SARS-CoV-1, Coronavirus causante del síndrome respiratorio aguda grave; MERS-CoV, Coronavirus causante del síndrome respiratorio del Medio Oriente; SARS-CoV-2, Coronavirus causante de la enfermedad COVID-19; VHM, virus de la hepatitis murina; VEH, Virus de la encefalomiélitis porcina hemaglutinante; CVB, coronavirus bovino; CVco, coronavirus del conejo; VBIA, virus de la bronquitis infecciosa aviar; CVP, coronavirus del pavo; CVEH, coronavirus entérico humano. (Tomado y adaptado de Holmes, 1990).

Genoma

El SARS-CoV-2 es un virus envuelto y de forma esférica, que tiene un diámetro de aproximadamente 125 nm (entre 50 a 200 nm) (Barcena et. al. 2009) y se caracteriza por sus proyecciones de espiga, en forma de clavo en la superficie del virión, otorgándole una apariencia distintiva de corona, de donde proviene el nombre de coronavirus (Fehr, 2015; Siddell et. al., 1983). El genoma viral es un material de ARN de sentido positivo monocatenario de un tamaño relativamente grande (~30 kb) a partir del cual se producen 4 proteínas estructurales (estructura del virión) y 16 proteínas no estructurales (involucradas en la replicación y transcripción viral, nsp1-16). Las proteínas estructurales son: espiga (S), membrana (M), envoltura (E), y nucleocápside (N) (Figura 3). La envoltura viral consta de las proteínas E y M en las que se ancla S. El SARS-CoV-2 ingresa a las células huésped mediante el dominio de unión al receptor (RBD) de la proteína S que interactúa con el receptor celular enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) (Xu et al., 2020 citados por Golzar et al., 2020). El genoma también contiene ORF para proteínas accesorias (3a, 6, 7a, 7b, 8 y 10) que modulan el proceso de infección en el huésped natural (Li et al., 2020; Narayanan, Huang y Makino, 2008). Además, el genoma del coronavirus tiene una evolución rápida y una gran plasticidad impulsada por mutaciones puntuales, deleciones e inserciones y recombinación. Esta característica contribuye a la transmisión rápida en curso y la propagación mundial del SARS-CoV-2 y la aparición de cepas con nuevas propiedades biológicas (Cagliani et. al., 2020; Woo et. al., 2009).

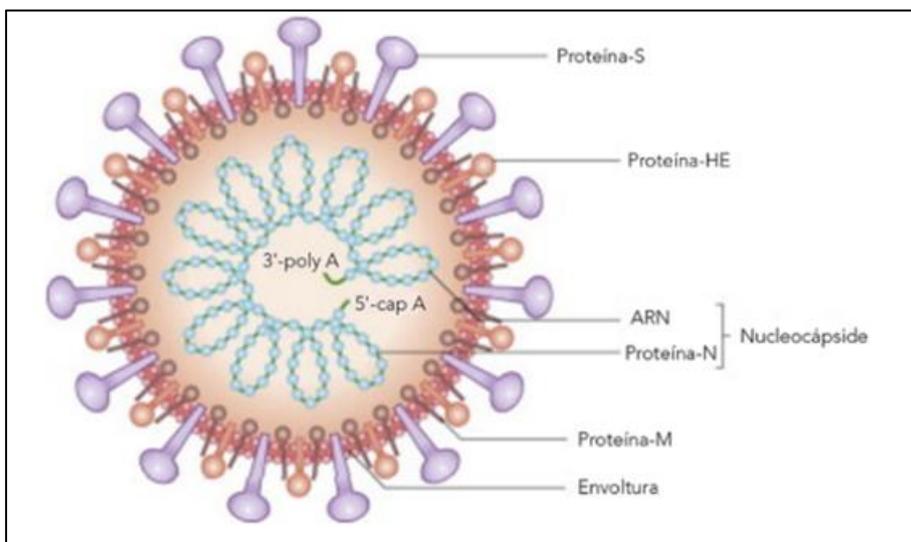


Figura 3. Esquema de la estructura de un coronavirus. Se muestran: genoma (ARN), unido a la proteína de la nucleocápside (N), la glucoproteína en espiga (S), la glucoproteína de la matriz (M), y las proteínas de envoltura (E) (tomado de Virology, Stephen N J Korsman et. al., 2012, Ed. Elsevier).

Receptor ACE2

Las glucoproteínas S constituyen la estructura de espiga distintiva en la superficie viral (Beniac et. al., 2006), la cual es esencial para la entrada de partículas del virus en la célula huésped (Collins et. al., 1982). Imágenes obtenidas con criomicroscopía electrónica ilustraron que la glicoproteína en espiga está formada por una subunidad S1, con tres cabezas y un tallo trimérico que forma la subunidad S2. Para que un virus ingrese a una célula huésped, S1 se une a un receptor específico de la superficie celular a través de su dominio de unión al receptor (RBD), y S2 fusiona la membrana de la célula huésped y viral, permitiendo la entrada del genoma viral en dichas células (Wrapp et. al., 2020). La proteína S1 contiene una estructura central y un bucle extendido, el cual interactúa con la peptidasa enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2). Debido a que este bucle extendido hace el contacto con ACE2, se ha denominado “Dominio de Unión al Receptor” (RBD) (Li et. al., 2005a). Dicho RBD ha sido la base de numerosos estudios, habiendo sido utilizado para recrear el virus en condiciones de laboratorio así como para la generación de vacunas para mascotas actualmente en desarrollo (K.Tabynov et al. 2022). Por su parte, el dominio S2 se mantiene conservado entre todos los coronavirus, que se diferencian mucho más en la subunidad S1 (Chang et. al., 2020).

Se ha identificado que para la entrada en células huésped humanas, el SARS-CoV-2 usa el mismo receptor que el SARS-CoV-1, la ACE2 (Hoffmann et. al., 2020; Walls et. al., 2020). Más aún, Wrapp et. al. (2020), encontraron que la capacidad de unión al receptor de SARS-CoV-2 es 10 a 20 veces superior que SARS-CoV-1. Teniendo en cuenta que la enzima ACE2 (expresada en endotelio vascular) está presente en todos los mamíferos, se han llevado a cabo líneas de investigación centradas en el estudio de este receptor y si constituye una barrera segura para evitar el salto del virus entre animal y humano. Se encontró que los genes ACE2 de varias especies de mamíferos están altamente conservados, lo que sugiere que el SARS-CoV-2 puede unirse potencialmente a las proteínas ACE2 de una amplia variedad de especies animales (Sun et. al., 2020). Además de eso, se informó que los gatos y los perros son las especies más cercanas a los seres humanos en el árbol filogenético graficado basado en las proteínas ACE2 (Sun et. al., 2020). A partir del resultado de un análisis filogenético de ACE2 de una serie de animales candidatos, se sugiere que el ACE2 felina es muy similar a la ACE2 humana (con 5 variaciones en la interfaz), lo que explicaría la susceptibilidad de los gatos al SARS-CoV-2 (Bao et al., 2021; Stout et al., 2020).

Por otra parte, un estudio reciente encontró que el RBD de SARS-CoV-2 puede reconocer el receptor ACE2 de las células huésped de cerdos, hurones, gatos, orangutanes, monos y humanos con eficiencias similares (Wan et. al., 2020). Siguiendo con las investigaciones al respecto, la ACE2 humana ha mostrado una similitud de secuencia de aminoácidos de 80.75%, 83.48% y 81.37% con la ACE2 de murciélago grande de herradura (*Rhinolophus sinicus*), civeta (*Paguma Larvata*) y cerdo (*Sus scrofa*), respectivamente (especies en las que el virus ha demostrado la capacidad de unirse a su receptor). La ACE2 del ratón, especie en la que el SARS-CoV-2 no ha demostrado capacidad de infectar, presentó una similitud del 82.11% con la ACE2 humana, mayor que el murciélago grande de

herradura y que el cerdo, lo que demuestra que otros factores intervienen en esta unión (Zhou et. al. 2020). Por lo tanto, como así lo expresan Tilocca et al. (2020), la sola investigación de las secuencias genéticas podría resultar en una descripción parcial o incompleta de la fuente del virus, la biología y su mecanismo patogénico (Tetro, 2020 citado por Tilocca et al., 2020).

Solo algunos aminoácidos en ACE2 son los que participan en la unión a S1 del SARS-CoV-2. Las investigaciones muestran que las especies que carecen de susceptibilidad a la infección por SARS-CoV-2 tienen mutaciones no conservadas en varios residuos de aminoácidos de ACE2. Esta mutación interrumpirá los contactos polares y cargados clave con la proteína S del SARS-CoV-2 (Rodrigues et. al., 2020). Entre los 20 aminoácidos presentes en el receptor ACE2 que entran en contacto con la proteína S viral, ACE2 aún puede actuar como receptor del SARS-CoV-2 incluso si se reemplazan siete de los aminoácidos (Zhai et. al., 2020). “Dentro de la secuencia primaria ACE2, se ha encontrado que cuatro aminoácidos clave (K31, Y41, N90 y K353) se correlacionan con una mayor susceptibilidad a la infección por SARS-CoV-2” (Devaux, Pinault, Osman y Raoult, 2021 citado por Ekstrand et al., 2021) y dicha susceptibilidad podría explicarse por la similitud de los polimorfismos del sitio de unión de ACE2 que contiene K353 e Y41 en todas las especies de mamíferos (Hassan et al., 2020 citado por Ekstrand et al., 2021). “El dominio de unión al receptor ACE2 del hurón tiene dos de los cuatro aminoácidos clave (K31 y K313) necesarios para una unión óptima por SARS-CoV-2” (Devaux et. al., 2021 citado por Ekstrand et al., 2021), siendo por este motivo una de las especies utilizadas como modelo de pequeños animales. El informe de Devaux et al. (2021) indica apoyo a la hipótesis de que las especies con componentes de aminoácidos K31 y K353 en sus receptores ACE2 son más susceptibles al SARS-CoV-2, y que tales similitudes entre las especies pueden ser un buen predictor de la susceptibilidad.

Qui et. al. (2020) diseñaron un ranking de capacidad de utilización de ACE2 por parte del SARS-CoV-2 para diversas especies, resultando según este estudio que los ACE2 de gato, vaca, oveja, cerdo y cabra se agruparan en un altísimo porcentaje con ACE2 humano.

Hancock et. al. (2021) también construyeron árboles filogenéticos basados en similitudes en las secuencias de proteínas que componen tanto el receptor ACE2 como el TMPRSS2 y encontraron que la especie que compartían la mayoría de las secuencias de aminoácidos para este receptor y la proteasa también eran las especies que hasta la fecha han dado positivo por SARS-CoV-2 (por ejemplo, hurones, visones, gatos, tigres, y perros). (Hancock, Rouse, Stone, y Greenhough, 2021 citado por Ekstrand et al., 2021).

Teniendo en cuenta que Uruguay presenta gran cantidad de algunas de estas especies, consideramos que sería de gran interés seguir investigando la posibilidad de un nuevo salto de este virus hacia otras especies, particularmente del humano a los animales de producción o a los animales de compañía (perros y gatos).

Origen Zoonótico y transmisión del SARS-CoV-2

Se ha postulado como origen zoonótico del SARS-CoV-2 al murciélago grande de herradura (*Rhinolophus ferrumequinum*), a partir del cual, mediante mutaciones, el virus habría logrado saltar a otras especies silvestres y de éstas al ser humano (Figura 4). Los murciélagos son un reservorio natural importante, ya que los coronavirus están bien adaptados y no son patógenos para ellos, aunque sí revelan una gran diversidad genética (Ludwig y Zarbock 2020; Ye et al., 2020; Rabí et al., 2020 citados por Do Vale et al., 2021). Además, los CoV similares al SARS de murciélago exhiben frecuentemente una recombinación dentro de las proteínas estructurales entre los CoV de diferentes huéspedes, que puede aumentar el potencial de transmisión entre especies (Ji et al., 2020 citados por Do Vale et al., 2021). Si bien los murciélagos son probablemente el reservorio animal del SARS-CoV-2 (Wong et al., 2020 y Zhou et al., 2020 citados por Do Vale et al., 2021) no son su huésped principal dado que, el bat CoV-RaTG13 del murciélago de herradura parece no usar el mismo receptor ACE2 utilizado por el SARS-CoV-2 (Yuen et al., 2020 citados por Do Vale et al., 2021), los murciélagos no están disponibles a la venta en el mercado de mariscos de Huanan (Guo et al., 2020 citados por Do Vale et al., 2021), y la mayoría de las especies de murciélagos en Wuhan están hibernando en diciembre (Sol et al., 2020 citados por Do Vale et al., 2021). Además, como así lo expresan los autores Do Vale et al. (2021), “no hay confirmación sobre la transmisión directa de SARS-CoV-2 de murciélagos a humanos (Wong et al., 2020 citados por Do Vale et al., 2021), y, de hecho, el primer paciente documentado no estaba vinculado a este mercado” (Huang et al., 2020 citados por Do Vale et al., 2021). En conclusión, a pesar del rol de este mercado en la propagación temprana del virus, y su probable origen en los murciélagos, se considera la posibilidad de otras fuentes de infección (Guo et al., 2020; Huang et al., 2020; Jin et al., 2020; Xiao et al., 2020 citados por Do Vale et al., 2021).

En vista de la dificultad de transmisión directa del virus desde el murciélago a los humanos, se requiere un huésped intermediario para propagarse a los humanos y causar enfermedades (Zhai et al., 2020). El huésped intermediario entre el murciélago y el hombre hasta ahora es desconocido (Andersen et al., 2020), sin embargo, la especie más aceptada es el pangolín (*Manis pentadactyla*) (Lam et al., 2020; Zhang et al., 2020a; Li et al., 2020b), objeto de contrabando ilegal desde sus hábitats naturales (sudeste asiático) a China debido a sus escamas utilizadas en la medicina tradicional china, además de su carne valorada como un manjar (Volpato et al., 2020; Wong et al., 2020 citados por Do Vale et al., 2021). Se especula sobre la posibilidad de dicho animal como huésped intermediario, ya que se ha identificado una cepa de coronavirus que muestra gran similitud con el SARS-CoV-2 en el dominio de unión al receptor (RBD), que permite la unión del virus a las células huésped (Lam et al., 2020 citados por Hernández et al., 2020).

Se considera que los huéspedes intermediarios del SARS-CoV-2 deberían estar entre las especies de vida silvestre matadas y vendidas en el mercado mayorista de mariscos de Huanan en Wuhan (Ye et al., 2020; Huang et al., 2020 citados por Do Vale et al., 2021). Aunque los pangolines y otras especies animales de los mercados de animales vivos se han visto implicadas, actualmente no existe

evidencia sólida con respecto al posible huésped intermediario que podría haber facilitado la transmisión del SARS-CoV-2 entre su reservorio de murciélagos y humanos (Jaimes et al., 2020; Zhang y Holmes, 2020 citados por Stout et al., 2020).

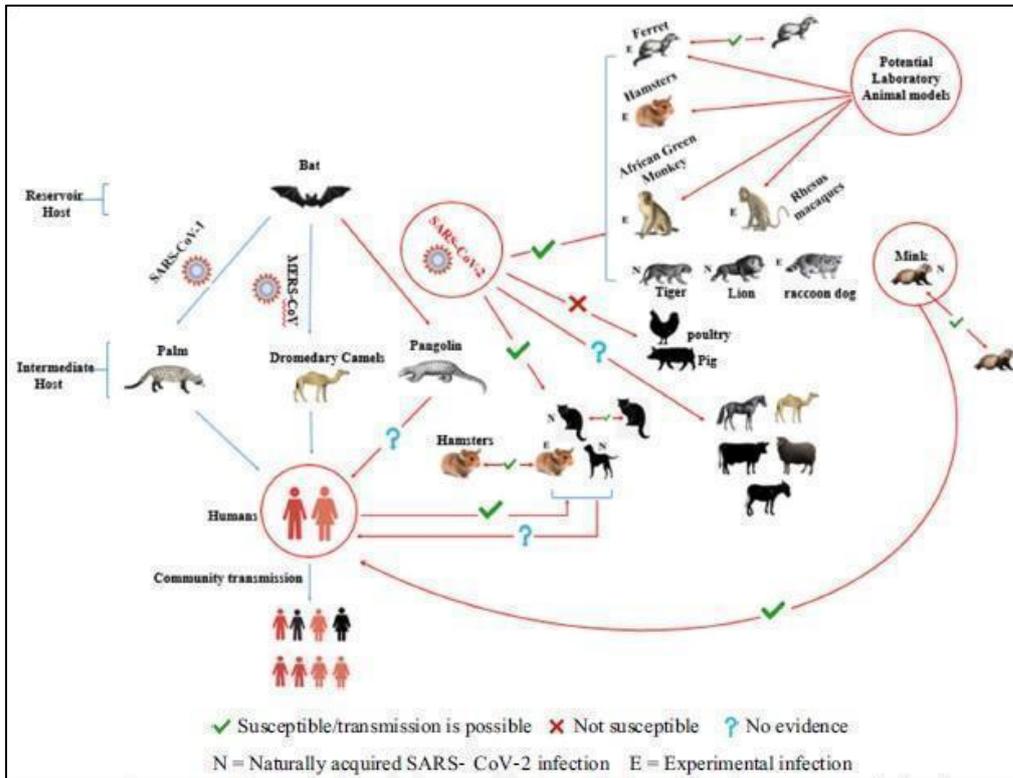


Figura 4. Origen y Transmisión del SARS-CoV-2 junto con el rol potencial de las mascotas y otros animales en la transmisión de la enfermedad. Esta figura muestra el presunto origen de los coronavirus y la transmisión de la enfermedad a humanos con especial foco en SARS-CoV-2. Animales de compañía como gatos y perros son susceptibles a SARS-CoV-2 y los humanos pueden ser una fuente de infección para ellos, de todas formas, el rol potencial de las mascotas en la transmisión de la enfermedad a humanos es desconocido. Otros animales como hamsters, mono verde Africano, macaco Rhesus, mapache, visones, hurones, tigre y león son susceptibles a SARS-CoV-2 también. De estos animales susceptibles, hamsters, mono verde Africano, macaco Rhesus y los hurones, son los modelos animales potenciales. Gatos y hamsters, dentro de mascotas, y visones y hurones dentro de otros animales, tienen potencial de transmitir el virus a sus respectivos compañeros. Los visones pueden ser una fuente de infección para humanos. Dada la similitud en la expresión del receptor ACE2, se asume que puede ser posible una transmisión del virus al humano, a partir de otros animales también. Por esto, las medidas preventivas usuales deberían siempre estar presentes como parte de la estrategia de prevención de la enfermedad, para evitar transmisión animal-animal, humano-animal y animal-humano (Fuente: COVID-19 pandemic: current knowledge about the role of pets and other animals in disease transmission, Mulugeta et al., 2020).

Si bien aún no se ha confirmado el origen de este virus, algunos autores siguen especulando que el candidato más probable es el murciélago, el pangolín o una combinación de ambos (Andersen et al., 2020 citados por Gollakner y Capua, 2020). Habiendo cruzado con éxito la barrera interespecie hacia la población humana y logrado propagarse eficazmente, se plantea la interrogante de si el SARS-CoV-2 puede volverse endémico en múltiples especies y poblaciones animales (Gollakner y Capua, 2020). La posible transmisión antropozoonótica entre humanos y animales (producción, recreación y domésticos) genera preocupación, por lo que, las autoridades sanitarias han tomado medidas significativas para identificar especies receptoras y evitar ciclos de transmisión (Kiros et. al., 2020). La susceptibilidad de varias especies de mamíferos se ha confirmado experimentalmente in vivo o mediante la detección de infecciones naturales (Bertzbach et. al., 2021; Kim et. al., 2020; Prince et. al., 2021). Los felinos silvestres cautivos son susceptibles al SARS-CoV-2, incluidos tigres, leones, leopardos y pumas (Bartlett et. al., 2021; McAloose et. al., 2020).

“Los hurones podrían estar infectados y posteriormente desarrollar una infección del tracto respiratorio superior con fiebre. Los gatos domésticos también podrían infectarse y desarrollar anticuerpos específicos” (Bosco-Lauth et al., 2020 citado por Brussow. 2021). Los hámsters también se agregaron más tarde a la lista de animales susceptibles (Chan et al., 2020; Sia et al., 2020 citado por Brussow. 2021).

Los gatos y los visones han sido las especies más reportadas con infección por SARS-CoV-2; pero hasta ahora no se ha demostrado que los animales sean responsables de la transmisión de enfermedades a los humanos, a excepción de un informe de transmisión de visones a humanos en Europa (Molenaar et. al., 2020; Newman et. al., 2020; OudeMunnink et. al., 2021 citado por Tewari et al., 2021). Los visones parecen particularmente receptivos al SARS-CoV-2, como lo demuestra la alta tasa de mortalidad observada después de la infección en varias granjas peleteras en los Países Bajos (Oreshkova et. al., 2020). Se ha informado de la transmisión viral de visones a otros animales de la misma especie y la transmisión de visones a humanos (Fenollar et al., 2021).

Los perros mostraron una susceptibilidad reducida, pero seroconversión, mientras que cerdos, pollos y patos (sospechosos habituales para reordenamientos de virus de la influenza) no pudieron estar infectados con SARS-CoV-2. El SARS-CoV-2 tiene, por tanto, un amplio rango de hospedadores, lo que no debería sorprender ya que los coronavirus son patógenos virales generalizados (Shiet et al., 2020 citado por Brussow. 2021).

La detección de Infecciones asintomáticas prevalentes en animales de compañía, y la estimación de su contribución proporcional en la propagación del SARS-CoV-2 a los seres humanos y otras especies animales, si las hay, requieren más investigaciones. (Sit THC et al., 2020 citado por Khalid et al., 2020).

Hasta ahora, no se ha identificado el origen del SARS-CoV-2, la búsqueda del origen del SARS-CoV-2 ha sido eclipsada por disputas políticas entre China y EE.UU., creando hipótesis no probadas de que el virus se haya introducido accidentalmente desde un instituto de investigación que trabaja con coronavirus

de murciélago en Wuhan (juzgado como altamente improbable por una comisión de la OMS) o por manipulación genética deliberada, alimentando salvajes teorías de conspiración que recuerdan historias como el envenenamiento del pozo durante las olas de peste medieval (Winkler, 2007 citado por Brussow, 2021).

Historial de casos reportados en animales.

Se han confirmado varios casos de infección natural de SARS-CoV-2 en animales, y estudios de laboratorio mostraron que los gatos y hurones son altamente susceptibles al virus (Kim et al., 2020). Según la homología del receptor, aunque el SARS-CoV-2 ha causado principalmente infección humana, la transmisión de SARS-CoV-2 entre especies era predecible (Chiocchetti, Galiazzo, Fracassi, Giancola y Pietra, (2020); Luan, Lu, Jin y Zhang, (2020); Shi et. al., 2020 citado por Tewari, 2021).

Hasta la actualidad, los perros, los leones y los tigres se consideran el callejón sin salida de la infección donde de hombre a perro (Sit et. al., 2020; Patterson et. al., 2020 citado por El-Sayed et al., 2021), león (McAloose et. al., 2020 citado por El-Sayed et al., 2021) y tigre (McAloose et. al., 2020 citado por El-Sayed et al., 2021) la transmisión podría ser reportada pero no a la inversa. Respecto a la afectación de animales de compañía, han surgido diversos informes sobre casos de infección natural en perros y gatos.

SITUACIÓN MUNDIAL DESDE EL COMIENZO DE LA PANDEMIA.

En la figura a continuación, se muestra la distribución geográfica mundial de los brotes de SARS-CoV-2 en animales notificados a la OIE (Figura 5). El primer caso de SARS-CoV-2 en animales fue oficialmente reportado a la OIE por Hong Kong (SARC) el 29 de febrero del 2021 en un perro.

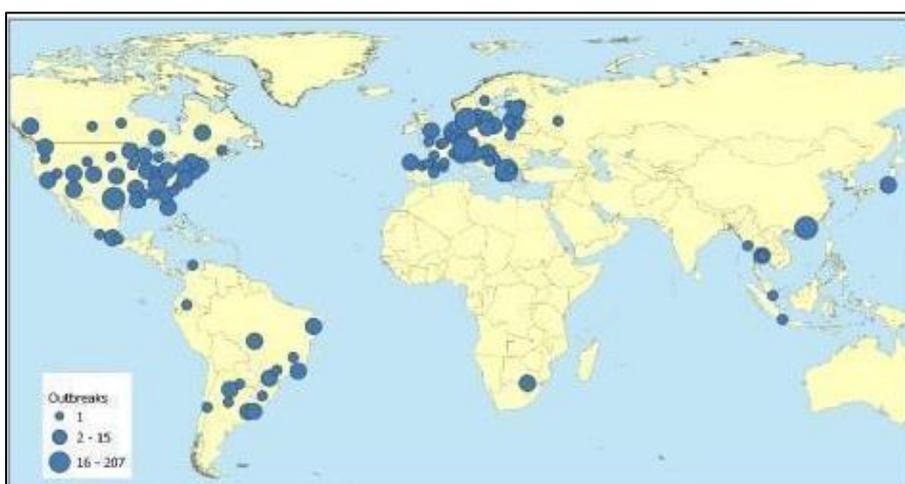


Figura 5. Representación gráfica de la distribución mundial de los brotes de SARS-CoV-2 en veintitrés especies animales notificadas a la OIE (al 31 de mayo 2022). Tener en cuenta que el tamaño de los puntos en el mapa es proporcional a la cantidad de brotes notificados.

El primer caso anunciado a comienzos de marzo 2020 en Hong Kong corresponde a un perro macho castrado de raza Pomerania asintomático de 17 años, que dio positivo al SARS-CoV-2 por RT-PCR en múltiples hisopos nasales y orales (ARN viral detectado en 5 hisopados), mientras que las muestras rectales y fecales resultaron negativas. En las muestras positivas se detectaron pequeñas cantidades de ARN viral, no pudiéndose aislar el virus, lo que sugiere que las muestras recolectadas tenían una carga viral baja (<http://promedmail.org/post/20200306.7057595>, 2020 citado por Leroy et al., 2020). Su tutora, una mujer de 60 años, estaba infectada con el virus y desarrolló síntomas. La mera presencia del ARN viral no confirma de manera decisiva la infección activa; pruebas serológicas, aislamiento de virus y / o cuantificación en serie de ácidos nucleicos virales son necesarios para confirmar la infección. Se detectó respuesta de anticuerpos usando ensayos de neutralización en placa (<http://promedmail.org/post/20200326.7146438>, 2020 citado por Leroy et al., 2020). El perro geriátrico falleció tres días después presumiblemente debido a otros problemas de salud subyacentes (enfermedad renal y cardíaca). Por tanto, se concluyó que el perro o bien tenía un nivel bajo de infección o estaba contaminado con SARS-CoV-2 por contacto cercano con y / o exposición a una persona infectada (Gollakner y Capua, 2020; Mallapaty, 2020 citado por Khalid et al., 2020 y Stout et al., 2020; Sit et al., 2020) y que la probabilidad de transmisión infecciosa era mínima o inexistente (Leroy et al., 2020).

El 19 de marzo se anuncia el segundo caso, otro perro de raza Pastor Alemán, asintomático de 2 años y medio, que fue positivo por qPCR, el cual convivía con su tutor positivo para COVID-19, localizado en Hong Kong. Para este animal, tanto el hisopado oral, nasal y rectal resultaron positivos en varias ocasiones. Adicionalmente, al igual que con el perro anterior, se detectó respuesta de anticuerpos por ensayos de neutralización en placa. Es importante destacar que el otro perro de la misma residencia dio negativo para el SARS-CoV-2 (Sit et al., 2020a). Enfatizamos que, estos dos primeros casos de animales notificados no mostraron ningún signo clínico relacionado con la infección, y en sus secreciones respiratorias excretaron cargas bajas del virus (Sit et al., 2020 citados por Decaro et al., 2021).

El primer caso confirmado positivo por SARS-CoV-2 de un perro en los EE. UU (Nueva York) fue un Pastor Alemán macho de 6 años, cuyo tutor había sido confirmado con COVID-19 (ABC, 2020 citado por Khalid et al., 2020; Decaro et al., 2021). El perro dio positivo a mediados de abril de 2020 y fue sacrificado el 11 de julio de 2020. Las secuencias virales obtenidas del perro y de su tutor resultaron ser idénticas, lo que confirma la hipótesis de una transmisión viral desde el hombre al animal (<http://promedmail.org/post/20200319.7112693>, 2020 citado por Leroy et al., 2020). Aunque el perro dio negativo en RT-PCR para SARS-CoV-2 cinco días después, desarrolló anticuerpos anti-SARS-CoV-2 lo que indica que tenía una infección activa. Al igual que en los casos anteriores, la infección fue baja y probablemente no contagiosa (Leroy et al., 2020). Este perro mostró signos de secreción nasal mucopurulenta con dificultad para respirar y letargo (ABC, 2020 citado por Khalid et al., 2020). Los signos adicionales observados fueron hematuria, sangre coagulada en el vómito, dificultad para caminar y pérdida de peso. Este perro también fue diagnosticado con linfoma y soplo cardíaco (ABC, 2020 citado por Khalid et al., 2020). Este caso planteó dos

cuestiones importantes, extrapolables a otros casos de infección natural clínica. Primero, ¿qué signos (si los hay) en este perro se debían a la infección por SARS-CoV-2, y, en segundo lugar, si las comorbilidades, como problemas cardíacos o cáncer, desempeñaron algún papel en el aumento de la susceptibilidad del animal de compañía a la infección por SARS-CoV-2. La investigación ha demostrado que los perros expuestos al SARS-CoV-2 pueden producir anticuerpos anti-SARS-CoV-2 sin exhibir síntomas de COVID-19 (Gollakner y Capua, 2020; Shi et al., 2020; Tiwari et. al., 2020 citado por Khalid et al., 2020).

A partir de estos informes, se detectaron casos asintomáticos y sintomáticos (síntomas respiratorios) en perros de tutores con COVID-19 (Golzar et al., 2020; Zhao, Cui y Tian, 2020). Adicionalmente, se reportaron casos positivos en gatos domésticos, siendo el primero en Bélgica (Garigliany et. al., 2020), cuyo tutor estaba enfermo por COVID-19. El animal se muestreó después de presentar dificultad respiratoria, vómitos y diarrea, lo que podría indicar una replicación activa del virus (Garigliany et. al., 2020; Jurgiel et. al., 2020; Chini, 2020). Se detectaron niveles altos de ARN de SARS-CoV-2 en las muestras de heces y vómitos (Thompson, 2020), a través de PCR cualitativa. Hasta la fecha se desconoce si los signos clínicos observados estaban asociados con la infección por SARS-CoV-2 (Decaro et al., 2021). Si bien los resultados demuestran la presencia de ARN viral, se necesitan análisis de PCR cuantitativos y pruebas serológicas a fin de comprender mejor esta infección y los riesgos potenciales (<http://promedmail.org/post/20200326.7151215>, 2020 citado por Leroy et al., 2020). Este caso fue seguido de otros reportados en China, Estados Unidos, varios países europeos, Japón y cuatro países sudamericanos; Argentina, Brasil, Chile y Perú (Carlos et. al., 2021; Sailleau et. al., 2020; Schiaffino et. al., 2021; Segalés et. al., 2020). En los casos mencionados anteriormente, destacamos que la infección estaba restringida a las vías respiratorias superiores, aunque también hubo diseminación viral por heces. Por otra parte, no menos importante, los animales de compañía fueron infectados por sus tenedores positivos a SARS-CoV-2. No se constató evidencia de transmisión a otros animales dentro del mismo domicilio, o transmisión a seres humanos (Stout, et. al., 2020).

De los 124 casos de SARS-CoV-2 en gatos notificados hasta julio 2021, 70 presentaron información clara sobre la aparición o ausencia de signos clínicos. En el 54% de los casos (38 gatos), eran asintomáticos. Estos casos se identificaron principalmente porque estaban estrechamente relacionados a pacientes humanos diagnosticados con COVID-19. (OIE, 2021; USDA, 2021 citado por Giraldo-Ramirez, Rendon-Marin, Jaimes, Martinez-Gutierrez, y Ruiz-Saenz, 2021). Además, el 46% de los casos (32 animales) mostraron signos clínicos que podrían ser asociados con la infección por SARS-CoV-2; Se recuperaron 26 de estos animales. Seis animales murieron en el curso de la infección, tres de los cuales fueron sacrificados y tres murieron como consecuencia de complicaciones médicas. Uno de estos casos (informado en los Estados Unidos) mostró signos respiratorios como dificultad para respirar y taquipnea. Además, el gato fue diagnosticado con miocardiopatía hipertrófica e infección por *Mycoplasma haemofelis* (Segalés et. al., 2020 citado por Giraldo-Ramirez et al., 2021).

Otro caso de muerte debido a complicaciones médicas después del diagnóstico de SARS-CoV-2 fue también reportado en los Estados Unidos. En este caso, un gato mostró signos clínicos asociados con el tracto respiratorio, secreción nasal y signos neurológicos como presión en la cabeza. Los resultados de la necropsia sugirieron que el gato tenía meningoencefalitis bacteriana (OIE, 2021 citado por Giraldo-Ramirez et al., 2021). Asimismo, se reportó la muerte de otro animal infectado en España. El gato presentó disnea y taquipnea aguda que requirió atención veterinaria. El gato fue diagnosticado con anemia, trombocitopenia y miocardiopatía hipertrófica. El examen de ultrasonido reveló un patrón broncointersticial en el pulmón. El curso de la enfermedad del animal fue desfavorable y se requirió la eutanasia (OIE, 2021; Segalés et. al., 2020 citado por Giraldo-Ramirez et al., 2021).

Por otra parte, se detectaron anticuerpos neutralizantes del SARS-CoV-2 en gatos de Wuhan, lo que indica infección y producción de respuesta de anticuerpos en condiciones naturales (Zhang et. al., 2020b). Todos los sueros de gatos recolectados antes del brote fueron negativos, lo que sugiere que el SARS-CoV-2 infectó a la población de gatos después de infectar a los humanos. El SARS-CoV-2 puede transmitirse a otros gatos susceptibles en condiciones experimentales en las mismas instalaciones (Shi et. al., 2020), pero no hay evidencia de que los gatos transmitan el SARS-CoV-2 a los humanos (Hoise et. al., 2021).

Aunque se produce la transmisión de gato a gato a través del contacto cercano, la infección por SARS-CoV-2 en gatos sería transitoria, y la transmisibilidad disminuiría con el tiempo produciéndose un estrecho cuello de botella, en contraste con la transmisión sostenida de persona a persona (Li et al., 2020; Braun et al., 2021 citados por Bao et. al., 2021 y Giraldo-Ramirez et al., 2021). Según estos informes, actualmente se acepta que los animales de compañía son susceptibles al SARS-CoV-2, siendo los gatos altamente susceptibles a la infección por vía intranasal y oral con períodos prolongados de excreción viral, pudiendo transmitir el virus a otros gatos susceptibles, pero es poco probable que desarrollen la enfermedad clínica (Shi et al., 2020; Bosco-Lauth et al., 2020; Gaudreault et al., 2020 citados por Bao et al., 2021). Al mismo tiempo, los perros son menos vulnerables (Shi et al., 2020). En vista de los informes de transmisión de SARS-CoV-2 de humanos a gatos domésticos, y a tigres y leones del Zoológico del Bronx, junto con datos de infección experimental realizada por Halfmann et al. (2020), que muestran la facilidad de transmisión entre gatos domésticos, se destaca la importancia de seguir investigando la cadena potencial de transmisión humano-gato-humano (Halfmann et al., 2020).

El análisis epidemiológico sugiere que los humanos fueron la fuente de infección por SARS-CoV-2 en la mayoría de los animales (Kiros et al., 2020; Rubio, Guerra y Almendral, 2001). El origen humano es evidente para los animales domésticos, donde la alta identidad de las secuencias de nucleótidos de longitud completa del SARS-CoV-2 entre perros y gatos, sus tutores y la población humana vecina indica transmisión de persona a mascota (Sailleau et al., 2020; Sit et al., 2020b).

Por otra parte, los visones fueron los primeros animales de granja intensiva en experimentar brotes de SARS-CoV-2, pareciendo ser una especie muy susceptible al virus (Do Vale et al., 2021). En un informe reciente, se confirmó

que visones que presentaban signos gastrointestinales, respiratorios leves a graves, neumonía y mortalidad (principalmente en hembras preñadas) estaban infectados con SARS-CoV-2 en varias granjas en los Países Bajos (Oreshkova et al., 2020). Se cree que varios trabajadores agrícolas, que desarrollaron síntomas consistentes con COVID-19 (signos respiratorios), transmitieron el virus a los visones, dado que dichos síntomas estaban presentes antes de manifestarse la enfermedad en los visones (Enserink 2020; Molenaar et al., 2020; Oreshkova et al., 2020 citados por Do Vale et al., 2021). También es probable que los visones infectados hayan transmitido el virus a algunas de las fincas. La transmisión fue evidente por la similitud de secuencias virales detectadas en individuos infectados y las encontradas en visones, por lo tanto, se considera que la infección generalizada en las granjas de visones fue debida a la transmisión de persona a animal. Además, 7 de los 24 gatos en las granjas de visones también dieron positivo serológicamente para anticuerpos específicos contra el SARS-CoV-2 (AWMA, 2020; Oreshkova, et. al., 2020 citado por Khalid et al., 2020). Desde el primer caso mencionado anteriormente, otros países como EE.UU (Organización de Sanidad Animal (OIE), 2020), Dinamarca (<https://promedmail.org/promed-post/?id=20200617.7479510,,>), España (OIE, 2020: <https://www.oie.int/en/scientific-expertise/specific-information-and-recommendations/questions-and-answers-on-2019novel-coronavirus/events-in-animals>), Lituania, Grecia, Francia, Italia, Polonia y Suecia también han informado casos de SARS-CoV-2 en este animal (Cahan 2020; Oreshkova et. al., 2020; OMS, 2020; OIE, 2020 citados por Sharun et al., 2021). Como se puede notar, todos los brotes de SARS-CoV-2 en visones han ocurrido en países europeos o en los EE.UU, mostrando los resultados la alta susceptibilidad al virus por parte de estos mustélidos (Do Vale et al., 2021).

Los brotes de infecciones por SARS-CoV-2 tanto en visones como en humanos en granjas de visones sugieren que el virus puede potencialmente cruzar fácilmente la barrera natural de las especies entre visones y hombres, lo que genera preocupación por la zoonosis y la zoonosis inversa de la transmisión del SARS-CoV-2. El aislamiento reciente de una cepa variante asociada al visón del SARS-CoV-2 con menor sensibilidad a los anticuerpos neutralizantes y la infección de más de 750 personas hasta el momento, ha llevado tristemente al sacrificio de 17 millones de visones de granja en Dinamarca como medida de control (Oreshkova et. al., 2020; <http://www.who.int/csr/don/03-december-2020-mink-associated-sars-cov2-denmark/en>).

Curiosamente, algunos estudios iniciales comenzaron a evaluar los hallazgos clínicos y patológicos de los visones de granja que murieron a causa del SARS-CoV-2 y encontraron resultados similares a los que otros autores detectaron en humanos (Vasquez-Bonilla et. al., 2020). Además, la detección de ARN del SARS-CoV-2 en el polvo inhalable recogido en la granja afectada confirma la posible transmisión aérea de visón a visón y de visón a humano (Oreshkova et al., 2020 y Zhao et al., 2020^a citados por Sharun et al., 2021). Por lo que, esto requiere más estudios, ya que los visones pueden convertirse, después de los humanos, en el segundo huésped susceptible más relevante para el SARS-CoV-2, y luego, al mismo tiempo, en una fuente potencial para otros animales, como lo ha demostrado evidencia reciente en algunos estudios sobre la transmisión de visón a gato en los Países Bajos (van Aart et. al., 2021).

Con respecto a los animales de compañía, además de perros y gatos, también se ha confirmado que el hámster sirio dorado es susceptible al SARS-CoV-2 en experimentos de laboratorio recientes. Se demostró que los hámsters dorados expuestos al SARS-CoV-2 se pueden infectar y se pudo transmitir el virus a hámsters sin exposición previa, por contacto directo y por aerosoles (Chan et. al., 2020; Sia et. al., 2020 citado por Kiros et al., 2020).

Un estudio experimental reciente verificó que los hurones infectados pueden transmitir el SARS-CoV-2 eficientemente a otros hurones a través del contacto directo y aire (Kim et al., 2020; Richard et al., 2020; Schlottau et al., 2020 citado por Fenollar et al., 2021). En España, Giner et. al. (2021) llevaron a cabo un estudio serológico en 127 hurones domésticos de tutores cuyo estatus frente al SARS-CoV-2 era desconocido, resultando 2 hurones seropositivos, uno de ellos incluso durante 129 días luego de ser detectado. Estos datos, sumado a la gran popularidad que está teniendo esta especie como mascota y al hecho de que pertenece a la misma familia de los visones (que ha demostrado tener la capacidad de transmitir el virus al humano) debería ser tenido en consideración e investigarse con mayor profundidad.

Por el contrario, otros animales domésticos como los cerdos y las aves de corral no son susceptibles al SARS-CoV-2 si bien no hay evidencia hasta ahora sobre la susceptibilidad de animales de ganado como camellos, caballos, ovejas, vacas y burros (Schlottau et al., 2020; Shi et al., 2020 citado por Kiros et al., 2020).

En otro estudio experimental reciente, también se descubrió que los perros mapache eran susceptibles al SARS-CoV-2 y se informó que tenían el potencial de transmitir el virus a otros animales de contacto. Según este estudio, se observó una alta replicación viral en la parte superior y tracto respiratorio inferior después de la inoculación intranasal de SARS-CoV-2 (Freuling et al., 2020 citado por Kiros et al., 2020). En cuanto a otros animales salvajes, el tigre y el león se ha confirmado que son susceptibles al SARS-CoV-2. En abril de 2020, cinco tigres (dos malayos y tres tigres de Amur) y tres leones africanos que presentaban signos (tos seca y algunas sibilancias) fueron positivos en el Zoológico del Bronx en la ciudad de Nueva York, EE. UU. Se asumió que un empleado asintomático del zoológico infectó a los animales (OIE: SARS-CoV-2/COVID19, United States of America. https://www.oie.int/wahis2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?page_refer=MapFuIIEventReport&reportid=33885; OIE: SARS-CoV-2/COVID-19, United States of America. <https://www.oie.int/wahis2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?reportid=34054>).

Si bien los casos de infección por SARS-CoV-2 en animales de compañía han sido esporádicos y suelen presentarse en una baja frecuencia (Barrs et. al., 2020; Calvet et. al., 2021), desde la perspectiva One Health, la investigación de las redes de transmisión entre humanos y animales domésticos es un tema de interés público y científico mundial. En el presente estudio se determinó la presencia del SARS-CoV-2 en un huésped canino y un huésped felino. Se evaluó la antigenicidad frente a las variantes ancestral Wuhan-1 y la actual Delta y Omicron SARS-CoV-2, y se realizó la caracterización genómica.

HIPÓTESIS

A partir de la aparición de casos de COVID-19 en humanos en Uruguay, nuestra hipótesis es que existe circulación del virus SARS CoV2 en perros y gatos en la ciudad de Montevideo y que la presencia viral no produce manifestaciones clínicas en los animales.

OBJETIVOS

General:

Determinar el estado de salud de los animales convivientes con pacientes COVID-19 y la circulación de SARS CoV2 en perros y gatos de la ciudad de Montevideo.

Específico:

Evaluación sanitaria de caninos y felinos a través del examen físico y obtención de muestras nasofaríngeas y rectales en condiciones de riesgo biológico en el domicilio de las personas afectadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Declaraciones de ética

El protocolo experimental fue aprobado por el Comité de Ética de Uso Animal de la Facultad de Veterinaria (CEUA-FVET) con el número 1105/2020. El examen clínico y la toma de muestras de los animales fueron realizados por las tesistas, asistidas por el Tutor de la Tesis, con el consentimiento por escrito de los tutores de los animales que formaron parte de este proyecto, siendo su participación voluntaria.

El trabajo de Tesis fue realizado en el marco del proyecto de investigación titulado “Determinación de la presencia de coronavirus (SARS-CoV-2) en perros y gatos de la ciudad de Montevideo con tutores COVID-19 negativos o positivos”, financiado por CSIC en el llamado 2020, siendo sus responsables los Dres. Alejandro Benech (Facultad de Veterinaria) y Yanina Panzera (Facultad de Ciencias).

Todas las actividades del protocolo relacionadas a la toma de muestras y la ficha clínica de los animales fueron realizadas por las tesistas, en plena pandemia COVID-19, dentro del domicilio de los tutores. El análisis de las muestras de sangre se realizó en el Laboratorio de Análisis Clínicos de Facultad de Veterinaria, mientras que el análisis de detección del ARN viral se realizó en la Facultad de Ciencias (Sección Virología y Genética Evolutiva) por los técnicos a cargo de la Dra. Yanina Panzera.

En caso de encontrar alguna muestra positiva, los responsables del Proyecto acordaron en que la Sección de Genética Evolutiva de FCien realizaría la caracterización de las variantes genéticas circulantes en los animales muestreados, mediante la secuenciación de genomas completos.

Por otro lado, se acordó que, en caso de encontrar ARN viral en las muestras de hisopados de perros y gatos, se enviaría suero de esos mismos animales a Peter Doherty Institute (Melburne, Australia), donde la Dra. Mariana Baz realizaría la detección de anticuerpos neutralizantes mediante ensayos de microneutralización.

Criterios de inclusión y diseño experimental

Se recolectaron muestras de agosto a diciembre de 2020 (20 hogares) que correspondían a animales domésticos que vivían en estrecho contacto con tutores SARS-CoV-2 positivos diagnosticados dentro de los 15 días (muestras incluidas en el Grupo 1), y más allá de los 15 días (muestras dentro del Grupo 2). Se incluyeron 40 animales domésticos (24 perros y 16 gatos) sin discriminación de edad y sexo, que residían en la ciudad de Montevideo. Doce gatos y 19 perros pertenecían a hogares con personas positivas al SARS-CoV-2 (Grupo 1) y los otros 9 animales (5 perros y 4 gatos) provenían de hogares con personas recuperadas (Grupo 2).

A cada animal se le realizó un examen clínico y se le tomó una muestra de sangre y dos hisopados, uno nasofaríngeo y otro rectal. La extracción de las muestras se llevó a cabo con vestimenta de bioseguridad (según el FAD PRéP Manual 4-0). Una vez finalizado el procedimiento, se colocó dicha vestimenta en una bolsa identificada que se introdujo en una segunda bolsa, la cual se identificó como material de riesgo sanitario eliminándose acorde a los protocolos establecidos por las autoridades competentes.

De los animales muestreados se obtuvo los siguientes datos: fecha de visita y muestreo de los animales, información general (edad, sexo, raza, entero/castrado, estado de salud y la presencia de signos respiratorios (tos, estornudos, conjuntivitis, secreción nasal y ocular).

Adicionalmente, se registró el número de integrantes del núcleo familiar que cohabita con los animales, fechas de diagnóstico positivo/negativo y síntomas presentados por los mismos. Se consideró un hogar positivo, aquel en el que existía al menos 1 persona conviviendo con el animal de compañía, habiendo sido diagnosticado con SARS-CoV-2 dentro de un plazo de 15 días previos a la toma de la muestra.

Examen clínico

El examen clínico consistió en inspección general, evaluación del estado de salud, grado de hidratación, inspección de piel y mucosas (bucal, conjuntiva, genital y anal), palpación linfonódulos periféricos (mandibulares, parotídeos, axilares y poplíteos), auscultación cardiopulmonar y medición de la temperatura rectal, además de recabar información sobre patologías preexistentes y tomar

registro de las personas y animales con que convive en la vivienda. Para la realización del examen físico y extracción de muestras, los perros y gatos fueron sujetos físicamente.

Colección de muestras

Se utilizaron dos hisopos estériles para obtener una muestra de epitelio nasofaríngeo/orofaríngeo y de recto de cada animal, acorde a Temmam et al., (2020). Estos hisopos se colocaron en un tubo plástico estéril de 15 ml que contenía 3 ml de medio de transporte viral (VTM), cerrados herméticamente y rotulados (Foto 1 y 2; Foto 4,5 y 6). A continuación, fueron llevados a la Sección de Genética Evolutiva de la Facultad de Ciencias donde se realizó la detección del SARS-COV-2. Los hisopos utilizados eran de silicona, finos y flexibles, desarrollados por la sección de Ingeniería de la Facultad de Química, resultando el raspado de células epiteliales de las mucosas de mejor calidad, pudiéndose obtener un mayor número de células. Adicionalmente, se obtuvo una muestra de sangre por venopunción cefálica (3 ml en gatos y 5 ml en perros); parte de la muestra se colocó en un tubo con anticoagulante (EDTA fluorado), y otra parte en tubo seco (Foto 3). Las muestras de sangre se transfirieron al Laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Veterinaria dentro de las 2 horas posteriores a su obtención. Tanto las muestras de hisopados como las muestras de sangre fueron refrigeradas a 4 grados debiendo cumplirse las regulaciones de conservación y traslado al laboratorio, es decir, el triple empaque (Organización Mundial de la Salud).

El VTM se dividió en alícuotas y se almacenó a -70 °C hasta su posterior análisis. Inmediatamente se obtuvo el hemograma a partir de los tubos con EDTA, mientras que la sangre de los tubos secos se centrifugó a 1500 rpm durante 15 min para obtener el suero, y el sobrenadante se dividió en alícuotas y se almacenó a -70 °C.

Para la obtención de las muestras en los gatos, los animales fueron sedados mediante una inyección intramuscular de clorhidrato de ketamina al 10% (10 mg/kg) y maleato de acepromacina al 1% (0,1 mg/kg), mientras que en los perros no fue necesario este procedimiento.

Análisis Hematológico

El hemograma se realizó en un contador de hematología automatizado (Mythic 18 Vet Hematology Analyzer, Orpheé). El conteo diferencial de leucocitos y la morfología leucocitaria se realizaron inmediatamente después de la llegada de la sangre al Laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Veterinaria, mediante un frotis sanguíneo y tinción con la técnica de May Grunwald-Giemsa con observación al microscopio óptico. La bioquímica sérica se realizó en un analizador semiautomático CB 350i (Wiener lab Group), determinando el perfil renal (urea y creatinina), perfil hepático (proteínas totales, albúmina, colesterol, fosfatasa alcalina sérica, alanina aminotransferasa y aspartato aminotransferasa).

Detección del virus SARS-CoV-2

Una vez que se obtuvieron los hisopados, los mismos fueron enviados a la Sección de Genética Evolutiva de la Facultad de Ciencias (Udelar), donde los técnicos realizaron la detección del ARN viral, mediante la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR) y usando los reactivos (solución mix) desarrollados por el Laboratorio de Virología Evolutiva del Instituto Pasteur. Además, siguieron todos los procedimientos del manejo de muestras clínicas sospechosas de SARS-CoV-2 (<https://www.who.int/health-topics/coronavirus/laboratory-diagnostics-for-novel-coronavirus>).

En las muestras de los animales, que fueron positivas al ARN del virus SARS-CoV-2, se procedió a la secuenciación del genoma. Esta tarea también fue realizada por los técnicos del Laboratorio de Sección de Genética Evolutiva de la Facultad de Ciencias, en la Plataforma Genómica de dicha facultad, utilizando un secuenciador Illumina MiniSeq (Illumina EE.UU) con cartucho de reactivo de salida media MiniSeq™ (300 ciclos, lecturas emparejadas). El recorte de adaptador/calidad y el filtrado de datos sin procesar se realizaron con BBDuk, y el ensamblaje de referencia se realizó con Geneious Prime 2020.1.2 (<https://www.geneious.com>).

Análisis serológicos

Los ensayos de microneutralización, el estándar de oro para evaluar los anticuerpos neutralizantes del SARS-CoV-2, fueron realizados por la Dra. Mariana Baz, en el Collaborating Centre for References and Research on Influenza, Peter Doherty Institute (Melburne, Australia), siguiendo los protocolos publicados por Baz et. al. (2015, 2013), a partir de las muestras positivas a SARS-CoV-2 obtenidas en animales en Montevideo.





Foto. 1, 2 y 3. Materiales utilizados, entre ellos hisopo rotulado con su respectivo medio de transporte, tubos de hemograma y bioquímica.



Foto 4, 5 y 6. Tomando las muestras, hisopado nasofaríngeo y rectal. Se visualiza el equipo de bioseguridad utilizado.

RESULTADOS

Muestras y signos clínicos de los animales:

Se muestrearon 40 animales de 20 domicilios visitados (24 perros y 16 gatos), de los cuales, 31 animales (19 perros y 12 gatos) pertenecían a los hogares del

grupo 1, y 9 animales (5 perros y 4 gatos) pertenecían a los hogares del grupo 2. Los rangos etarios de los perros variaron entre los 3 meses y los 18 años, mientras que en los gatos oscilaron entre los 8 meses y los 15 años. Las “cruzas” fueron la raza de perro registrada con más frecuencia. A continuación, se presentan en forma de tabla los datos obtenidos a partir del muestreo y anamnesis realizada en los respectivos domicilios (Tabla 2).

Tabla 2. Datos.

Mascota	Reseña	Fecha ingreso Muestra	Número de Grupo
Candela	Canino cruza 7 años	4/11/20	Grupo 1
Tina	Canino cruza 2 años	4/11/20	Grupo 1
Coqui	Canino, Kelpy Australiano 2 años	12/11/20	Grupo 1
George	Felino cruza 1 año y medio	10/11/20	Grupo 2
Zink	Canino cruza 18 años	15/9/20	Grupo 2
Miyuno	Felino cruza 6 años	15/9/20	Grupo 2
Pandora	Felino cruza 15 años	15/9/20	Grupo 2

Sancho	Canino Labrador 3 años	10/9/20	Grupo 2
Wilson	Felino 1 año	10/9/20	Grupo 2
Uma	Canino Cimarrón 5 años	18/8/20	Grupo 2
Pedro	Canino Salchicha 3 meses	18/8/20	Grupo 2
India	Canino Cimarrón 3 años	18/8/20	Grupo 2
Abelardo	Canino Salchicha 2 años	17/11/20	Grupo 1
Morse	Canino Beagle 13 años entero	17/11/20 (no extracción sangre)	Grupo 1
Clementina	Canino Cruza 15 años	18/11/20 (no extracción sangre)	Grupo 1
Tigra	Canino Cruza	7/12/20	Grupo 1
Luna	Canino Cruza	7/12/20	Grupo 1

Toby	Canino Cruza	7/12/20	Grupo 1
Capitán	Canino Cruza	7/12/20	Grupo 1
Felino Sin Nombre	Felino Cruza	7/12/20	Grupo 1
Camila	Felino Cruza Castrada 5 años síntomas respiratorios: tos, postura antiálgica, se resolvió con atb y antiinflamatorios, + a coronavirus felino.	9/12/20	Grupo 1
Madiba	Canino Macho Entero Rodesiano Edad 6 años	9/12/20	Grupo 1
Nina	Canino Caniche Hembra 10 años	17/12/20	Grupo 1
Moro	Canino Caniche Macho 7 años	17/12/20	Grupo 1
Kitty	Canino Hembra 15 años	17/12/20	Grupo 1

Tito	Felino Macho Castrado 8 años	17/12/20	Grupo 1
Momo	Felino Cruza atigrado Macho 8 meses	17/12/20	Grupo 1
Milo	Felino Cruza Macho 11 meses	17/12/20	Grupo 1
Olga	Felino Cruza Hembra 1 año	17/12/20	Grupo 1
Miguel	Felino Cruza Macho 1 año	17/12/20	Grupo 1
Ivar	Canino Rottweiler Macho Entero 3 años y medio	22/12/20	Grupo 1
Lara	Canino Cimarrón Hembra Castrada 3 años y medio	22/12/20	Grupo 1

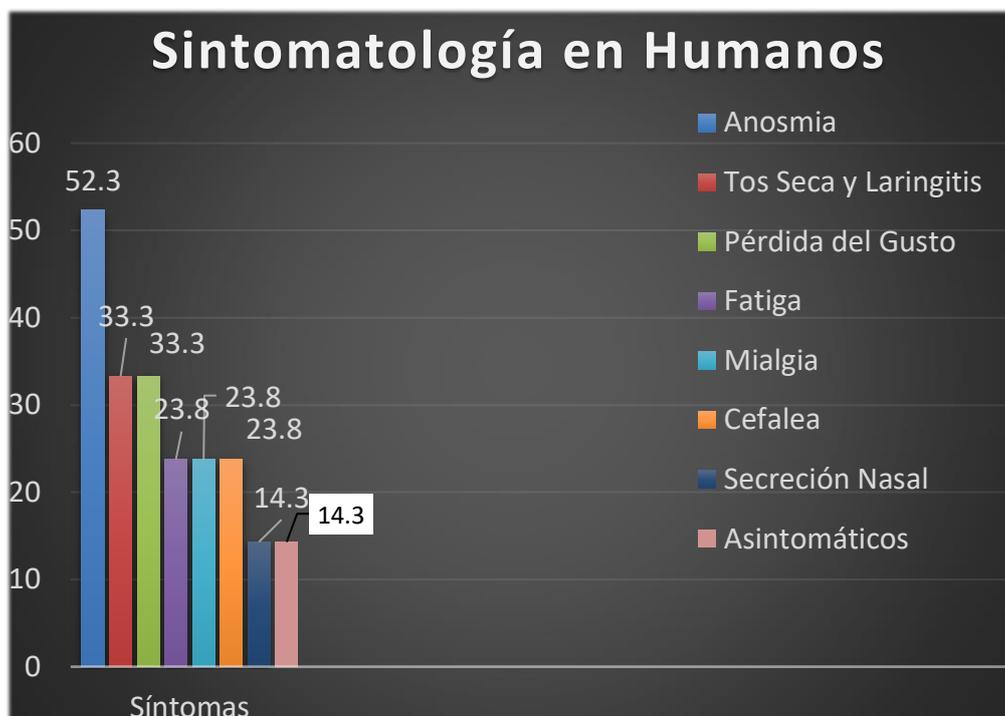
Marilina	Felino Cruza Hembra Castrada 4 años	22/12/20	Grupo 1
Elsa	Canino Hembra 1 año y medio	22/12/20	Grupo 1
Toby	Canino Macho 9 años Castrado Vacunado, desparasitado. Patología renal y hepática.	22/12/20	Grupo 1
Morena	Canino Hembra 13 años Castrada Vacunada, desparasitada	22/12/20	Grupo 1
Nina	Felino Hembra Castrada 6 años Vacunada, desparasitada, Vilef +	22/12/20	Grupo 1
Poli	Felino Hembra 5 años Castrada Vacunada, desparasitada.	22/12/20	Grupo 1

Quique	Felino Macho Castrado 11 años Arritmias cardíacas	Hisopado NF y R	Grupo 1
Zapallito	Felino Macho 7 meses Fiebre	Hisopado NF y R	Grupo 1

***negrita:** corresponden al grupo 1 (animales de compañía muestreados dentro de los 15 días del resultado positivo a covid-19 sus propietarios).

Los síntomas clínicos registrados en personas con COVID-19 fueron: anosmia (52,3%), tos seca y laringitis (33,3%), pérdida del gusto (33,3%), fatiga (23,8%), mialgia (23,8%), cefalea (23,8%) y secreción nasal (14,3%). Solo una persona requirió hospitalización y el 14,3% estaba asintomático (Gráfico 1). No se observaron muertes humanas o animales durante el estudio.

Gráfico 1. Sintomatología clínica en personas COVID-19 positivas.



Desde el punto de vista clínico, todos los animales estaban sanos, excepto un gato macho de 1,5 años correspondiente al Grupo 2, que presentó síntomas de enfermedad respiratoria (epifora, estornudos y tos), con temperatura de 38,7. Su estado general era bueno; no estaba apático y tenía un apetito normal. La

bioquímica sanguínea mostró en algunos casos alteraciones esperables en el hemograma y función renal (urea y creatinina), relacionadas a la edad de cada animal.

Screening por qPCR:

De los 40 animales que se analizaron individualmente mediante qPCR, una muestra nasofaríngea de un perro dio positiva para SARS-CoV-2 (Foto 7; Gráfico 2) con un valor Ct de 32. Desafortunadamente, la muestra rectal de este animal no estaba disponible. El perro positivo era un macho de 3 años de raza Rottweiler, residente en el barrio Carrasco Norte (Montevideo, Uruguay). El tutor desarrolló síntomas a principios de diciembre de 2020 y se le diagnosticó COVID-19 positivo mediante PCR en tiempo real el 7 de diciembre de 2020. La muestra del perro se tomó cinco días después de la fecha del diagnóstico del tutor. El tutor convivía con este perro, y una perra la cual dio negativa a SARS-CoV-2 (Yanina Panzera et al., 2022).



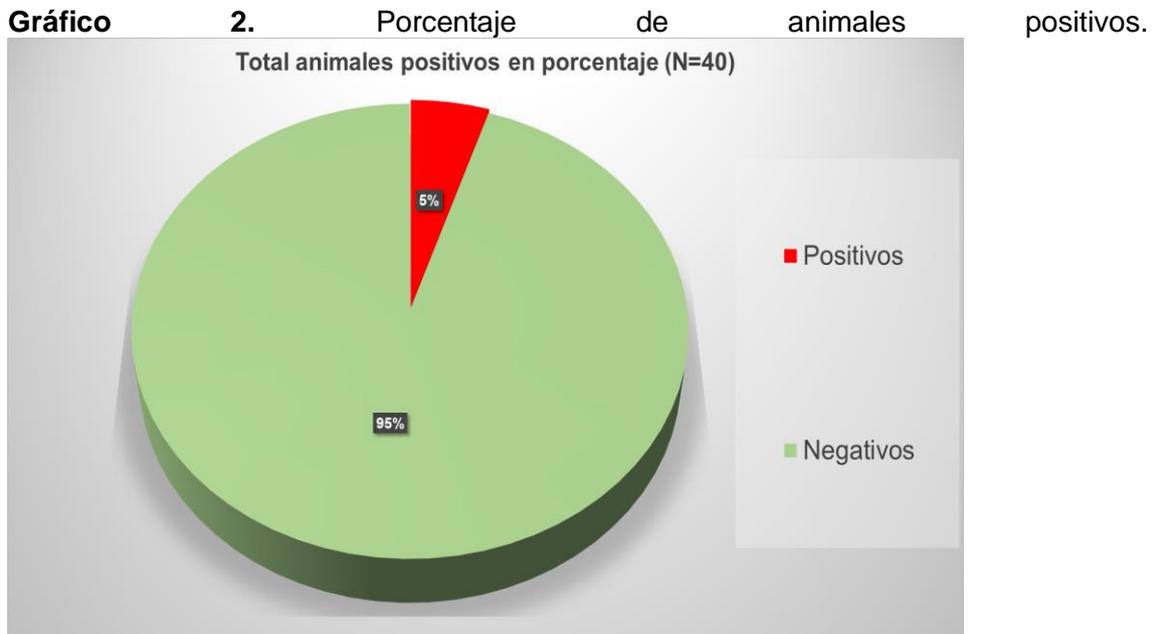
Foto 7. Rottweiler “Ivar” positivo a SARS-CoV-2, el día que le tomamos muestras en su domicilio.

Entre las 15 muestras recolectadas de los gatos, se encontró un caso positivo a SARS-CoV-2 (Foto 8). La muestra nasofaríngea presentó un valor de Ct de 30,8 mientras que la muestra rectal tuvo un valor de Ct de 37. El gato positivo fue un macho de 1 año de edad, de raza mixta, residente en el barrio Pocitos, Montevideo, Uruguay. El tutor desarrolló síntomas en diciembre de 2020 y se le diagnosticó COVID-19 positivo mediante PCR en tiempo real el 12 de diciembre 2020. Las muestras del gato se tomaron cinco días después del diagnóstico del tutor. Tener en cuenta que, en este caso, también existió un contacto estrecho entre tutor-animal de compañía durante el transcurso de la enfermedad. La otra gata resultó negativa a SARS COV 2.



Foto 8. Miguel, gato positivo al SARS-CoV-2.

Estos dos animales con resultado positivo representan el 5% de nuestras muestras recolectadas (Gráfico 2).



Según nos informó la Dra. Panzera y su equipo, los genomas completos obtenidos aquí pertenecen al linaje único P.6.

En una etapa posterior se realizó la neutralización sérica del virus, a partir de las muestras de suero de los animales que resultaron portadores del virus, recolectadas el 12 de diciembre de 2020 (perro) y el 17 de diciembre de 2020 (gato). No se detectaron anticuerpos neutralizantes contra ninguna variante del SARS-CoV-2 en el perro infectado, sin embargo, el antisuero del gato infectado provocó anticuerpos neutralizantes contra el SARS-Cov-2 ancestral con un título medio geométrico (GMT) de 160. También se observó anticuerpos de reacción cruzada contra la variante Delta (GMT= 80) pero no contra la variante Omicrón (GMT<10).

DISCUSIÓN

Desde el inicio de la pandemia, se observó que el SARS-CoV-2 podría infectar a perros y gatos domésticos. La evidencia acumulada sugiere que estos y otros mamíferos son altamente susceptibles a la infección. Varios casos de SARS-CoV-2 animal se han informado en todo el mundo, principalmente en felinos (gatos, leones, tigres), primates no humanos, perros y visones (Barrs et al., 2020; USDA, 2021; Garigliany et al., 2020; Gaudreault et al., 2020; Li et al., 2020; Molenaar et al., 2020; Musso et al., 2020; Sailleau et al., 2020; Segalés et al., 2020; Sit et al., 2020; Zhang, Wu y Zhang, 2020 citado por Tewari et al., 2021). Por lo tanto, la detección de la infección por SARS-CoV-2 en animales domésticos es fundamental para comprender la epidemiología e identificar rutas alternativas de transmisión del virus.

El presente estudio examinó animales domésticos de domicilios donde existían casos positivos para SARS-CoV-2. Las muestras de animales se recolectaron en Montevideo y zona metropolitana, la región más afectada por los brotes de COVID-19 en el país, y que ofrecía el acceso más conveniente para la recolección de muestras. En el marco temporal de la toma de muestras, Uruguay se encontraba en la primera ola de la pandemia (MSP. Informe Epidemiológico 21/5/22). La frecuencia de casos de COVID-19 comenzó a aumentar de manera constante, alcanzando un pico de incidencia diaria de 11,4 casos/100.000 personas en diciembre. Se detectó el virus SARS-CoV-2 en 2/40 muestras analizadas. Ambos casos fueron notificados a la OIE (<https://wahis.oie.int/#/report-info?reportId=33930>), y representan los primeros casos de SARS-CoV-2 identificados en animales domésticos de Uruguay.

Las infecciones ocurrieron en hogares cuyos tutores dieron positivo a SARS-CoV-2 hasta por dos semanas desde el diagnóstico. Se observaron resultados similares en animales domésticos de otros países donde el virus se detectó alrededor de una semana después de la infección del tutor (Barrs et al., 2020; Garigliany et al., 2020; Klaus et al., 2021). Los dos casos positivos de SARS-CoV-2 detectados en animales domésticos corresponden al 4% y 7% de muestras de perros y gatos, respectivamente. Estos valores no representan la frecuencia poblacional debido a que la muestra fue reducida y sesgada (restringida a hogares positivos a COVID-19). Sin embargo, a partir de los resultados obtenidos consideramos que probablemente la infección en animales domésticos estaba ocurriendo.

Refiriéndonos a los hallazgos a nivel mundial, nuestros resultados son similares a los encontrados en el estudio de detección y análisis molecular de SARS-CoV-2 y posterior análisis serológico realizado en Argentina por los autores Fuentealba et al., 2021, en el que el gato positivo al SARS-CoV-2 (a partir de hisopado orofaríngeo y rectal) desarrolló una fuerte respuesta inmunológica frente al mismo, en contraste con los perros analizados. Lo mismo ha sido observado por otros autores (Sailleau et al., 2020 citados por Fuentealba et al., 2021) quienes detectaron un gato en Francia infectado naturalmente, y presencia de anticuerpos específicos contra el virus. Estos resultados serológicos sugieren que el SARS-CoV-2 se replicó activamente en el gato infectado “Miguel”.

Por otra parte, un estudio en **Italia** no identificó ningún caso positivo de SARS-CoV-2 en 919 animales de compañía, pero detectó algunos perros y gatos con

títulos de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 neutralizantes (Patterson et. al., 2020). Otro estudio reciente de España informó infección por SARS-CoV-2 en un gato de 4 años con miocardiopatía hipertrófica, edema y trombosis en los pulmones (Segalés et. al., 2020). En **Francia**, el análisis en 22 gatos sintomáticos y 11 perros de tutores previamente infectados o sospechosos de estar infectados por SARS-CoV-2 identificó un gato positivo (Sailleau et. al., 2020). Otros estudios en **Asia y Brasil** mostraron proporciones más altas de casos positivos de SARS-CoV-2 en animales domésticos, alcanzando del 12 % al 40 % (Barrs et. al., 2020; Calvet et al., 2021).

Estudios de infecciones naturales y susceptibilidad establecieron que la afinidad del receptor ACE2 por la proteína S del virus, es mayor en gatos que en perros (Patterson et. al., 2020; Ruiz-Arrondo et. al., 2021; Sailleau et. al., 2020; Shi et. al., 2020). Si bien la frecuencia relativa de perros positivos en Uruguay parece *menor*, es necesario aumentar el tamaño de la muestra para confirmar esta tendencia. En el gato SARS-CoV-2 positivo se analizó la presencia del virus tanto en muestra nasofaríngea como rectal, pero en esta última fue casi indetectable (Ct=37). Esto concuerda con estudios previos en los que, en gatos infectados experimentalmente, no se detectó el virus en hisopos rectales de animales asintomáticos (Halfmann et al., 2020).

La única muestra disponible del perro, nasofaríngea, se detectó positiva con un valor ligeramente más alto (Ct=32) que la muestra del gato (Ct=30,8), lo que sugiere una carga viral más baja. En perros, los estudios experimentales de infección no detectaron el virus en ningún tejido después de ser sacrificados cuatro días después de la infección. Además, los perros alojados conjuntamente no estaban infectados (Bosco-Lauth et al., 2020; Shi et al., 2020). Juntos, estos hallazgos sugieren que la carga viral y la diseminación experimentan diferentes tasas de disminución en los animales domésticos y eventualmente pueden producir una infección a corto y largo plazo, probablemente dependiendo de la fase clínica o el resultado de la enfermedad y las características intrínsecas del huésped.

La presencia de las co-morbilidades puede influir fuertemente en la progresión de la enfermedad en humanos y animales infectados con el virus SARS-CoV-2 (Fang et al., 2020 citado por Tewari et al., 2021). En relación a esto, los 2 animales positivos a SARS-CoV-2 del presente estudio, no manifestaban comorbilidades asociadas (según lo indicado en datos de anamnesis, examen físico y análisis de sangre) y resultaron ser asintomáticos.

Adicionalmente, se observó que a pesar de que ambos animales positivos cohabitaban respectivamente con otro animal de compañía (en el caso de Ivar con una perra, y en el caso de Miguel con una gata), ambos compañeros de vivienda resultaron negativos al SARS-CoV-2, apoyando una vez más la teoría de una mínima o nula transmisión interespecie en condiciones naturales (AFCD de Hong Kong, 2020; Bao et. al., 2021).

En Sudamérica, el SARS-CoV-2 en huéspedes no humanos también ha sido notificado en Argentina (perros y felinos domésticos y salvajes), Brasil (perros y gatos), Chile (gatos) y Colombia (león) (OIE. COVID- 19 Portal, Eventos en animales Disponible en línea: www.oie.int/en/what-we-offer/emergency-and-resilience/covid-19/ (consultado el 22 de marzo de 2022). Faltan más estudios

en América Latina, región severamente afectada por la pandemia, exceptuando México, Brasil, Argentina, y Chile (Calvet et. al. 2021 citado por Bonilla-Aldana, 2021). Los datos completos de las secuencias del genoma están disponibles solo en Argentina (dos gatos y un perro del linaje B.1.1.7 y B.1.499), Colombia (un gato del linaje B.1.111), Brasil (un gato del linaje B.1.1.28.1 o P.1, Gamma VOC), Perú (tres gatos de linaje B.1.1.1.37 o C.37, Lambda VOI) y Chile (tres gatos de linaje B.1.1) (Fuentealba et. al., 2021; Neira et. al., 2021; Schiaffino et. al., 2021).

Con respecto a los 2 animales positivos al SARS-CoV2 en Uruguay, el linaje P6 obtenido a partir de los genomas completos surgió en nuestro país por divergencia del linaje B.1.1.28 introducido desde el país limítrofe de Brasil. Los linajes B.1.1.28 y B1.1.33 fueron predominantes en los primeros meses de la pandemia en Uruguay. El linaje P.6 está fechado del 23 de septiembre de 2020, según cov-lineage.org, unos meses antes de la fecha de recolección de la muestra. A partir de ese momento, Uruguay sufrió un aumento exponencial en el número de casos que se prolongó hasta mediados del 2021 (MSP). El linaje P.6 reemplazó a los linajes previamente existentes (B.1.1.33 y B.1.1.28), volviéndose predominante (desde emergente hasta febrero de 2021). Así, la emergencia del linaje coincide con el aumento de casos en Uruguay (Rego et. al., 2021).

Dada la naturaleza evolutiva de los coronavirus, se hace necesario continuar estudiando el papel de los animales susceptibles en estrecho contacto con humanos en la epidemiología y dinámica viral de la infección por SARS-CoV-2. Por lo tanto, es necesaria la vigilancia periódica de las especies domésticas y silvestres. Además, en vista de la susceptibilidad de los animales domésticos y otros animales al SARS-CoV-2, las personas sospechosas o confirmadas de COVID-19 deben limitar el contacto con los animales para minimizar la infección animal de origen humano (Calvet et. al., 2021).

Adicionalmente, los animales pertenecientes a tutores infectados con SARS-CoV-2 deben mantenerse en el interior de acuerdo con recomendaciones de aislamiento similares para humanos a fin de evitar una posible propagación de animal a animal (Kiros et. al., 2020). En general, los países deben implementar el concepto One Health como un marco de estrategia de prevención y control para proteger tanto a los humanos como a los animales de la infección, lo que impacta positivamente en la mitigación y el control de los efectos de la enfermedad y, de manera consecutiva, en la economía (Kiros et. al., 2020).

Según los conocimientos actuales, es poco probable que los animales domésticos infectados desempeñen un papel activo en la transmisión del SARS-CoV-2 a los humanos. Por lo tanto, el hecho de detectar SARS-CoV-2 no debería generar en la población un miedo innecesario que conduzca al abandono de los animales de compañía o comprometa su bienestar. En cambio, se recomienda promover estrategias de prevención y control de epidemias animales como los países asiáticos, europeos y norteamericanos con base en un enfoque de One Health. La actual pandemia de SARS-CoV-2 y el potencial panzootico subsiguiente, resaltan la necesidad de dicho enfoque, el cual es colaborativo, multisectorial y transdisciplinario con el objetivo de obtener resultados óptimos en Salud, reconociendo la interconexión entre personas, animales, plantas y medio ambiente (Gollakner y Capua, 2020; Goryoka et al., 2021; Osterhaus et

al., 2020 citados por Hernández et al., 2020). La gente parece estar más en sintonía con las amenazas a la salud mundial, y la naturaleza interconectada de la salud humana y animal. Asegurar "Responsabilidad colectiva" para combatir el Covid-19 ha sido un concepto particularmente resonante que surge de la pandemia (Regan y Burrell, 2020).). Como así lo expresan los autores Hernández et al. (2020), "la relación entre los seres humanos, los animales (domésticos, ganaderos y salvajes) y el medio ambiente es una relación compleja y dependiente en un equilibrio frágil y dinámico. En este contexto, por lo tanto, la salud debe ser considerada como un concepto global que no solo engloba los aspectos asistenciales de la medicina humana, sino que va más allá y considera las interacciones con los animales (salud animal) y el medio ambiente (salud ambiental)".

El presente trabajo contribuye a la idea de que el enfoque One Health es deseable y necesario en el control de la actual pandemia de SARS-CoV-2 (Figura 6), y también reconoce su utilidad para delinear estrategias y lograr el control de muchas otras enfermedades infecciosas que representan amenazas para la salud pública.

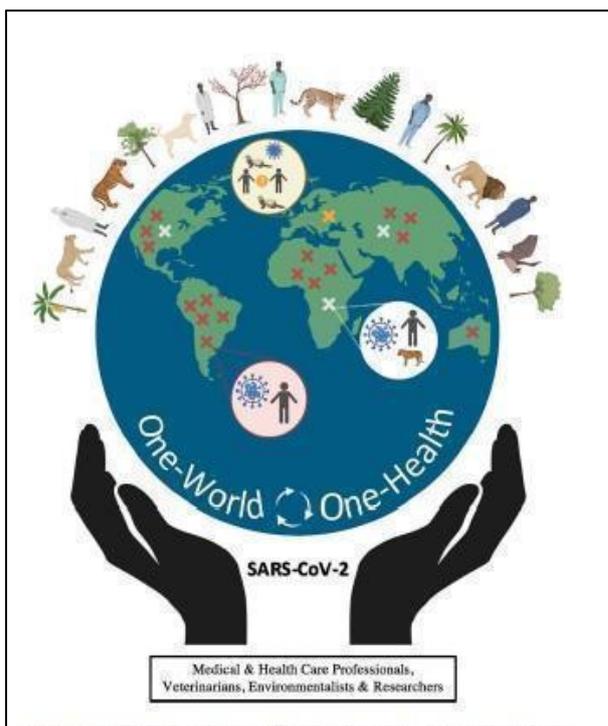


Figura 6. SARS-CoV-2 y el concepto “Un Mundo Una Salud”. Esto enfatiza que la salud humana es dependiente y está sumamente vinculada con la salud animal (doméstico y salvaje), y de las plantas. Un disturbio en el ecosistema resulta en enfermedades humanas (zoonosis o zoonosis inversa). La letra “X” simboliza un evento zoonótico; los colores rojo, blanco y amarillo representan potenciales eventos zoonóticos primarios, secundarios y terciarios respectivamente (Fuente: Zoonotic and reverse zoonotic events of SARS-CoV-2 and their impact on global health, Khalid Munira et. al., 2020).

CONCLUSIONES

Según los resultados obtenidos de la presente investigación, se confirmó la circulación de SARS-CoV-2 en animales de compañía, específicamente perros y gatos, de la ciudad de Montevideo, Uruguay. Por lo tanto, concluimos que la infección de animales domésticos estaba ocurriendo en la población de mascotas uruguaya al momento de realizado este estudio, ya que en uno de los animales positivos al SARS-CoV-2 se detectó respuesta de anticuerpos.

Por los hallazgos obtenidos en este trabajo, los cuales son compatibles con los encontrados a nivel mundial, consideramos que es poco probable que los animales domésticos presenten síntomas clínicos de la infección por SARS-CoV 2 ni desempeñen un papel activo en la transmisión del SARS-CoV-2 a los humanos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adhikari, S., Meng, S., Wu, Y., Mao, Y., Ye, R., Wang, Q., ... Zhou, H. Epidemiology, causes, clinical manifestation and diagnosis, prevention and control of coronavirus disease (COVID-19) during the early outbreak period: a scoping review. *Infectious Diseases of Poverty*, 9, 29.
- Agriculture, Fisheries and Conservation Department. (2020). Recuperado de <https://www.afcd.gov.hk/english/index.html>
- Andersen, K. G., Rambaut, A., Lipkin, W. I., Holmes, E. C., & Garry, R. F. (2020). The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nature Medicine*, 26(4), 450–452. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0820-9>
- Bao, L., Song, Z., Xue, J., Gao, H., Liu, J., Wang, J., ... Qin, C. (2021). Susceptibility and Attenuated Transmissibility of SARSCoV-2 in Domestic Cats. *Journal of Infectious Diseases*, 223(8), 1313–1321.
- Barcena, M., Oostergetel, G. T., Bartelink, W., Faas, F. G.A., Verkleij, A., Rottier, P. J.M., ... Bosch, B. J. (2009) Cryo-electron tomography of mouse hepatitis virus: insights into the structure of the coronavirus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106, 582-587.
- Barrs, V. R., Peiris, M., Tam, K. W. S., Law, P. Y. T., Brackman, C. J., To, E. M. W., ... Sit, T. H. C. (2020). SARS-CoV-2 in quarantined domestic cats from COVID-19 households or close contacts, Hong Kong, China. *Emerging Infectious Diseases*, 26(12), 3071–3074. <https://doi.org/10.3201/eid2612.202786>
- Bartlett, S. L., Diel, D. G., Wang, L., Zec, S., Laverack, M., Martins, M., ... Calle, P. P. (2021). SARS-COV-2 infection and longitudinal fecal screening in malayan tigers (*panthera tigris jacksoni*), amur tigers (*panthera tigris altaica*), and african lions (*panthera leo krugeri*) at the Bronx Zoo, New York, USA. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 51(4). <https://doi.org/10.1638/2020-0171>
- Baz, M., Paskel, M., Matsuoka, Y., Zengel, J., Cheng, X., Jin, H., & Subbarao, K. (2013). Replication and Immunogenicity of Swine, Equine, and Avian H3 Subtype Influenza Viruses in Mice and Ferrets. *Journal of Virology*, 87(12), 6901–6910.
- Baz, M., Boonnak, K., Paskel, M., Santos, C., Powell, T., Townsend, A., & Subbarao, K. (2015). Nonreplicating influenza A virus vaccines confer broad protection against lethal challenges. *MBio*, 6(5), e01487-15.
- Beniac, D. R., Andonov, A., Grudeski, E., et al. (2006) Architecture of the SARS coronavirus prefusion spike. *Nature Structural & Molecular Biology*, 13(8), 751-752.
- Bertzbach, L. D., Vladimirova, D., Dietert, K., Abdelgawad, A., Gruber, A. D., Osterrieder, N., y Trimpert, J. (2021). SARS-CoV-2 infection of Chinese hamsters (*Cricetulus griseus*) reproduces COVID-19 pneumonia in a well-established small animal model. *Transboundary and Emerging Diseases*, 68(3), 1075–1079. <https://doi.org/10.1111/tbed.13837>

- Bonilla-Aldana, D.K., García-Barco, A., Jimenez-Diaz, S.D., Bonilla-Aldana, J.L., Cardona-Trujillo, M.C., Muñoz-Lara, F., ... Rodriguez-Morales, A.J. (2021). SARS-CoV-2 natural infection in animals: a systematic review of studies and case reports and series. *Veterinary Quarterly*, 41(1), 250-267.
- Bosco-Lauth, A. M., Hartwig, A. E., Porter, S. M., Gordy, P. W., Nehring, M., Byas, A. D., ... Bowen, R. A. (2020). Experimental infection of domestic dogs and cats with SARS-CoV-2: Pathogenesis, transmission, and response to reexposure in cats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117(42), 26382–26388.
- Brussow, H. (2021). COVID-19: emergence and mutational diversification of SARS-CoV-2. *Microbial Biotechnology*, 14(3), 756–768.
- Cagliani, R., Forni, D., Clerici, M., & Sironi, M. (2020). Coding potential and sequence conservation of SARS-CoV-2 and related animal viruses. *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, 83, 104353. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104353>
- Calvet, G. A., Pereira, S. A., Ogrzewalska, M., Pauvolid-Corrêa, A., Resende, P. C., Tassinari, W. de S., ... Menezes, R. C. (2021). Investigation of SARS-CoV-2 infection in dogs and cats of humans diagnosed with COVID-19 in Rio de Janeiro, Brazil. *PLoS ONE*, 16, 1–21. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0250853>
- Carlos, R. S. A., Mariano, A. P. M., Maciel, B. M., Gadelha, S. R., de Melo Silva, M., Belitardo, E. M. M. A., ... Albuquerque, G. R. (2021). First genome sequencing of SARS-CoV-2 recovered from an infected cat and its owner in Latin America. *Transboundary and Emerging Diseases*, 68, 3070-3074. <https://doi.org/10.1111/tbed.13984>
- Chang, L., Yan, Y., y Wang, L. (2020). Coronavirus disease 2019: coronaviruses and blood safety. *Transfusion Medicine Reviews*, 34(2), 75-80.
- Cheng, V. C., Lau, S. K. P., Woo, P. C. Y., y Yuen, K. Y. (2007). Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus as an Agent of Emerging and Reemerging Infection. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(4), 660-694.
- Chini, M. (2020, marzo 27). Coronavirus: Belgian cat infected by owner. *The Brussels Times*.
Recuperado de <https://www.brusselstimes.com/all-news/belgiumallnews/103003/coronavirus-belgian-woman-infected-her-cat/>
- Collins, A. R., Knobler, R. L., Powell, H., & Buchmeier, M. J. (1982). Monoclonal antibodies to murine hepatitis virus-4 (strain JHM) define the viral glycoprotein responsible for attachment and cell-cell fusion. *Virology*, 119(2), 358-371.
- Costagliola, A., Liguori, G., D'Angelo, D., Costa, C., Ciani, F., y Giordano, A., (2020). Do Animals Play a Role in the Transmission of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS-CoV-2)? A Commentary. *Animals*, 11 (16),1-11.
- Croman, V. M., Muth, D., Neimeyer, D., y Drosen, C. H. (2018). Hosts and Sources of endemic human coronaviruses. *Advances in Virus Research*, 100, 163-188.

- Cui, L. J., Zhang, C., Zhang, T., Lu, R. J., Xie, Z. D., Zhang, L. L., ... Tan, W. J. (2011). Human Coronaviruses HCoV-NL63 and HCoV-HKU1 in Hospitalized Children with Acute Respiratory Infections in Beijing, China. *Advances in Virology*, 2011, 129134.
- De Vries, R., Rockx, B., Haagmans, B., Herfst, S., Koopmans, M. P., y de Swart, R. L. (2021). Animal models of SARS-CoV-2 transmission. *Current Opinion in Virology*, 50, 8–16.
- [Decaro, N., Balboni, A., Bertolotti, L., Martino, P. A., Mazzei, M., Mira, F. y Pagnini, U \(2021\). SARS-CoV-2 Infection in Dogs and Cats: Facts and Speculations. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 619207.](#)
- Do Vale, B., Lopes, A. P., Fontes, M. C., Silvestre, M., Cardoso, L., y Coelho, A. C (2021). Bats, pangolins, minks and other animals - villains or victims of SARS-CoV-2? *Veterinary Research Communications*, 45(1), 1-19
- Du Toit, A. (2020). Outbreak of a novel coronavirus. *Nature Reviews Microbiology*, 18(3), 123–123. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0332-0>
- Ekstrand, K., Flanagan, A.J., Lin, I.E., Vejseli, B., Cole, A., Lally, A.P., ... Morgan, K.N. (2021). Animal Transmission of SARS-CoV-2 and the Welfare of Animals during the COVID-19 Pandemic. *Animals*, 11(7), 2044.
- El-Sayed, A., Abdel-Daim M.M., y Kamel, M. (2021). Zoonotic and anthroozoonotic potential of COVID-19 and its implications for public health. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 52599–52609.
- Fehr, A. R. (2015). Coronaviruses: An overview of their replication and pathogenesis. En H. Maier, E. Bickerton, & P. C. Britton (Eds.), *Coronaviruses: Methods and protocols* (pp. 1-23). New York: Springer Science Business Media.
- Fenollar, F., Mediannikov, O., Maurin, M., Devaux, C., Colson, P., Levasseur, A., Raoult, D. (2021). Mink, SARS-CoV-2, and the Human-Animal Interface. *Microbiol.* 12:663815.
- Fuentealba, N. A., Moré, G., Bravi, M. E., Unzaga, J. M., De Felice, L., Salina, M., ... Panei, C. J. (2021). First detection and molecular analysis of SARS-CoV-2 from a naturally infected cat from Argentina. *Veterinary Microbiology*, 260, 109179
- Garigliany, M., Van Laere, A. S., Clercx, C., Giet, D., Escriou, N., Huon, C., ... Desmecht, D. (2020). SARS-CoV-2 natural transmission from human to Cat, Belgium, March 2020. *Emerging Infectious Diseases*, 26(12), 3069–3071.
- Giner, J., Villanueva-Saz, S., Tobajas, A.P., Pérez, M.D., González, A., Verde, M., ... Fernández A. (2021). SARS-CoV-2 Seroprevalence in Household Domestic Ferrets (*Mustela putorius furo*). *Animals*, 11, 667.
- Giraldo-Ramirez, S., Rendon-Marin, S., Jaimes, J. A., Martinez-Gutierrez, M., & Ruiz-Saenz, J. (2021). SARS-CoV-2 clinical outcome in domestic and wild cats: A systematic review. *Animals*, 11(7), 2056.

- Gollakner, R., & Capua, I. (2020). Is COVID-19 the first pandemic that evolves into a panzootic? *Veterinaria Italiana*, 56(1), 11-12.
- Golzar, H., Aneela, J., Sharmin, A., & Sukumar, S. (2020). SARS-CoV-2 host diversity: An update of natural infections and experimental evidence, *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 54(2), 175–181.
- Gortázara, C., & De la Fuente, J. (2020). COVID-19 is likely to impact animal health. *Preventive Veterinary Medicine*, 180, 105030.
- Goryoka, G.W., Cossaboom, C.M., Gharpure, R., Dawson, P., Tansey, C., Rossow, J., Mrotz, V., ... Behravesh C. (2021). One Health Investigation of SARS-CoV-2 Infection and Seropositivity among Pets in Households with Confirmed Human COVID-19 Cases—Utah and Wisconsin, 2020. *Viruses*,13, 1813.
- Halfmann, P. J., Hatta, M., Chiba, S., Maemura, T., Fan, S., Takeda, M., ... Kawaoka, Y (2020). Transmission of SARS-CoV-2 in Domestic Cats. *New England Journal of Medicine*, 383(6), 592-594.
- Hernández, M., Abad, D., Eiros, J. M., & Lázaro, D. R., (2020). Are Animals a Neglected Transmission Route of SARS-CoV-2? *Pathogens*, 9(6), 480.
- Hoffman, M., Kleine-Weber, A., Schroeder, S., Krüger, N., Herrler, T., Erichsen S., ... Pöhlmann, S. (2020). SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*,181(2), 271-280.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>
- Hosie, M. J., Epifano, I., Herder, V., Orton, R. J., Stevenson, A., Johnson, N., ... Weir, W. (2021). Detection of SARS-CoV-2 in respiratory samples from cats in the UK associated with human-to-cat transmission. *The Veterinary Record*, 188(8), e247. <https://doi.org/10.1002/vetr.247>
- Huang, C., Shum, M. H., Zhu, H. C., Tong, Y. G., Ni, X. B., Liao, Y. S., ... Guan, Y. (2020). Clinical features of patients infected with novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*, 395, 497-506.
- Jurciel, J., Filipiak, K.J., Szarpak, Ł., Jaguszewski, M., Smerka, J., & Dzieciatkowski, T. (2020). Do pets protect their owners in the COVID-19 era? *Medical Hypotheses*, 142,109831.
- Khalid, M., Shoaib A., Isra M., Hamna K., Mohammad A.M., Noreen, M., ... y Xin Zhao. (2020). Zoonotic and reverse zoonotic events of SARS-CoV-2 and their impact on global health, *Emerging Microbes & Infections*, 9(1), 2222-2235.
- Kim, Y. I., Kim, S. G., Kim, S. M., Kim, E. H., Park, S. J., Yu, K. M., ... Choi, Y. K. (2020). Infection and Rapid Transmission of SARS-CoV-2 in Ferrets. *Cell Host & Microbe*, 27(5), 704-709.e2. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.03.023>
- King, A. M. Q., Adams, M. J., Carstens, E. B., & Lefkowitz, E. J. (2012). *Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses*. London: Elsevier.

- Kiros, M., Andualem, H., Kiros, T., Hailemichael, W., Getu, S., Geteneh, A., ... Abegaz, W. E. (2020). COVID-19 pandemic: Current knowledge about the role of pets and other animals in disease transmission. *Virology Journal*, 17(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12985-020-01416-9>
- Klaus, J., Meli, M. L., Willi, B., Nadeau, S., Beisel, C., Stadler, T., ... Hofmann-Lehmann, R. (2021). Detection and genome sequencing of sars-cov-2 in a domestic cat with respiratory signs in Switzerland. *Viruses*, 13(3), 496.
- Lam, T. T., Shum, M. H., Zhu, H. C., Tong, Y. G., Ni, X. B., Liao, Y. S., ... Guan, Y. (2020). Identifying SARS-CoV-2 related coronaviruses in Malayan pangolins. *Nature*, 583(7815), 282-285. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2169-0>
- Lau, SKP., Li, KSM., Huang, Y., Tse, CTS., Wang, M., Choi, GKY., ... Yuen KY. (2010). Ecoepidemiology and complete genome comparison of different strains of severe acute respiratory syndrome-related Rhinolophus bat coronavirus in China reveal bats as a reservoir for acute, self-limiting infection that allows recombination events. *Journal of Virology*, 84, 2808-2819.
- Leroy, E. M., Gouilh, M. A., y Picoux, J. B. (2020). The risk of SARS-CoV-2 transmission to pets and other wild and domestic animals strongly mandates a one-health strategy to control the COVID-19 pandemic. *One Health*, 10, 100133.
- Li, Q., Guan, X., Wu, P., Wang, X., Zhou, L., Tong, Y., ... Feng, Z (2020a). Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia. *New England Journal of Medicine*, 382, 1199-1207.
- Li, J. Y., Liao, C. H., Wang, Q., Tan, Y. J., Luo, R., Qiu, Y., & Ge, X. Y. (2020). The ORF6, ORF8 and nucleocapsid proteins of SARS-CoV-2 inhibit type I interferon signaling pathway. *Virus Research*, 286, 198074. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2020.198074>
- Li, F., Li, W. H., Farzan, M., & Harrison, S. C. (2005). Structure of SARS coronavirus spike receptor-binding domain complexed with receptor. *Science*, 309, 1864-1868.
- Li, X., Zai, J., Zhao, Q., Nie, Q., Li, Y., Foley, B. T., & Chaillon, A. (2020). Evolutionary history, potential intermediate animal host, and cross-species analyses of SARS-CoV-2. *Journal of Medical Virology*, 92(6), 602-611.
- Lu, R., Zhao, X., Li, J. Niu, P., Yang, B., Wu, H., ...Tan, W. (2020) Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *The Lancet*, 395 (10224), 565-574.
- McAloose, D., Laverack, M., Wang, L., Killian, M. L., Caserta, L. C., Yuan, F., ... Diel, D. G. (2020). From people to Panthera: Natural SARS-CoV-2 infection in tigers and lions at the Bronx Zoo. *BioRxiv*, 11(5), 1–13. <https://doi.org/10.1101/2020.07.22.213959>
- Ministerio de Salud Pública. (2022). *Informe Epidemiológico COVID 19*. Recuperado de <https://www.gub.uy/ministerio-salud-publica/comunicacion/noticias/informe-epidemiologico-covid-19-actualizado-18-enero-2021>

- Narayanan, K., Huang, C., & Makino, S. (2008). SARS coronavirus accessory proteins. *Virus Research*, 133(1), 113–121. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2007.10.009>
- Neira, V., Brito, B., Agüero, B., Berrios, F., Valdés, V., Gutierrez, A., ... Medina, R. A. (2021). A household case evidences shorter shedding of SARS-CoV-2 in naturally infected cats compared to their human owners. *Emerging Microbes & Infections*, 10(1), 376–383.
- OIE. (s.f.). *Covid-19*. Recuperado de www.oie.int/en/what-we-offer/emergency-and-resilience/covid-19/
- Oreshkova, N., Molenaar, R. J., Vreman, S., Harders, F., Oude Munnink, B. B., Hakze-van der Honing, R. W., ... Stegeman, A. (2020). SARS-CoV-2 infection in farmed minks, the Netherlands, April and May 2020. *Euro Surveillance*, 25(23), 1–7. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.23.2001005>
- Organización Mundial de la Salud. (2020). *Reporte 73*. Ginebra: OMS.
- Panzerá, Y., Mirazo, S., Baz, M., Techera, C., Grecco, S., Cancela, F., ... Benech, A. (2022). *Antigenic and genome characterization of the unique P.6 Uruguayan SARS-CoV-2 lineage in dogs and cats living with COVID-19 patients*. Manuscrito inédito.
- Patterson, E. I., Elia, G., Grassi, A., Giordano, A., Desario, C., Medardo, M., ... Decaro, N. (2020). Evidence of exposure to SARS-CoV-2 in cats and dogs from households in Italy. *Nature Communications*, 11(1), 1–5.
- Prince, T., Smith, S. L., Radford, A. D., Solomon, T., Hughes, G. L., & Patterson, E. I. (2021). Sars-CoV-2 infections in animals: Reservoirs for reverse zoonosis and models for study. *Viruses*, 13(3), 1–14. <https://doi.org/10.3390/v13030494>
- Qiu, Y., Zhao, Y. B., Wang, Q., Li, J. Y., Zhou, Z. J., Liao, C. H., & Ge, X. Y. (2020). Predicting the angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) utilizing capability as the receptor of SARS-CoV-2. *Microbes and Infection*, 22(4-5), 221-225
- Ranganathan, Shivaraman, M. A., Ramamurthy, G., & Shrivarthan, R. (2020). The Socially Distanced Social Animal – In The New Covid-19 Era. *Annals of Indian Academy of Neurology*, 23 (1), S1-S4.
- Regan, A., & Burrell, A. (2020). Communication innovation supports vet's role in driving change in animal health management. *Veterinary Ireland Journal*, 11 (7), 407-409.
- Rego, N., Salazar, C., Paz, M., Costábile, A., Fajardo, A., Ferrés, I., ... Spangenberg, L. (2021). Emergence and Spread of a B.1.1.28-Derived P.6 Lineage with Q675H and Q677H Spike Mutations in Uruguay. *Viruses*, 13(9), 1801.
- Rodrigues, J., Barrera-Villarmau, S., Texeira, J., Sorokina, M., Seckel, E., Kastritis, P., & Levitt, M. (2020). Insights on cross-species transmission of SARS-CoV-2 from structural modeling. *PLoS Comput Biol*, 16(12), e1008449.

- Rubio, M.P., Guerra, S., & Almendral, J. M. (2001). Genome Replication and Postencapsidation Functions Mapping to the Nonstructural Gene Restrict the Host Range of a Murine Parvovirus in Human Cells. *Journal of Virology*, 75(23), 11573–11582. <https://doi.org/10.1128/jvi.75.23.11573-11582.2001>
- Ruiz-Arrondo, I., Portillo, A., Palomar, A. M., Santibáñez, S., Santibáñez, P., Cervera, C., & Oteo, J. A. (2021). Detection of SARS-CoV-2 in pets living with COVID-19 owners diagnosed during the COVID-19 lockdown in Spain: A case of an asymptomatic cat with SARS-CoV-2 in Europe. *Transboundary and Emerging Diseases*, 68(2), 973–976.
- Saif, L.J. (2004). Animal coronaviruses: what can they teach us about the severe acute respiratory syndrome? *Revue scientifique et technique*, 23 (2), 643-660.
- Sailleau, C., Dumarest, M., Vanhomwegen, J., Delaplace, M., Caro, V., Kwasiborski, A., ... le Poder, S. (2020). First detection and genome sequencing of SARS-CoV-2 in an infected cat in France. *Transboundary and Emerging Diseases*, 67(6), 2324–2328. <https://doi.org/10.1111/tbed.13659>
- Segalés, J., Puig, M., Rodon, J., Avila-Nieto, C., Carrillo, J., Cantero, G., ... Vergara-Alert, J. (2020). Detection of SARS-CoV-2 in a cat owned by a COVID-19-affected patient in Spain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117(40), 24790–24793. <https://doi.org/10.1073/pnas.2010817117>
- Schiaffino, F., Ferradas, C., Jara, L. M., Salvatierra, G., Dávila-Barclay, A., Sanchez-Carrion, C., ... Zimic, M. (2021). First Detection and Genome Sequencing of SARS-CoV-2 Lambda (C.37) Variant in Symptomatic Domestic Cats in Lima, Peru. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 1–5. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.737350>
- Sharun, K., Dhama, K., Pawde, A. M., Gortázar, C., Tiwari, R., Bonilla, K., ...Attia, Y. A. (2021). SARS-CoV-2 in animals: potential for unknown reservoir hosts and public health implications. *Veterinary Quarterly*, 41(1), 181-201.
- Shi, J., Wen, Z., Zhong, G., Yang, H., Wang, Ch., Huang, B., ...Bu, Z. (2020). Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS-coronavirus 2. *Science*, 368(6494), 1016-1020.
- Siddell, S. G., Anderson, R., Cavanagh, D., Fujiwara, K., Klenk, H. D., Macnaughton, M. R., ...Van der Zeijst, B. A. M. (1983). Coronaviridae. *Intervirology*, 20(4), 181-189.
- Sit, T. H. C., Brackman, C. J., Ip, S. M., Tam, K. W. S., Law, P. Y. T., To, E. M. W., ... Peiris, M. (2020b). Infection of dogs with SARS-CoV-2. *Nature*, 586(7831), 776–778. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2334-5>
- Statista Research Department. (2022). *El Coronavirus (COVID-19) en América Latina*. Recuperado de <https://es.statista.com/temas/6298/el-nuevo-coronavirus-covid-19-en-america-latina/>

- Stout, A. E., André, N. M., Jaimes, J. A., Millet, J. K., & Whittaker, G. R. (2020). Coronaviruses in cats and other companion animals: Where does SARS-CoV2/COVID-19 fit? *Veterinary Microbiology*, 247, 108777
- Sun, J., He, W. T., Wang, L., Lai, A., Ji, X., Zhai, X., ...Su, S. (2020). COVID-19: Epidemiology, Evolution and Cross-Disciplinary Perspectives. *Trends in Molecular Medicine*, 26(5), 483-495.
- Tabynov K., Orynassar M., Yelchibayeva L., Turebekov N., Yerubayev T., Matikhan N., ...Tabynov, K. (2022). A Spike Protein-Based Subunit SARS-CoV-2 Vaccine for Pets: Safety Immunogenicity, and Protective Efficacy in Juvenile Cats. *Frontiers in Veterinary Science*, 9, 815978.
- Tazerji, S. S., Duarte, P. M., Rahimi, P., Shahabinejad, F., Dhakal, S., Malik, Y. S., ... Fawzy, M. (2020). Transmission of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) to animals: an updated review. *Journal of Translational Medicine*, 18 (358), 358.
- Temmam, S., Barbarino, A., Maso, D., Behillil, S., Enouf, V., Huon, C., ... Eloit, M. Absence of SARS-CoV-2 infection in cats and dogs in close contact with a cluster of COVID-19 patients in a veterinary campus. (2020). *One Health*, 10, 100164.
- Tewari, D., Boger, L., Brady, S., Livengood, J., Killian, M.L., ... Brightbill, K. (2021). Transmission of SARS-CoV-2 from humans to a 16-year-old domestic cat with comorbidities in Pennsylvania, USA. *Veterinary Medicine and Science*, 8(2), 899–906.
- Tilocca, B., Soggiu, A., Musella, V., Britti, D., Snguineti, M., Urbani, A., & Roncada, P. (2020). Molecular basis of COVID-19 relationships in different species: a one health perspective. *Microbes and Infection*, 22(4-5), 218–220.
- Thompson, H. (2020). A cat appears to have caught the coronavirus, but it's complicated. *Science News*. Recuperado de <https://www.sciencenews.org/article/cats-animals-pets-coronavirus-covid19>
- Van Aart A.E., Velkers F.C., Fischer E., Broens E.M., Egberink H., Zhao S., ... Smit, L.A.M. SARS-CoV-2 infection in cats and dogs in infected mink farms. *Transboundary and Emerging Diseases*. Recuperado de <file:///C:/Users/Usuario/AppData/Local/Temp/Transbouding%20Emerging%20Dis%20-%202021%20-%20Aart%20-%20SARS%25u2010CoV%25u20102%20infection%20in%20cats%20and%20d%20ogs%20in%20infected%20mink%20farms-1.pdf>
- Van der Hoek L. (2007). Human coronaviruses: what do they cause? *Antiviral Therapy*, 12(4 Pt B), 651–658.
- Vasquez-Bonilla, W., Orozco, R., Argueta, V., Sierra, M., Zambrano, L., Muñoz-Lara, F. ... Rodríguez-Morales, A.J. (2020). A review of the main histopathological findings in coronavirus disease 2019. *Human Pathology*, 105, 74-83. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2020.07.023>

- Walls, A. C., Park, Y. J., Tortorici, M. A., Wall, A., McGuire, A. T., & Veerler, D. (2020). Structure, function and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *Cell*, 180, 281-292.
- Wang, C., Horby, P., Hayden, F., & Gao, G. (2020). A novel coronavirus outbreak of global health concern. *The Lancet*, 395 (10223), 470-47.
- Wan, Y., Shang, J., Graham, R., Baric, R. S., & Li, F. (2020). Receptor Recognition by the Novel Coronavirus from Wuhan: an Analysis Based on Decade-Long Structural Studies of SARS Coronavirus. *Journal of Virology*, 94, e00127-20.
- Woo, P. C., Lau, S. K., Lam, C. S., Lau, C. C., Tsang, A. K., Lau, J. H., ... Yuen, K. Y. (2012). Discovery of seven novel mammalian and avian coronaviruses in the genus deltacoronavirus supports bat coronaviruses as the gene source of alphacoronavirus and betacoronavirus and avian coronaviruses as the gene source of gammacoronavirus and deltacoronavirus. *Journal of virology*, 86, 3995-4008.
- Woo, P. C. Y., Lau, S. K. P., Huang, Y., & Yuen, K.-Y. (2009). Coronavirus diversity, phylogeny and interspecies jumping. *Experimental Biology and Medicine* (Maywood, N.J.), 234(10), 1117–1127. <https://doi.org/10.3181/0903-MR-94>
- Wrapp, D., Wang, N., Corbett, K. S., Goldsmith, J. A., Hsieh, Ch. L., Abiona, O., ... McLellan, J. S. (2020). Cryo-EM structure of the SARS-CoV-2 spike in the prefusion conformation. *Science*, 367, (6483), 1260-1263.
- Wu, F., Zhao, S., Yu, B., Chen, Y. M., Wang, W., Song, ZG., ... Zhang, Y. Z (2020). A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*, 579, 265-269.
- Wu, L., Chen, Q., Liu, K., Wang, J., Han, P., Zhang, Y., ... Wang, Q. (2020). Broad host range of SARS-CoV-2 and the molecular basis for SARS-CoV-2 binding to cat ACE2. *Cell Discovery*, 6(1), 68. <https://doi.org/10.1038/s41421-020-00210-9>
- Ye, Z., Yuan, S., Yuen, K., Fung, S., Chan, C., & Yan Jin, D. (2020). Zoonotic origins of human coronaviruses. *International Journal of Biological Sciences*, 16(10), 1686-1697.
- Zhai, P., Ding, Y., Wu, X., Long, J., Zhong, Y., & Li, Y. (2020). The epidemiology, diagnosis and treatment of COVID-19. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 55(5), 105955.
- Zhai, X., Sun, J., Yan, Z., Zhang, J., Zhao, J., Zhao, Z., ... Su, S. (2020). Comparison of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Spike Protein Binding to ACE2 Receptors from Human, Pets, Farm Animals, and Putative Intermediate Hosts. *Journal of Virology*, 94(15), e00831-20.
- Zaki, A. M., Boheemena, S., Bestebroer, T. I. M., Osterhaus, A., & Fouchier, R. (2012). Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *New England Journal of Medicine*, 367, 1814-1820.

- Zhang, T., Wu, Q., & Zhang, Z. (2020a). Probable pangolin origin of SARS-CoV-2 associated with the COVID-19 outbreak. *Current Biology*, 30, 1346-1351.
- Zhang, Y.Z., & Holmes, E. C. (2020). A Genomic Perspective on the Origin and Emergence of SARS-CoV-2. *Cell*, 181, 223-227.
- Zhang, T., Wu, Q., & Zhang, Z. (2020a). Probable pangolin origin of SARS-CoV-2 associated with the COVID-19 outbreak. *Current Biology*, 30, 1346-1351.
- Zhang, Q., Zhang, H., Huang, K., Yang, Y., Hui, X., Gao, J., ...Jin, M. (2020). *Sars-CoV-2 neutralizing serum antibodies in cats: a serological investigation*. Recuperado de <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.04.01.021196v1.full.pdf>.
- Zhao, J., Cui, W., & Tian, B. P. (2020). The Potential Intermediate Hosts for SARS-CoV-2. *Frontiers in Microbiology*, 11, 580137. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.580137>
- Zhou, P., Yang, X. L., Wang, X. G., Hu, B., Zhang, L., Zhang, W., ... Shi, Z. L. (2020). Apneumonia outbreak associated with new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, 579, 270-273.