



**UNIVERSIDAD POPULAR
AUTÓNOMA DEL ESTADO DE PUEBLA**

**DECANATO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA SALUD
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESPECIALIDAD EN MEDICINA Y CIRUGÍA DE PERROS Y GATOS**

**“Frecuencia de anticuerpos IgG Anti-SARS-CoV-2 en gatos y perros en
la Ciudad de Puebla durante la segunda ola de COVID-19”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

**ESPECIALISTA EN MEDICINA Y CIRUGÍA
DE PERROS Y GATOS**

PRESENTA:

M.V.Z. ALEJANDRA TÉLLEZ RAMÍREZ

DIRECTOR: DRA. FABIOLA CAROLINA ESPINOSA GÓMEZ

CO-DIRECTOR: DRA. ELIZABETH BAUTISTA RODRÍGUEZ

PUEBLA, PUEBLA

NOVIEMBRE DE 2023



UPAEP – Secretaría General

Dirección General de Apoyos Académicos

Dirección del Centro de Recursos para el Aprendizaje y la Investigación.

Biblioteca Central - **Karol Wojtyła**

Tesis Digitales Restricciones de uso:

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de textos, imágenes, gráficas, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente de donde la obtuvo mencionando el autor o autores involucrados en el documento.

Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



El presente documento titulado "FRECUENCIA DE ANTICUERPOS IgG ANTI-SARS-COV-2 EN GATOS Y PERROS EN LA CIUDAD DE PUEBLA DURANTE LA SEGUNDA OLA DE COVID-19" fue supervisado y aprobado por el comité asignado para el caso, por lo que no hay inconveniente para que la sustentante **MVZ ALEJANDRA TÉLLEZ RAMÍREZ** con ID 3479347 y número de matrícula 16440056, quien ha sido dirigida y orientada por la Dra. Fabiola Carolina Espinosa Gómez y la Dra. Elizabeth Bautista Rodríguez, promueva la obtención del grado como **ESPECIALISTA EN MEDICINA Y CIRUGÍA DE PERROS Y GATOS**.

Dra. Fabiola Carolina Espinosa Gómez*

Dra. Elizabeth Bautista Rodríguez *

M.V.Z. Esp. Mario Enrique León García

* Catedráticos de la Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla

ATENTAMENTE

"LA CULTURA AL SERVICIO DEL PUEBLO"

DRA. ILEANA ZORHAYA MARTÍNEZ RAMOS

DIRECTORA DE LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINAR Y ZOOTECNIA

ileanazorhaya.martinez@upaep.mx

PUEBLA, PUEBLA, OCTUBRE DE 2023

AGRADECIMIENTOS

A mi madre Laura:

Por tu amor, trabajo y sacrificio en todos estos años; por brindarme todo tu apoyo incondicional durante mi vida sin importar nuestras diferencias de opiniones y por creer en mí siempre. Con tu ayuda y consejos he logrado llegar hasta aquí y convertirme en lo que soy. Eres el pilar más importante de mi vida y mi gran ejemplo a seguir. Te amo, mamá.

A la memoria de mis abuelos Delfino y María de los Ángeles:

Por su infinito amor y paciencia, por dedicar sus mejores años criándome y cuidándome; los consejos, la confianza que brindaron mientras estuvieron con nosotros, así como ser mis compañeros y cómplices, animándome y respaldándome en cada toma de decisiones en que los hice partícipes. Don Delfino, Doña María: mi amor, respeto y admiración para ustedes, siempre.

A mi hermana Libia y mi madrina Irma Patricia:

Esta tesis está dedicada a la memoria de mi querida hermana Libia y mi madrina Irma Patricia Soto Morante, quienes desde la más tierna infancia me animaron en este campo de estudio, depositando su fe y confianza en mí. Libia, me enseñaste que incluso la tarea más grande se puede lograr si se hace un paso a la vez y a no darme por vencida cuando todo parece estar en contra. Irma Patricia, durante gran parte de mi vida compartió su hogar y conocimientos conmigo. La fuerza y la fe de Libia e Irma Patricia durante sus últimos años de vida me dieron una nueva apreciación de esta. Ambas vivieron actuando concienzudamente sobre sus creencias, enfrentando valientemente su muerte prematura. Su ejemplo me da la fuerza cuando quiero rendirme.

Por ser mis ejemplos de lucha y superación. Las amo.

A Rubén y Argelia:

No puedo estar más agradecida de tenerlos como hermanos y como ejemplo a seguir. Por su apoyo, guía y consejos durante la realización de esta tesis, gracias.

A Oziel Alejandro:

En el camino encuentras personas que iluminan tu vida que, con su apoyo incondicional a través de sus consejos, su amor, y paciencia colaboran para alcanzar de mejor manera tus metas. Has sido mi compañero constante durante 26 años y hemos crecido juntos. Esta es otra meta alcanzada de muchas que espero lograr a tu lado. Gracias por recorrer este camino contigo. Te amo Oz.

A la Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla y al Hospital Veterinario para perros y gatos UPAEP:

Por lo aprendido durante mi estancia en la institución, así como facilitarme sus instalaciones para la realización de esta tesis.

Al proyecto: “Gatos y perros mascota como unidades centinelas para el estudio epidemiológico de SARS-CoV-2 en humanos”, al Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Puebla (Convenio 2020-2021), por el financiamiento otorgado.

A las clínicas y centros veterinarios que nos facilitaron sus instalaciones:

Centro Veterinario WEGO con el MVZ Esp. Mario Enrique León, Centro Veterinario La Paz con el MVZ Esp. Christian V. Martínez, Centro Clínico para Pequeños Felinos Cattoz con el MVZ Alberto Peña Martínez y al Hospital Veterinario de Puebla con el MVZ Esp. Joaquín Buxadé.

A mis directoras de Tesis:

A la Dra. Fabiola Carolina Espinosa Gómez por su apoyo e infinita paciencia para conmigo durante la realización de esta tesis, al brindarme su valioso tiempo, examinar meticulosamente este trabajo, enriquecerlo con sus comentarios, aportaciones y observaciones, interpretación de resultados y haberme guiado, no solo en su elaboración, sino a lo largo de la especialidad; así como sus consejos, enseñanzas y comprensión.

A la Dra. Elizabeth Bautista Rodríguez por su apoyo y guía durante la fase experimental y asesoramiento en la redacción y corrección de esta tesis.

A la MVZ MMVZ Daniela Belem Vázquez Briones, a la Dra. Alicia Pamela Pérez Sánchez, al Dr. Mario E. León y al MVZ Esp. Oscar Emilio Palacios Cruz.

Al Instituto Mexicano Madero y la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla:

Por sentar las bases del conocimiento que me han permitido llegar a donde estoy ahora.

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
Resumen	
Abreviaturas	
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	4
2.1. Coronavirus	4
2.2 Origen del virus SARS-CoV2	6
2.3 Transmisión y patogenia de SARS-CoV-2 en humanos	8
2.4 Situación actual de SARS-CoV-2 en animales	10
2.5 SARS-CoV-2 en perros y gatos	12
2.6 Signos y síntomas en la COVID-19 en humanos y animales	16
2.7 Métodos de detección de SARS-CoV-2.....	16
2.7.1 Análisis Serológico	17
2.7.2 Ensayo enzimático (ELISA)	19
2.7.3 RT-PCR (qPCR cuantitativa o en tiempo real)	22
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	25
3.1 Justificación.....	25
3.2 Pregunta de investigación.....	26
3.3 Objetivos	27
4.HIPÓTESIS	28
5. MATERIALES Y MÉTODOS	28
5.1 Población y muestra	28
5.2 Criterios de selección.....	28

5.3 Diseño del muestreo	28
5.4 Hospitales Veterinarios que participaron en el estudio	29
5.5.1 Manejo de la muestra de suero	29
5.6 Determinación de anticuerpos IgG Anti-SARS-CoV-2	31
5.7 Determinación de los Factores de Riesgo	32
5.8 Cuadro de variables operacionales	33
5.9 Análisis Estadístico	34
6. LINEAMIENTOS BIOÉTICOS	34
7. RESULTADOS	35
7.1 Evaluación de la presencia de anticuerpos anti SARS -CoV-2 en perros	35
7.2 Evaluación de la presencia de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 en gatos	39
7.3 Factores de riesgo asociados a la infección por SARS-CoV-2	42
7.4 Mapa de distribución de los pacientes perros y gatos ELISA IgG anti-SARS-CoV-2 positivos en la ciudad de Puebla y en el área metropolitana	44
8. DISCUSIÓN	46
9. CONCLUSIONES	50
10. REFERENCIAS	52
11. ANEXOS.....	62

ÍNDICE DE TABLAS

Contenido	Página
TABLA 1: Coronavirus que afectan diferentes especies animales	5
TABLA 2: Especies animales infectadas reportadas por todo el mundo	11
TABLA 3: Presencia de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2	13
TABLA 4: Hospitales veterinarios privados	29
TABLA 5: Cuadro que muestra las variables evaluadas	33
TABLA 6: Pacientes caninos evaluados	37
TABLA 7: Pacientes gatos evaluados	41
TABLA 8: Resultado de análisis estadístico	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Contenido	Página
FIGURA 1: Distribución mundial	10
FIGURA 2: Esquema de los tipos de ELISA	20
FIGURA 3: Proceso de RT-PCR	24
FIGURA 4: Correlación entre la carga viral	25
FIGURA 5: Diagrama de flujo del procesamiento de las muestras de sangre	31

ABREVIATURAS

α CoV *Alphacoronavirus*

β CoV *Betacoronavirus*

γ CoV *Gammacoronavirus*

δ CoV *Deltacoronavirus*

ACE2 Enzima Convertidora de Angiotensina 2

ARN Ácido Ribonucleico

BatCoV RaTG13 Betacoronavirus asociado a murciélagos

COVID-19 Coronavirus Disease -2019

Ct Umbral del ciclo

E Proteína de envoltura

ELISA Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas

IgG Inmunoglobulina G

IgM Inmunoglobulina M

M Proteína de matriz

MT396266 Secuenciación de genoma presente en visones positivos a SARS-CoV-2

MT457390 Secuenciación de genoma presente en visones positivos a SARS-CoV-2

MT457399 Secuenciación de genoma presente en visones positivos a SARS-CoV-2

MERS Síndrome Respiratorio de Oriente Medio

MERS-CoV Síndrome Respiratorio por Coronavirus de Oriente Medio

N Proteína de la nucleocápside

NB1 Secuencia de índice

NB2 Secuencia de índice

OIE Organización Mundial de Sanidad Animal

OMS Organización Mundial de la Salud

ORF1ab Gen codificador de la enzima replicasa

ORF1a Proteína de replicación 1a

ORF1b Proteína no estructural 8

ORF3 Proteína ORF3

ORF7a Proteína accesoria 7a

pH Potencial de Hidrógeno Pangolin-CoV Coronavirus del Pangolín

qPCR PCR cuantitativa o en tiempo real

RBD Dominio receptor-obligatorio

RmYN02 Coronavirus del murciélago

RT-PCR Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa

S1 Subunidad 1 de la glicoproteína pico (S)

S2 Subunidad 2 de la glicoproteína pico (S)

SARS Síndrome Respiratorio Agudo Severo

SARS-CoV Síndrome Respiratorio Agudo Severo Coronavirus

SARS-CoV-2 Síndrome Respiratorio Agudo Severo Coronavirus 2

S Glicoproteína de pico

3'UTR 3 regiones principales sin traducir

Wuhan-Hu-1 Cepa de SARS-CoV-2

RESUMEN

El síndrome respiratorio agudo severo coronavirus 2 (SARS-CoV-2) que se originó en Wuhan, China, es responsable de una de las pandemias más importantes en los últimos años que ha afectado a millones de personas en todo el mundo desde su primera detección a fines de 2019. Se sabe que la transmisión de persona a persona es el método principal de propagación del virus; sin embargo, para luchar eficazmente contra esta pandemia, considerada una enfermedad zoonótica, es esencial un examen detallado del papel de los animales, pues se piensa que los murciélagos constituyen el reservorio inicial del virus. Durante la primera ola de infección de la enfermedad se sabía poco sobre el papel que podían tener las mascotas en la propagación de la enfermedad en las comunidades humanas, por lo que los primeros estudios realizados demostraron que, además de los humanos, los pequeños y grandes felinos, perros y otras especies de animales, son susceptibles al SARS-CoV-2. Hasta ahora se ha demostrado que los perros tienen una susceptibilidad menor que los gatos; sin embargo, en ambas especies, se han reportado infecciones naturales, y a la par se ha informado sobre la transmisión a animales en cohorte, destacando la necesidad de vigilancia en el contexto de Una Sola Salud. Hasta finales de abril 2022, la OMSA ha reportado 675 de brotes en animales, principalmente perros y gatos en diferentes países, incluyendo México. Este trabajo tuvo como objetivo determinar la presencia de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 en gatos y perros que habitan el Municipio de Puebla, Pue. y Área Metropolitana, que asistieron a cualquier servicio veterinario en diferentes hospitales y clínicas veterinarias ubicadas en diferentes puntos de la ciudad durante la segunda ola de COVID-19. Además, se establecieron los factores de riesgo de tipo demográficos y de hábitos de tenencia del tutor con respecto a la presencia de anticuerpos específicos del virus. Los resultados mostraron que los gatos tuvieron una mayor frecuencia de IgG anti-SARS-CoV-2 con el 40%, de los cuales el 27% fueron machos y 13% hembras de raza Doméstico de pelo corto; el 58.33% de los gatos positivos fueron mayores a 6 años, los cuales sólo el 8.33% mostró signos respiratorios. La frecuencia de pacientes caninos positivos fue del 20.83%, de los cuales el 60% fueron machos. El análisis de Odds Ratio, mostró que los pacientes cuyo tutor permanecía mayor tiempo en la calle fueron menos susceptibles a presentar anticuerpos. Este estudio contribuye al conocimiento de los factores que influyen para que perros y gatos, no sólo de la ciudad de Puebla y área metropolitana, tengan mayor probabilidad de estar en contacto con el virus de SARS-CoV-2, sino que sea referencia para otras ciudades con hábitos de tenencia similares y puedan establecer criterios para evitar la transmisión de la enfermedad de humanos a animales o entre animales.

1. INTRODUCCIÓN

El 31 de diciembre de 2019, se reportaron varios casos de neumonía de causa desconocida en la ciudad de Wuhan, capital de la provincia de Hubei en China en pacientes asociados con el mercado mayorista de mariscos de Huanan, sitio donde se comercializan animales vivos tales como aves de corral, murciélagos, reptiles, anfibios, roedores, conejos, marmotas y erizos, por mencionar algunos; lo que inicialmente sugirió un posible contagio zoonótico, señalando inicialmente al murciélago como posible huésped reservorio, sin descartar a otras especies animales que incluyen serpientes, tortugas y pangolines, este último se ha sugerido ser huésped intermedio del virus. (Q. Li et al., 2020; Malik et al., 2020; Tiwari et al., 2020; Zhu et al., 2020).

La enfermedad se caracterizó por ser un trastorno respiratorio de severidad variable: desde la presencia de una enfermedad leve del tracto respiratorio superior hasta un síndrome de dificultad respiratoria aguda y neumonía intersticial severa (Petrosillo et al., 2020). En enero de 2020 se aisló e identificó como el patógeno causante de la enfermedad a un nuevo coronavirus (COVID-19) que, posteriormente, fue denominado como Síndrome Respiratorio Agudo Severo Coronavirus-2 (SARS-CoV-2) (ICTV, 2020).

La Organización Mundial de Sanidad Animal (WOAH -antes OIE-) considera a la COVID-19, como una enfermedad “emergente” y recomienda el reporte inmediato en animales, inclusive de los casos negativos. Por su parte, la OMS, en su documento “Línea de investigación mundial coordinada frente al COVID-19” indica como prioridad prevenir la transmisión entre animales y humanos, incluyendo la prevención de saltos entre especies, así como desarrollar una estrategia para reducir los riesgos bajo el enfoque “Una Sola Salud en la interfase humano-animal-ambiente” (WHO, A coordinated Global Research Roadmap, p. 13-14). En este sentido, se indica la necesidad de investigar los posibles rangos de hospedadores animales y la relación filogenética entre ellos.

Hong Kong fue el primer país en reportar y documentar la presencia del virus en un perro Pomerania macho de 17 años cuyo propietario fue positivo a SARS-CoV-2, por lo que se alertó sobre la posibilidad del contagio a animales de compañía mediante zooantroponosis (transmisión de seres humanos a animales), dando pie a investigar casos similares en animales (domésticos o silvestres) que hubiesen estado en contacto directo con un paciente positivo a COVID-19; sin embargo, fue necesario establecer si las especies infectadas por el nuevo coronavirus eran susceptibles a la infección de forma natural (tal como en el caso de perros, gatos, visones, grandes felinos) o de forma experimental (roedores, gatos, musélicos, primates), lo cual demostró la capacidad de mutación que tiene el virus para adaptarse a una amplia gama de huéspedes (Kiros et al., 2020; Leroy et al., 2020a).

Debido a la rápida propagación del virus en varios países del mundo, la Organización Mundial de la Salud lo declaró pandemia el 11 de marzo de 2020, teniendo al 30 de marzo de 2023 761,071,062 casos confirmados y 6,879,664 muertes en más de 220 países; mientras que en México se presentaron 7,535,316 casos confirmados y 333,490 defunciones (OMS,2023; CONACyT, 2023).

Como parte de la estrategia Una Salud, es de suma importancia conocer las relaciones entre el patógeno, los hospederos, reservorios, intermedios y el medio ambiente, así como las características de la transmisión de animales a humanos y entre individuos de la misma especie para comprender el mecanismo del SARS-CoV-2, combatir su propagación y disminuir los riesgos de contagio (Bonilla-Aldana et al., 2020; Hassani & Khan, 2020; Konda et al., 2020). El conocimiento del reservorio animal y del ciclo de transmisión ayudará a prevenir y mitigar la transmisión del virus mediante el diagnóstico oportuno, pruebas de laboratorio, el aislamiento adecuado del individuo que presente la enfermedad, desarrollo y establecimiento de terapias efectivas, además de la vigilancia cercana hacia animales susceptibles que se encuentren en contacto con personas tales como animales de compañía, animales de zoológico, animales de bioterio, animales de producción y animales silvestres (Abdel-Moneim & Abdelwhab, 2020; El Zowalaty & Järhult, 2020; Gollakner & Capua, 2020; Konda et al., 2020; Mallapaty, 2020; Tiwari et al., 2020).

En México el número de perros y gatos ha crecido enormemente, según reportes del INEGI, hay 60 millones de perros y gatos a nivel nacional, de los cuales el 70% está en situación de calle, mientras que el 70% de los hogares tiene al menos una de estas mascotas; por lo tanto, la posibilidad de zoonosis involucraría un gran impacto en la salud pública ante la aparición de nuevos brotes, asociado al impacto social por el abandono animal. En el Estado de Puebla el 55.05% de la población cuenta con al menos un perro de mascota dentro de sus hogares y en el caso de los gatos el número puede ser mayor.

El Municipio de Puebla reportó el mayor número de casos positivos al SARS-CoV-2 en seres humanos dentro del Estado (coronavirus.gob.mx, **30 de marzo de 2023**) y es en esta Ciudad en donde se pueden observar conglomerados urbanos que tienen una relación íntima (física y emocional) con sus animales de compañía, por lo que es importante monitorear la presencia del SARS-CoV-2 en las mascotas y educar a la población para evitar el contagio entre humanos y animales, y viceversa.

Este trabajo surgió como parte del proyecto “Gatos y perros mascota como unidades centinelas para el estudio epidemiológico del SARS-CoV-2 en humanos” que tuvo como meta principal realizar el monitoreo de la presencia del virus en gatos y perros mascotas de pacientes infectados con SARS-CoV-2 y que mantuvieron contacto estrecho con ellos durante la infección

(grupo de estudio COVID) y también en mascotas sin antecedente reconocido de contacto con seres humanos infectados (grupo de estudio aleatorio).

El presente trabajo de tesis presenta los resultados del monitoreo serológico de pacientes perros y gatos que recibieron atención médica por cualquier motivo (grupo de estudio aleatorio) en el Hospital Veterinario UPAEP así como en otros Hospitales Veterinarios privados en el área Metropolitana de la Ciudad de Puebla, los cuales funcionaron como unidades centinela de la infección por SARS-CoV-2. Los resultados obtenidos permitieron realizar recomendaciones para mejorar la educación de la sociedad en la tenencia responsable de mascotas, que incluye practicar normas adecuadas de higiene convivencia y seguridad en el mantenimiento de perros y gatos, para con ello prevenir el contagio de personas a animales y más aún, el salto de la infección por SARS-CoV-2 de animales a humanos.

2. MARCO TEORICO

2.1 Coronavirus

Los coronavirus son virus envueltos con una sola hebra de ARN de sentido positivo (+ ss) y tamaño del genoma entre 26 y 32 kb de longitud (Dhama et al., 2014; Su et al., 2016). Estos virus poseen cuatro proteínas estructurales esenciales: glicoproteína espiga (S), proteína de matriz (M), proteína de envoltura (E), y proteína de la nucleocápside (N) (Dhama et al., 2014; Junejo et al., 2020; Mortola & Roy, 2004; Chong Wang et al., 2017). La familia *Coronaviridae* contiene dos subfamilias denominadas *Lentovirinae* y *Orthocoronavirinae*; este último se clasifica además en cuatro géneros, a saber, *Alphacoronavirus* (α CoV), *Betacoronavirus* (β CoV), *Gammacoronavirus* (γ CoV) y *Deltacoronavirus* (δ CoV). Los γ CoV y δ CoV causan enfermedades en las aves, mientras que los α CoV y los β CoV se encuentran principalmente en mamíferos como murciélagos, roedores, civetas, porcinos, equinos, bovinos y humanos (Helmy et al., 2020; Lau et al., 2015; P. C. Y. Woo et al., 2012; Patrick C. Y. Woo et al., 2005) (Tabla 1).

En el pasado, se han identificado pandemias provocadas por betacoronavirus, el SARS-COV (coronavirus tipo 1 del síndrome respiratorio agudo severo) y el MERS-COV (coronavirus del síndrome respiratorio de Oriente Medio), los cuales son patógenos de origen zoonótico. El huésped natural de los coronavirus SARS y MERS altamente patógenos se confirmó como murciélagos, y también se cree que los murciélagos son los hospederos naturales del SARS-CoV-2 según el análisis de la secuencia genómica. Los coronavirus necesitan hospederos intermediarios antes de poder infectar a los humanos. Se confirmó que las civetas de palma enmascaradas y los dromedarios son los hospedadores intermediarios de SARS-CoV y MERS-CoV, respectivamente (Chen Wang et al., 2020).

La enfermedad más reciente y de rápida evolución asociada con el coronavirus en humanos es COVID-19 causada por el SARS-Coronavirus tipo2 (SARSCoV-2) (Wu et al., 2020). Las variaciones de nucleótidos del coronavirus causante de COVID-19 están estrechamente relacionadas con el coronavirus del SARS (SARS-CoV), por lo que se ha denominado SARS-CoV-2 (Gorbalenya et al., 2020a), el cual es más infeccioso y contagioso en comparación con el SARS-CoV que se vio afectado en 2003 (Zhong et al., 2003).

Tabla 1. Coronavirus que afectan diferentes especies animales, modificado de Coronaviruses of Animals and Birds (Alluwaimi et al., 2020).

Género viral	Especie afectada	Tipo Virus	Enfermedad que causa
α CoV	Gatos	FECV	Coronavirus entérico felino
		FIPV	Peritonitis infecciosa felina
α CoV	Perros	FECV	Enteritis
		CRCoV	Coronavirus Respiratorio canino
α CoV	Cerdos	TGEV	Gastroenteritis transmisible porcina
β CoV		PCRv	Coronavirus Respiratorio Porcino
		PEDV	Diarrea Epidémica Porcina
		PHEV	Encefalomielitis Hemaglutinante Porcina
δ CoV		PDCoV	Deltacoronavirus porcino
β CoV	Bovinos	BCoV	Coronavirus Bovino/ Infección Neumoentérica
γ CoV	Aves de corral	IBV	Bronquitis Infecciosa Aviar
		TCoV	Coronavirus de los pavos
β CoV	Camélidos	MERS-CoV	Síndrome Respiratorio de Oriente Medio
β CoV	Ratones	MHV 1 MHV 2 MHV 3 MHV 4	Virus de la Hepatitis del ratón
β CoV	Murciélagos	SARS-CoV	Síndrome Respiratorio Agudo Grave
α CoV	Humanos	NL63	Coronavirus Humano NL63
β CoV		HCoV- HKU1	Coronavirus Humano HKU1
β CoV		OC43	Coronavirus Humano OC43
α CoV		229E CoV	Coronavirus Humano 229E
β CoV		SARS-CoV	Síndrome Respiratorio Agudo Grave
β CoV		MERS-CoV	Síndrome Respiratorio de Oriente Medio
β CoV		SARS-CoV-2	Síndrome Respiratorio Agudo Severo

Aunque, en términos de secuenciación del genoma, el SARS-CoV-2 mostró una identidad del 96,2% con el coronavirus (RaTG13) detectado en murciélagos de herradura (*Rhinolophus spp.*), en la provincia de Yunnan en 2013, no se había observado previamente en animales de compañía; sin embargo, el Departamento de Agricultura, Pesca y Conservación de Hong Kong informó de un resultado positivo en un perro de Pomerania el 28 de febrero de 2020. Posteriormente, se informaron resultados positivos en dos perros, dos gatos domésticos, cuatro tigres y tres leones, de animales a humanos, haciendo públicos los primeros informes de infección esporádica por SARS-CoV-2 en perros y gatos después de la sospecha de transmisión de persona a animal. Aunque los perros eran asintomáticos, se encontró que un gato doméstico tenía síntomas como vómitos, diarrea y dificultad para respirar, mientras que los tigres y los leones tenían tos seca y sibilancias. La Organización Mundial de Sanidad Animal ha sugerido que puede producirse la transmisión de persona a animal y, por lo tanto, los pacientes con COVID-19 deben limitar el contacto con mascotas y otros animales hasta que se conozca más información sobre el virus. Adicionalmente, aún no hay evidencia que demuestre que existe zoonosis inversa.

2.2 Origen del virus SARS-CoV-2

El SARS-CoV-2 pertenece a la familia *Coronaviridae*, orden *Nidovirales*, suborden *Coronavirineae*. El brote de la enfermedad por Coronavirus-2019 (COVID-19) que conduce a una neumonía de origen desconocido se relacionó con el mercado mayorista de mariscos de Huanan ubicado en la ciudad de Wuhan, provincia de Hubei, China. El patógeno pronto fue identificado como un nuevo coronavirus llamado virus del Síndrome Respiratorio Agudo Severo Coronavirus 2 (SARSCoV-2) y la enfermedad se denominó Coronavirus Disease -2019 (COVID-19). El SARS-CoV-2 es el tercer coronavirus que ha surgido en las últimas dos décadas.

Existen brechas significativas en la comprensión del papel de los vertebrados en su transmisión y si hay hospederos intermediarios que pueden actuar como reservorios y/o hospederos amplificadores. La investigación de hospederos intermediarios de SARS-CoV-2 puede ayudar a comprender la dinámica de COVID-19 y evaluar la posibilidad de transmisión zoonótica.

Un número creciente de estudios ilustra que la transmisión de persona a animal está muy extendida en gatos, visones, ciervos y otras especies. Las inoculaciones experimentales de gatos, visones y hurones han perpetuado los ciclos de transmisión. Se secuenciaron genomas completos de inoculación de SARS-CoV-2 y virus recuperados de gatos, perros, hámsteres y hurones después de la exposición. Un total de 14 variantes emergentes (seis en genes no estructurales, seis en espiga y una en cada orf8 y nucleocápside) se detectaron en virus recuperados de animales, incluyendo

sustituciones en los residuos de picos H69, N501 y D614. La selección de variantes de SARS-CoV-2 *in vitro* e *in vivo* reveló residuos con importancia funcional durante el cambio de hospedador, ilustran el potencial de la propagación de los animales huéspedes para acelerar la evolución de nuevos linajes virales, hallazgos de especial preocupación para los perros y gatos que viven en hogares con pacientes con COVID-19 (Bashor et al., 2021).

De acuerdo con el análisis genómico del SARS-CoV-2, éste comparte una identidad del 96,2% con el genoma de un virus identificado en el murciélago nariz de herradura CoV (BatCoV RaTG13), que indica un posible origen del virus en murciélagos (Lai et al., 2020; Malik et al., 2020). Varios estudios sugirieron que el pangolín podría ser el potencial hospedero intermedio involucrado en la evolución del virus debido a la configuración única del dominio de unión al receptor (Andersen et al., 2020; Junejo et al., 2020; Kelley et al., 2015; Rehman et al., 2020). En otro estudio, se demostró que el SARSCoV-2 era un virus quimérico entre un coronavirus de murciélago y un coronavirus de origen desconocido (Ji et al., 2020a).

El mecanismo de entrada del virus al hospedero es a través de una proteína espiga anclada a la envoltura, media la entrada del coronavirus en las células del huésped uniéndose primero a un receptor del huésped y luego fusionando las membranas virales y del huésped (X. Li et al., 2020). En una similar investigación, se informó sobre un nuevo coronavirus derivado de murciélagos, denotado RmYN02, identificado a partir del análisis metagenómico de muestras de 227 murciélagos recolectados en la provincia de Yunnan en China entre mayo y octubre de 2019 (H. Zhou et al., 2020); este virus comparte una identidad de nucleótidos del 93,3% con el SARS-CoV-2 en la escala del genoma completo y una identidad del 97,2% en el gen ORF1ab. Se encontró que la ACE2 felina y humana tenían una identidad del 85,2%, siendo la identidad más alta de una ACE en animales de compañía en relación con la proteína ACE humana (Stout et al., 2020). Críticamente, y de manera similar a SARS-CoV-2, RmYN02 se caracterizó por la inserción de múltiples aminoácidos en el sitio de unión de las subunidades S1 y S2 de la glicoproteína espiga (spike) (S). Esto proporciona una fuerte evidencia de que tales eventos de inserción pueden ocurrir naturalmente en animales β CoV (Khailany et al., 2020; H. Zhou et al., 2020). Por otro lado, SARS-CoV-2 está estrechamente relacionado con el SARS-CoV (Kim et al., 2020; Petrosillo et al., 2020) y la similitud entre genomas fue de aproximadamente el 80% (Lai et al., 2020; Malik et al., 2020; Zhang et al., 2020).

El dominio RBD de la proteína espiga de SARS-CoV-2, que se encuentra en el dominio S1, es un elemento crítico para determinar la susceptibilidad de la nueva especie huésped. Los estudios realizados sobre la interacción entre el RBD viral con el receptor celular del huésped (ACE2) revelaron serpientes, pangolines y tortugas como posibles hospederos intermediarios (Liu et al.,

2020). Las tortugas, junto con otras especies animales, son animales predilectos en el Mercado Mayorista de Mariscos de Huanan (Liu et al., 2020).

Uno de los probables hospederos intermediarios del SARS-CoV-2 es el pangolín. Cuando se comparó el virus SARS-CoV-2 con el gen S de SARS-CoV, bat-CoV (As6526), bat-CoV (RaTG13), visón-CoV y pangolin-CoV, se encontró 71,41%, 68,17%, 92,86%, 30,89% y 90% de similitud, respectivamente (Gorbalenya et al., 2020b). Cuando la homología del SARS-CoV-2 y estos coronavirus es inferior al 75%, se presume que el SARS-CoV-2 no es el mismo virus que los coronavirus que surgen de estos animales silvestres. Se ha informado que SARS-CoV-2 no proviene directamente del pangolín, pero se encuentra estrechamente relacionado, por lo que continúan las investigaciones acerca de su relación (Alekseev et al., 2008; Ji et al., 2020b; Yeşilbağ & Aytoğu, 2020). Se necesitan más investigaciones para confirmar el origen y la dinámica de transmisión del SARS-CoV-2. Si bien se cree que los murciélagos y las civetas de palma eran los reservorios naturales e intermedios del SARS-CoV, respectivamente, se ha aislado de animales y se ha adaptado al cultivo de células de laboratorio (Casella et al., 2022; Liu et al., 2020; Wan et al., 2020).

2.3 Transmisión y patogenicidad de SARS-CoV-2 en Humanos

Hasta el 30 de marzo de 2023 se han reportado alrededor de 761 millones de casos de COVID-19 y más de 6.8 millones de muertes a nivel mundial. De acuerdo con la OMS, el virus puede propagarse a través de pequeñas partículas líquidas expulsadas por una persona infectada por la boca o la nariz al toser, estornudar, hablar, cantar o respirar. Las partículas tienen diferentes tamaños, desde las más grandes, llamadas gotículas respiratorias, hasta las más pequeñas, o aerosoles.

Los datos disponibles actualmente apuntan a que el virus se propaga principalmente entre personas que están en estrecho contacto, por lo general a menos de un metro o en sitios concurridos, cerrados y/o con mala ventilación donde suelen pasar largos periodos de tiempo, ya que los aerosoles permanecen suspendidos en el aire o viajan a distancias superiores a 1 metro como máximo. Una persona puede infectarse al inhalar aerosoles o gotículas que contienen virus o que entran en contacto directo con los ojos, la nariz o la boca. También es posible infectarse al tocar superficies contaminadas por el virus y posteriormente tocarse los ojos, la nariz o la boca sin haberse lavado las manos (*Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Situation Report, 73*, n.d.).

La enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) es el receptor celular de SARS-CoV y SARS-CoV-2. ACE2 es una proteína de membrana tipo I que se expresa en los pulmones, el corazón, los riñones y el intestino; su función fisiológica principal es la maduración de la angiotensina, una hormona peptídica que controla la vasoconstricción y la presión arterial. La disminución de la

expresión de ACE2 se asocia con enfermedades cardiovasculares (Donoghue et al., 2000; Y. Zhao et al., 2020). La ACE2 de longitud completa consiste en un dominio peptidasa N-terminal y un dominio similar a la colecta (CLD) C-terminal que termina con una única hélice transmembrana y un segmento intracelular de ~40 residuos (Donoghue et al., 2000). El dominio de peptidasa de ACE2 separa la Angiotensina I para producir Angiotensina II (Zhu et al., 2020; Zisman et al., 2003).

En el caso del SARS-CoV, la glicoproteína espiga (proteína S) en la superficie del virión interviene en el reconocimiento del receptor y la fusión de la membrana celular (Gallagher & Buchmeier, 2001; Simmons et al., 2013). Durante la infección viral, la proteína S trimérica se divide en subunidades S1 y S2 y las subunidades S1 se liberan en la transición a la formación subsecuente a la fusión S1, que contiene el dominio de unión al receptor (RBD), y se une directamente al dominio de peptidasa de la ACE2, mientras que la proteína S2 es responsable de la fusión de membranas (Belouzard et al., 2009; F. Li et al., 2005; Simmons et al., 2004, 2013; Song et al., 2018). Cuando S1 se une al receptor ACE2 del huésped, se expone otro sitio de ruptura en S2 y las proteasas del huésped lo dividen, un proceso crítico para la infección viral (Belouzard et al., 2009; Millet & Whittaker, 2015). Recientemente se reportó la estructura de la proteína S de SARS-CoV-2 y cómo también aprovecha la ACE2 para la infección del huésped; mostrando que su ectodominio se une al dominio de la peptidasa de ACE2 con una constante de disociación (Kd) de ~15 nM (Hoffmann, Kleine-Weber, Krueger, et al., 2020; Hwang et al., 2020; Kuba et al., 2005; Q. Li et al., 2020).

ACE2 también funciona como acompañante para el tráfico de membrana del transportador de aminoácidos B0 AT1, también conocido como SLC6A19, que media la absorción de aminoácidos neutros en las células intestinales de manera dependiente del sodio. El mecanismo de tráfico de membrana para ACE2 y B0 AT1 es similar al del complejo LAT1-4F2hc, encargado de transportar aminoácidos neutros que requiere 4F2hc para su localización en la membrana plasmática (Mastroberardino et al., 1998; Yan et al., 2019). Durante la infección por SARS-CoV-2, el virus se dirige a la ACE2 de la superficie celular a través del RBD de la proteína espiga; se identificaron los residuos de interacción clave de ACE2 dentro del RBD, que incluyen: Q24, D30, H34, Y41, Q42, M82, K353 y R357 (Cao et al., 2020).

Las principales lesiones tisulares causadas por SARS-CoV-2 en humanos se observan en pulmones, manifestándose como lesiones multifocales, que conlleva a una hipoxemia como resultado de una lesión pulmonar aguda. Se ha reportado daño tisular generalizado, principalmente en corazón, apareciendo como daño miocárdico agudo, lesiones cardíacas agudas por una tormenta de citoquinas que lleva a una falla orgánica sistémica, rotura de la placa aterosclerótica secundaria a hipertensión arterial. A la evaluación oftalmológica se ha reportado principalmente ojo seco, visión borrosa,

congestión conjuntival y sensación de cuerpo extraño; algunas lesiones en piel pueden ser erupciones tipo rash, urticaria, vesículas similares a viruela, lesiones acro-cianóticas parcheadas en manos y pies, mientras que los hallazgos patológicos incluyen hipocalcemia, así como la elevación de la fosfatasa, así como alteraciones más severas como fenómenos trombóticos desencadenante de eventos tales como infarto cerebral, isquemia cardiaca, muerte súbita, embolismos, trombosis venosa profunda. También se observa mayor incidencia de sangrados (Rodríguez & Núñez, 2020).

2.4 Situación actual del SARS-CoV-2 en animales

Hasta finales de diciembre de 2022 la WOAHA ha reportado al menos 26 especies animales infectadas de forma natural y en laboratorio con mayor frecuencia (Tabla 2), presentando 7 focos nuevos de especies infectadas que incluyen gatos, perros, leones y visones americanos, ubicadas en 5 países: Canadá, Estonia, México, Italia y Suiza (Figura 1). El primer caso de un animal diagnosticado con SARS-CoV-2 y reportado como zooantroponosis reconocida (zoonosis reversa), fue un perro de raza Pomerania en China, el cual se encontraba en contacto cercano con su tutor positivo a COVID-19 (Sit et al., 2020).



Figura 1. Distribución mundial reciente de brotes de SARS-CoV-2 informados a la WOAHA durante el periodo comprendido del 1 al 31 de diciembre de 2022.

Aunque las formas exactas de transmisión del SARSCoV-2 de humanos infectados a animales se conocen vagamente, la posible transmisión puede ocurrir al tocarse la nariz o la boca con

manos contaminadas con gotitas respiratorias o saliva (Chen, 2020). En el momento de estornudar, toser o hablar, los humanos infectados pueden diseminar gotitas respiratorias, que tienen un papel fundamental en la transmisión del virus a los animales (Ozaslan et al., 2020). Sin embargo, la transmisión del virus de las personas afectadas puede verse facilitada por algunos factores de riesgo favorables, por ejemplo, besar, acariciar, lamer o abrazar animales de compañía (Leroy et al., 2020b).

Se han utilizado pruebas de ELISA tipo sándwich de doble antígeno para detectar anticuerpos específicos en al menos 35 diferentes especies de animales, las cuales, antes de aplicarlo a las muestras de suero clínico, se confirmaron la sensibilidad y la especificidad del kit utilizando sueros positivos y negativos para SARS-CoV-2 de animales de experimentación. Posteriormente el kit se utilizó para detectar anticuerpos específicos del SARS-CoV-2 en ganado doméstico (porcino, vaca, oveja, caballo), aves de corral (pollo, pato, ganso), animales de experimentación (ratones, ratas, cobayas, conejos y monos), animales de compañía (perros y gato) y animales salvajes (camello, zorro, visón, alpaca, hurón, rata de bambú, pavo real, águila, rinoceronte tigre, pangolín, gato leopardo, chacal, panda gigante, algalia enmascarada, puercoespín, oso, marta de garganta amarilla, comadreja, pandas rojos y jabalí). Los resultados mostraron que no se detectaron anticuerpos específicos contra el SARSCoV-2 en las especies de animales anteriores, incluido el pangolín, que se ha informado como un huésped intermedio del SARS-CoV-2 (Deng et al., 2020; Ward et al., 2020).

Tabla 2. Especies animales infectadas reportadas en todo el mundo, por especie y región, al 31 de diciembre de 2022, modificado de SARS-CoV-2 in animals–Situation Report 20 (WOAH, 2023).

Región Especie	África	América	Asia	Europa
Perro		X	X	X
Gato		X	X	X
Tití de cola negra		X		
Lince canadiense		X		
Binturong		X		
Mono ardilla común		X		
Lince euroasiático				X
Gato pescador		X		
Oso hormiguero gigante		X		

Gorila		X		X
Hámster			X	
Hipopótamo				X
León	X	X	X	X
Mandrill		X		
Visón		X		X
Ciervo bura		X		
Nutria		X		
Hurón		X		X
Puma	X	X		
Zorro rojo				X
Leopardo de las nieves		X		
Coatí sudamericano		X		
Hiena manchada		X		
Tigre		X	X	X
Manatí antillano		X		
Venado cola blanca		X		

2.5 SARS-CoV-2 en perros y gatos

Al comienzo del brote de SARS-CoV-2, se pensó que las mascotas no eran susceptibles a contraer SARS-CoV-2. Entre el temor global debido a la rápida propagación del COVID-19 y la ausencia de tratamiento o vacuna específicos, se presentó el primer caso de transmisión de persona a animal registrado en Hong Kong, donde se vio afectado un perro Pomerania de 17 años (AFCD, 2020). Este caso generó preocupaciones sobre la posibilidad de transmisión del SARS-CoV-2 de humanos a animales y viceversa, lo que representaría las dificultades para combatir el virus de manera significativa.

Posteriormente, se informó de una infección natural de un gato en Bélgica con rastros de los virus identificados en las muestras recolectadas por PCR. Este gato mostró dificultad respiratoria, vómitos y diarrea, lo que puede indicar una replicación activa del virus dentro del animal (Chini, 2020; Jurgiel et al., 2020; Khailany et al., 2020). Sin embargo, el animal no fue examinado por un veterinario, por lo que fue necesaria una evaluación adicional, como la serología. En otro estudio, Shi

et al. (2020) demostraron que los gatos no sólo podían estar infectados de forma natural con SARS-CoV-2, sino también que los gatos adolescentes inoculados artificialmente con el virus presentaban lesiones histológicas graves y murieron (Kelley et al., 2015).

En estudios posteriores, los perros mostraron seroconversión, pero no se pudo aislar el virus. Sobre la base de hallazgos recientemente publicados, otros autores plantearon la hipótesis de que existe una protección cruzada inmunológica entre el SARS-CoV-2 y el coronavirus respiratorio canino (CRCoV) debido a la alta homología entre los epítomos de proteínas de espiga de los dos coronavirus relacionados taxonómicamente (Tilocca et al., 2020). El posible efecto protector de tener una mascota contra los coronavirus merece consideración cuando la prevalencia del coronavirus es alta en la población de mascotas. Los coronavirus respiratorios caninos a menudo ocurren entre perros. La posesión de una mascota infectada puede provocar la transmisión de virus de animales a humanos. Aunque todavía no se ha encontrado la posible protección causada por la posesión de una mascota, la aparición frecuente de coronavirus en caninos podría ayudar al sistema inmunológico humano a desarrollar una mejor respuesta contra el SARS-CoV-2 (Jurgiel et al., 2020) (Tabla 3).

Tabla 3. Presencia de anticuerpos IgG antiSARS-CoV-2 detectados mediante ELISA en perros y gatos en estudios realizados en diferentes países.

Especie	%IgG ELISA	PAÍS	PERIODO	REFERENCIA
Gatos	14.7%	China	Enero-marzo 2020	Zhang et al., 2020
Perros	1.75%	China	Enero-septiembre 2020	Zhao et al., 2020
Perros	7.56%	Croacia	Febrero-junio 2020	Stevanovi et al. 2021
Gatos	0.69%	Alemania	Abril-septiembre 2020	(Michelitsch et al., 2020)
Perros	14.69% población general 25.64% tutores (+) COVID-19	Croacia	Diciembre 2020	Stevanovic et al. 2021b
Gatos	Negativo	Italia	Diciembre 2020	Stranieri et al., 2021
Perros	16.21%	España	Abril-agosto 2020	Perisé-Barrios et al., 2021

Perros	5.5%	Francia	Febrero 2020- Febrero 2021	Laidoudi et al., 2021
Perros y Gatos	13.3% perros Negativo gatos	Hong Kong	Marzo 2020	Sit et al., 2020
	28% perros 40% gatos	Brasil	Mayo- octubre 2020	Calvet et al.,2021
	1.66% perros 0.36% gatos	Bankok, Tailandia	Abril-diciembre 2020	Udom et al.,2021
	1.79% perros 1.17% gatos	Polonia	Junio 2020- febrero 2021	Pomorska et al., 2021
	15.4-38.5% perros 23.5-58.8% gatos	Francia	Mayo-junio 2020	Fritz et al., 2021
	Negativo perros 4.5% gatos	Francia	Abril 2020	Sailleau et al., 2020
	0.37% perros 1.15% gatos	EUA	Marzo-noviembre 2020	Barua et al., 2020
	No determinado	España	Abril-mayo 2020	Ruíz-Arrondo et al., 2020
	No determinado	México	Octubre-diciembre 2020	Sánchez-Montes et al., 2021
	Negativo perros Negativo gatos	China	Marzo 2020	Deng et al., 2020
	1.1% perros Negativo gatos	Alemania/Italia	Marzo-Julio 2020	Klaus et al., 2021
	Negativo perros Negativo gatos	Francia	Febrero-marzo 2020	Temmam et al., 2020
	15.4% perros 17.7% gatos	Países Bajos	Enero-marzo 2021	Aart et al., 2021
	1.4% perros 2.2% gatos	Reino Unido	Septiembre 2020- Febrero 2021	Smith et al., 2021
1.17% perros 1.79% gatos	Polonia	Junio 2020- Febrero 2021	Pomorska-Mól et al., 2021	

La susceptibilidad de los gatos y hurones al SARS-CoV-2 podría atribuirse a los ACE2 (receptores del SARS-CoV-2) (Hoffmann, Kleine-Weber, Schroeder, et al., 2020; Lai et al., 2020). Estos receptores se expresan en las células epiteliales serosas de neumocitos de tipo II de las glándulas submucosas traqueobronquiales de los hurones. Además, las regiones de contacto con picos de SARS-CoV-2 de ACE2 son similares tanto en hurones como en gatos, y se diferencian sólo en dos aminoácidos (Shi et al., 2020b).

Los informes también han documentado signos respiratorios o gastrointestinales en gatos después de una infección natural por SARS-CoV-2 y cambios patológicos en el tracto respiratorio en estudios experimentales (Hosie et al., 2021; Newman et al., 2020; OIE, 2020; Sailleau et al., 2020; Shi et al., 2020b). La gravedad de la enfermedad en los gatos sintomáticos infectados naturalmente con SARS-CoV-2 varió de leve a grave en los signos respiratorios, que incluyen, por ejemplo, disnea, estornudos, tos y secreción ocular, y de leve a moderada en los signos gastrointestinales, como diarrea y vómitos (Garigliany et al., 2020; Hosie et al., 2021; Newman et al., 2020; Sailleau et al., 2020). La necropsia en un gato, aunque infectado con SARS-CoV-2, mostró que la muerte fue causada por una miocardiopatía hipertrófica subyacente, que resultó en un edema pulmonar y trombosis (Segalés et al., 2020). En la necropsia se descubrió que otro gato, que fue sacrificado debido a la gravedad de la disnea, padecía neumonía viral, con antígeno del SARS-CoV-2 detectable mediante tinción inmunofluorescente del tejido pulmonar (Hosie et al., 2021).

En Francia se investigó la propagación del nuevo coronavirus en 21 mascotas (9 gatos y 12 perros). Once casos mostraron síntomas compatibles con COVID-19; aunque tres de estos gatos mostraron signos clínicos de enfermedad respiratoria o gastrointestinal, ningún animal se consideró positivo por RT-PCR o por la presencia de anticuerpos específicos contra el SARS-CoV-2 (Sun et al., 2021). En otro estudio, los investigadores demostraron que los hurones, los gatos y los perros podrían infectarse experimentalmente con el SARS-CoV-2 por vía intranasal (Liu et al., 2020). Varios estudios informaron que el SARS-CoV-2 usa el mismo receptor, ACE2, para ingresar a la mucosa respiratoria (Hoffmann, Kleine-Weber, Schroeder, et al., 2020; Lai et al., 2020; Shi et al., 2020c); esto probablemente indica la posibilidad de transmisión del SARS-CoV-2 de humanos a animales. En un estudio experimental reciente, se observó que los gatos infectados con SARS-CoV-2 podían transmitir el virus a gatos libres de virus que entraran en contacto con ellos. Sin embargo, si pueden transmitir el virus a los seres humanos o si los seres humanos pueden transmitir el virus a las mascotas, u otros animales aún no se comprenden completamente (Halfmann et al., 2020).

2.6 Signos y síntomas de la COVID-19 en humanos y animales

SARS-CoV-2 afecta de distintas maneras en función de cada individuo, la mayoría de las personas que se contagian presentan síntomas de intensidad leve o moderada, y se recuperan sin necesidad de hospitalización. Los síntomas más habituales reportados por la OMS son fiebre, tos, cansancio, pérdida del gusto o del olfato, sin descartar dolor de garganta, cefalea, algesia, enteritis, erupciones cutáneas o pérdida del color de los dedos de manos y pies así como conjuntivitis; los signos severos reportados son disnea, saturación de Oxígeno disminuida, pérdida de la movilidad generalizada, del habla o sensación de confusión, dolor en el pecho, que pueden requerir atención médica de urgencia y si no son controlados, puede llevar al deceso del individuo.

Por otro lado, el Centro para Control y Prevención de Enfermedades (CDC) al igual que la Organización Mundial de la Sanidad Animal (OMSA, por sus siglas en español) reportaron que en animales que contrajeron el virus presentaron lesiones tisulares en tráquea y alveolos que se manifestaban como tos, estornudos, disnea, descarga nasal que llevan a una neumonía intersticial con infiltración celular inflamatoria, perivasculitis, vasculitis linfoplasmocítica grave, aumento de neumocitos tipo II, peribronquitis leve; descarga ocular, vómitos o diarrea, fiebre, inapetencia y letargia, linfonodos traqueobronquiales aumentados de tamaño compatibles con hiperplasia linfoide leve sin descartar a los individuos asintomáticos.

2.7 Métodos de detección de SARS-CoV-2

La identificación y el aislamiento rápidos de las personas infectadas son fundamentales. El diagnóstico se realiza mediante características clínicas, de laboratorio y radiológicas. Como los síntomas y los hallazgos radiológicos de COVID-19 no son específicos, la infección por SARS-CoV-2 debe confirmarse mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) basada en ácidos nucleicos, amplificando una secuencia genética específica en el virus. A los pocos días de la publicación de los primeros casos, se presentó un flujo de trabajo de diagnóstico validado para el SARS-CoV2), que demuestra la enorme capacidad de respuesta lograda a través de la coordinación de laboratorios académicos y públicos en redes de investigación internacionales y europeas (Corman et al., 2020).

Según la OMS, la decisión de realizar la prueba “debe basarse en factores clínicos y epidemiológicos”, con el fin de apoyar el manejo clínico de los pacientes y las medidas de control de infecciones. En pacientes sintomáticos, se debe realizar una prueba de PCR de inmediato, especialmente para los profesionales médicos con síntomas; sin embargo, el valor predictivo de las pruebas varía notablemente con el tiempo desde la exposición y el inicio de los síntomas. La tasa de

falsos negativos es más baja 3 días después del inicio de los síntomas o aproximadamente 8 días después de la exposición.

Los métodos de detección más utilizados hasta el momento han sido:

- Análisis serológico (ELISA indirecto, cero-neutralización viral)
- Extracción de ARN y RT-PCR (qPCR cuantitativa o en tiempo real)

2.7.1 Análisis Serológico

Las pruebas serológicas de COVID-19 se basan en anticuerpos dirigidos que se unen a antígenos específicos del SARS-CoV-2. El suero sanguíneo se recolecta y se aplica a una plataforma de prueba que contiene copias del antígeno viral. La acción capilar extrae la sangre a través del dispositivo donde se mezcla con los antígenos. Si el paciente ha desarrollado anticuerpos en su sangre contra el SARS-CoV-2, los anticuerpos correspondientes reconocerán y se unirán a los antígenos, lo que indica una exposición pasada al SARS-CoV-2. Las plataformas para las pruebas serológicas de COVID-19 en el mercado actualmente incluyen ensayos de flujo lateral, ELISA (ensayos de inmunoabsorción ligados a enzimas) e inmunoensayos quimioluminiscentes. Estos tipos de análisis difieren en cómo detectan la unión anticuerpo-antígeno (ASM, 2020).

La Administración de Drogas y Alimentos de los EUA (FDA) ha publicado características de rendimiento actualizadas para las pruebas serológicas autorizadas para uso de emergencia, y la Sociedad Estadounidense de Microbiología ha desarrollado procedimientos paso a paso para ayudar a los laboratorios a desarrollar protocolos de verificación eficientes y efectivos para los ensayos serológicos EUA. La interpretación precisa de las pruebas serológicas depende de la especificidad del antígeno. Los antígenos pueden ser proteínas, polisacáridos o lípidos, pero si no son específicos de patógenos, aumenta la posibilidad de reactividad cruzada y disminuye la fiabilidad de los resultados de las pruebas. Los siguientes antígenos virales se han utilizado para detectar anticuerpos contra el SARS-CoV-2.

- Proteína de espiga (proteínas S): son proteínas de superficie únicas en forma de hongo que se unen a las células huésped y median la entrada del virus. Cada monómero de la proteína S contiene dos subunidades, S1 y S2, que facilitan la unión y la fusión de la membrana, respectivamente. Las subunidades S1 y S2 pueden usarse individualmente o combinadas como antígenos para pruebas serológicas.
- Nucleocápside (proteína N): es una proteína básica de unión al ARN que desempeña funciones estructurales y no estructurales en la infección, forma la cápside viral del SARS-

CoV-2, y los datos sugieren que desempeña una serie de funciones adicionales en la patogénesis.

- Dominio de unión al receptor (RBD): representa la porción de la proteína S1 que se une a la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2).

La interpretación precisa de las pruebas serológicas depende de la especificidad del antígeno, pero también del tipo de anticuerpo que se detecta. IgM, IgG, IgA y el recuento total de anticuerpos son los objetivos principales de las pruebas serológicas de COVID-19.

- IgM: uno de los primeros anticuerpos producidos durante la infección, puede expresarse en forma monomérica en la superficie de los linfocitos B o encontrarse circulando en la sangre y el líquido linfático en forma pentamérica; consta de 5 anticuerpos unidos para formar una estructura similar a un anillo, que permite la unión simultánea de múltiples antígenos y una rápida eliminación del torrente sanguíneo durante la infección primaria. Aunque la IgM es el anticuerpo más grande por tamaño, su abundancia relativa en la sangre es solo alrededor del 10% del recuento total de anticuerpos en un lapso de 10 días.
- IgG: anticuerpo circulante más pequeño y abundante, existe en forma monomérica, constituye aproximadamente el 80% del recuento total de anticuerpos y se encuentra principalmente en el suero. Suele aparecer más tarde en la infección cuando las células B maduras reciben señales para pasar de la producción de IgM a IgG. Durante la respuesta inmune secundaria, puede tener muchas funciones, incluida la neutralización directa de microorganismos y su focalización en procesos mediados por células inmunes. La IgG es un actor clave en el establecimiento de la inmunidad postinfección.
- IgA: responsable de proteger las superficies mucosas, existe en forma dimérica y se puede encontrar en suero, secreciones mucosas, saliva, lágrimas, sudor y leche materna (ASM, 2020).

Según datos anteriores sobre el SARS-CoV, es probable que las proteínas S y N sean los principales inmunógenos entre las cuatro proteínas estructurales (es decir, proteínas S, E, M, N) (Meyer et al., 2014; Okba et al., 2020), pero los candidatos antigénicos del SARS-CoV-2 deben evaluarse para determinar su especificidad frente a la mayoría de los coronavirus humanos comunes (HCoV-OC43, HCoV-HKU1, HCoV-229E, HCoV-NL63) y zoonóticos (SARS-CoV, MERS-CoV). Okba y col. analizaron la similitud de las proteínas S y N entre estos coronavirus y encontraron que la subunidad S1 en la proteína S del SARS-CoV-2 tiene la menor superposición con otros coronavirus.

Teniendo en cuenta estos resultados, las proteínas S1 y N son probablemente los antígenos más adecuados para las pruebas serológicas de COVID-19.

La serología no debe utilizarse como diagnóstico independiente para identificar casos agudos en la atención clínica o con fines de rastreo de contactos. Las interpretaciones dependen de varios factores, como el momento de la enfermedad, la morbilidad clínica, la epidemiología y la prevalencia dentro del entorno, el tipo de prueba utilizada, el método de validación y la fiabilidad de los resultados.

Se ha observado que la seroconversión es más sólida y rápida en pacientes con enfermedad grave en comparación con aquellos con enfermedad más leve o infecciones asintomáticas. Los anticuerpos se han detectado ya al final de la primera semana de enfermedad, pero también pueden tardar semanas en desarrollarse en pacientes con infección subclínica / leve (Wölfel et al., 2020; J. Zhao et al., 2020)

Un diagnóstico confiable de la infección por COVID-19 basado en la respuesta de anticuerpos de los pacientes a menudo solo será posible en la fase de recuperación, cuando han pasado las oportunidades para la intervención clínica o la interrupción de la transmisión de la enfermedad. Por lo tanto, la serología no es un sustituto adecuado de los ensayos virológicos para informar el rastreo de contactos o el manejo clínico. La duración de la persistencia de los anticuerpos generados en respuesta al SARS-CoV-2 todavía está en estudio. Además, la presencia de anticuerpos que se unen al SARS-CoV-2 no garantiza que sean anticuerpos neutralizantes o que ofrezcan inmunidad protectora (Seow et al., 2020; To et al., 2020).

2.7.2 Ensayo enzimático (ELISA)

Los métodos de inmunoenzima han sido aplicados a la localización de antígenos intracelulares, fueron desarrollados como alternativa a los ensayos radioinmunes para ayudar a la detección y estimación cuantitativa de anticuerpos específicos, cuyo proceso consiste en incubar el suero de prueba en un tubo o placa de poliestireno con pozos revestidos del antígeno, para posteriormente agregar la anti-inmunoglobulina y se procede a realizar lavados; la enzima permanece en el tubo o placa y es introducida a un lector de placas de ELISA, que ocupa el principio de espectrofotometría, que mide la cantidad de luz que transmite o absorbe la muestra para diferentes longitudes de onda, el cual indica la cantidad de anticuerpo que se encuentra en el suero, basándose en la insolubilización de antígenos por adsorción pasiva a un sólido fase, que en este caso son las paredes de los pozos en la placa (Bull., 1976).

La detección de antígenos puede realizarse mediante alguno de los siguientes ensayos:

1. ELISA competitivo. Usando tubos recubiertos con antisuero, una cantidad conocida de antígeno marcado con enzima utilizado como antígeno de referencia, se mezcla con la muestra desconocida y la disminución, producto de la reacción es proporcional al antígeno presente en la solución de prueba (Bull., 1976)
2. ELISA de doble anticuerpo (Sándwich). Después de recubrir la pared del tubo con anticuerpo, se agrega el suero de prueba seguido del conjugado que consiste en el anticuerpo inicial marcado con la enzima. El producto de reacción es proporcional a la cantidad de antígeno en el fluido de prueba (Bull., 1976)
3. ELISA indirecto. En esta técnica, los pozos se recubren con un antígeno. Se hace reaccionar con el anticuerpo muestra y se agrega el anticuerpo estándar (antiglobulinas) marcado con enzima y conduce al producto de color después de la adición de sustrato específico. Después de unos minutos se agrega la solución de parada; finalmente el nivel del anticuerpo restante se mide con un lector de ELISA. La intensidad del color es directamente proporcional a la concentración de anticuerpos presentes en la muestra (Alhajj & Farhana, 2021).

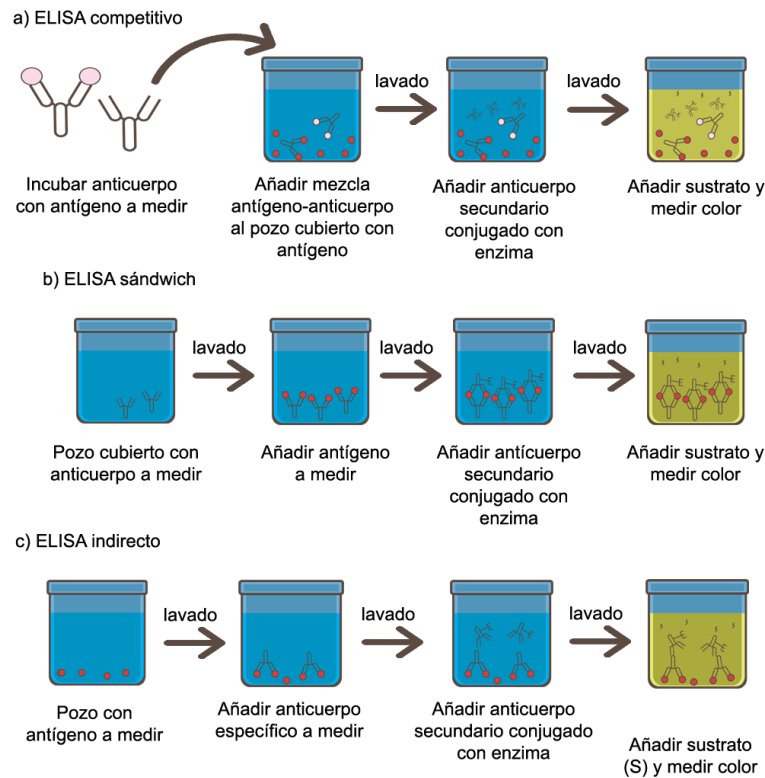


Figura 2. Esquema que muestra las diferencias en los de tipos de ELISA, competitivo, en sándwich e indirecto (adaptado de Alhajj et al. 2021).

Los procesos que se observan en la estandarización de las pruebas de ELISA tienen diversas consideraciones:

- Estandarización del antígeno. Los antígenos usados para ELISA son solubles, pero pueden hacerse insolubles por adsorción a una fase sólida. Se pueden encontrar antígenos satisfactorios solo mediante pruebas de rendimiento contra los sueros de referencia. Las preparaciones de antígeno estables deben usarse en orden para garantizar una reproducibilidad óptima. En general, la estandarización de los siguientes factores debe considerarse:
 - a) especies, cepas y etapa de desarrollo sobre el cual actuará el antígeno.
 - b) especies y cepas de animales usados como hospedador, o las condiciones in vitro empleadas.
 - c) período posterior a la infección antes de la recuperación del agente
 - d) método de aislamiento.
 - e) método para preparar los antígenos solubles.
 - f) control de calidad.
- Adsorción a fase sólida. La mayoría de los antígenos se adhieren a superficies de poliestireno por adsorción física. Por lo tanto, el uso de varios métodos de activación o "espaciadores" específicos han sido estudiados en orden de asegurar un procedimiento vinculante a un antígeno más estandarizado; la atención se centra actualmente sobre el uso de diferentes superficies de poliestireno.

Las capacidades de enlazar nuevos lotes de tubos de poliestireno o las placas se pueden probar en una titulación de tablero de ajedrez usando antígenos estándar, antisueros y conjugados. Además de la naturaleza del material de superficie, la adsorción del antígeno a una fase sólida también depende de tiempo, temperatura y pH.

Los procedimientos de adsorción prolongados (durante la noche) a 4 ° C parecen dar como resultado un recubrimiento más uniforme. Pueden emplearse condiciones originalmente alcalinas, pero, en algunas aplicaciones, el recubrimiento a un pH de 7 resultó satisfactorio. El recubrimiento debe hacerse de inmediato antes de realizar cualquier ensayo, preferentemente evitando analizar tubos recubiertos almacenados o placas que contienen la solución antigénica.

El lavado se realiza:

- Después de recubrir la superficie con antígeno directamente antes del ensayo.
- Después incubación del suero
- Después de la incubación del conjugado.

La solución salina tamponada con fosfato (0,01 mol / litro) PBS, pH 7,2) con 0,5 g / litro de polisorbato-20, se puede usar como fluido de lavado. Agua corriente puede ser sustituida por el

PBS, siempre que tenga pH neutro y bajo contenido de cloro. El lavado debe consistir en insertar los tubos o placas tres veces durante 3-5 minutos cada una. La cantidad de veces de lavado puede ser reducida a 1 minuto si los tubos se lavan con un exceso de lavado de fluido a presión (1-2 atm).

- Dilución de antisuero. Las diluciones en suero se pueden hacer en PBS que contenga 0.5 g / litro de polisorbato-20. En algunos casos, la adición de 5 g / l de albúmina de suero bovino (BSA) disminuye la tinción no específica (es decir, de fondo). Cuando ELISA se realiza mediante pruebas en un suero de solo dilución, la dilución apropiada se encuentra llevando a cabo una prueba preliminar con sueros de referencia positivo y negativos, y la dilución que es encontrada para dar las máximas diferencias en los valores de extinción entre los sueros positivos y negativos conocidos luego es usada (Bull., 1976).

2.7.3 RT-PCR (qPCR cuantitativa o en tiempo real)

La prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para COVID-19 es una prueba molecular que analiza una muestra obtenida de las vías respiratorias superiores, buscando material genético (ácido ribonucleico o ARN) de SARS-CoV-2; se utiliza para amplificar pequeñas cantidades de ARN de muestras y obtener ácido desoxirribonucleico (ADN), que se replica hasta que el SARS-CoV-2 es detectable si se encuentra presente. Ha sido la prueba diagnóstica de oro para detección de COVID-19 desde que se autorizó en febrero de 2020, pues es precisa y confiable (Vogels et al., 2020).

La mayoría de los ensayos de PCR están diseñados para detectar dos o más regiones genéticas diana específicas; en raras ocasiones, puede producirse un resultado no concluyente cuando sólo se detecta una de las dianas (< 1%). Existen algoritmos cuantitativos para evaluar e interpretar los resultados no concluyentes de la PCR, mediante la combinación de datos de laboratorio, clínicos y epidemiológicos (Vogels et al., 2020).

La RT-PCR en tiempo real es un método de laboratorio de origen nuclear muy utilizado para detectar la presencia de material genético específico en patógenos, incluyendo la detección de SARS-CoV-2. Permite ver los resultados casi de inmediato mientras el proceso aún está en curso. Se recolecta una muestra de las partes del cuerpo donde se acumula COVID-19, como la nariz o la garganta; la muestra se trata con varias soluciones químicas que eliminan sustancias como proteínas y grasas y que extraen solo el ARN presente en la muestra. Este ARN extraído es una mezcla del propio material genético del individuo muestreado y, si está presente, el ARN del virus. Este se transcribe de forma inversa a ADN utilizando una enzima específica. Luego, se agregan fragmentos cortos adicionales de ADN que son complementarios a partes específicas del ADN viral transcrito (Jawerth, 2020).

Si el virus está presente en una muestra, estos fragmentos se adhieren a secciones diana del ADN viral. Algunos de los fragmentos genéticos agregados se usan para construir hebras de ADN durante la amplificación, mientras que otros se usan para construir el ADN y agregar etiquetas marcadoras a las hebras, que luego se usan para detectar el virus. La mezcla se coloca en una máquina de RT-PCR, que pasa por temperaturas que calientan y enfrían la mezcla para desencadenar reacciones químicas específicas que crean copias nuevas e idénticas de las secciones objetivo del ADN viral. El ciclo se repite una y otra vez para seguir copiando las secciones diana del ADN viral.

El ciclo se repite una y otra vez para seguir copiando las secciones diana del ADN viral; cada ciclo duplica el número anterior: dos copias se convierten en cuatro, cuatro copias en ocho, y así sucesivamente. Una configuración estándar de RT-PCR en tiempo real generalmente pasa por 35 ciclos, lo que significa que, al final del proceso, se crean alrededor de 35 mil millones de nuevas copias de las secciones de ADN viral a partir de cada hebra del virus presente en la muestra. A medida que se crean nuevas copias de las secciones de ADN viral, las etiquetas de los marcadores se adhieren a las hebras de ADN y luego liberan un tinte fluorescente, que es medido por la computadora de la máquina y presentado en tiempo real en la pantalla; la computadora rastrea la cantidad de fluorescencia en la muestra después de cada ciclo. Cuando se supera un cierto nivel de fluorescencia, se confirma la presencia del virus. Se controlan cuántos ciclos se necesitan para alcanzar este nivel para estimar la gravedad de la infección: cuantos menos ciclos, más grave es la infección viral; sin embargo, no se puede utilizar para detectar infecciones pasadas (Jawerth, 2020).

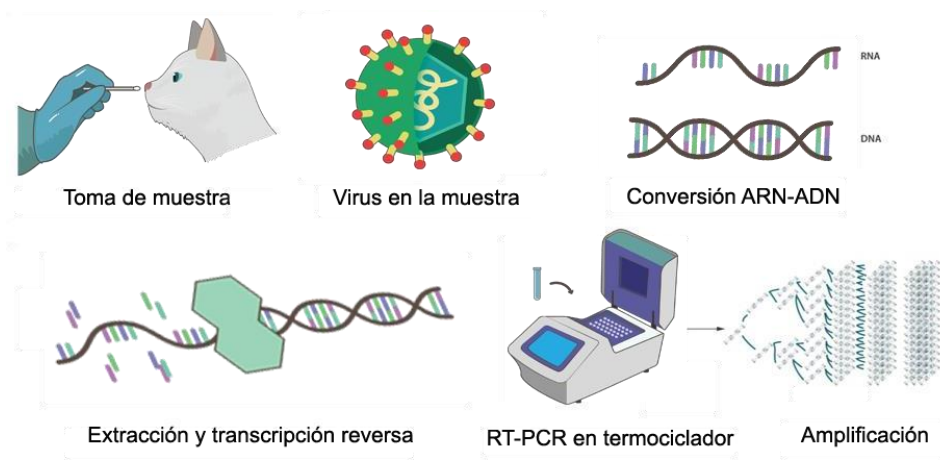


Figura 3. Proceso de RT-PCR para identificar ARN viral. Adaptado de Jawert, 2020.

Para realizar un mejor diagnóstico de COVID-19 en los seres humanos en fases tempranas de la infección o en individuos asintomáticos con factores de riesgo de exposición al virus, se realizó una gráfica para la interpretación de resultados de las pruebas moleculares, serológicas y el desarrollo de los signos de la enfermedad (Figura 3) que ha sido empleado con éxito.

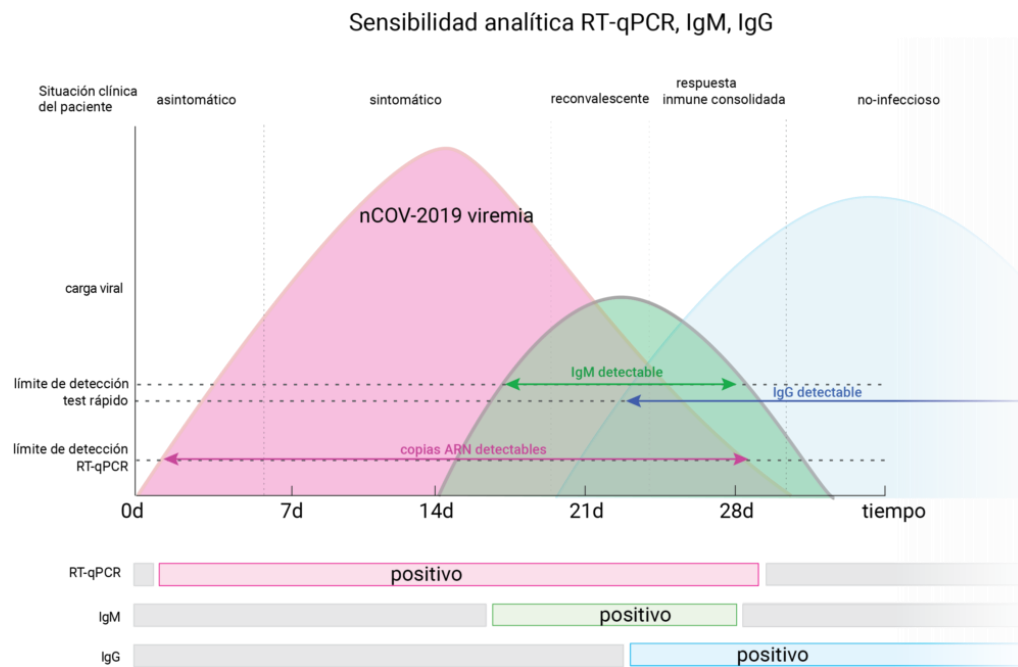


Figura 4. Correlación entre la carga viral durante la infección por SARS-CoV-2, el progreso clínico y el resultado positivo de ensayo RT-pPCR y test serológicos. Adaptado de: Ministerio de Sanidad de España (2020). <https://qgenomics.com/el-test-mas-rapido-para-detectar-covid-19-es-la-rt-pcr/>

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

3. 1 Justificación

El COVID-19, causado por la infección por el SARS-CoV-2, es una enfermedad de origen zoonótico y, a través de la transmisión generalizada de persona a persona, se convirtió en pandemia. Al 30 de marzo de 2023, se han notificado alrededor de 761 millones de casos humanos confirmados en todo el mundo, con más de 6.8 millones de muertes humanas. La naturaleza de este nuevo virus zoonótico, junto con su amplia distribución y la susceptibilidad de algunas especies animales a la infección, se manifiesta en infecciones animales derivadas del contacto cercano entre personas y animales (OIE, 2022).

El SARS-CoV-2 pertenece a la familia *Coronaviridae* de virus de ARN monocatenario de sentido positivo. La familia consta de 46 especies de virus, la mayoría de las cuales han sido aisladas de animales. Se sabe que solo siete virus (NL63, 229E, HKU1, OC43, SARS, MERS y SARS-CoV-2) infectan a los humanos, pero se cree que cada uno tiene un origen zoonótico. Por esta razón, además del alto nivel de similitud de secuencia con un virus aislado de murciélagos *Rhinolophus affinis*, RaTG13, se cree que el SARS-CoV-2 descendió directamente de los murciélagos o evolucionó en un reservorio animal intermedio antes de transmitirse a los humanos (Koeppel et al., 2022).

El virus SARS-CoV-2 infecta a las células del hospedador mediante el acoplamiento de su proteína S con el receptor ECA2, presente en varios tejidos del ser humano (P. Zhou et al., 2020). Este receptor se encuentra en las células de varios animales silvestres y domésticos como el gato y el perro, lo que incrementa la posibilidad de encontrar hospedadores potenciales en diferentes especies animales, que podrían funcionar como reservorios (Luan et al., 2020).

Experimentalmente, se ha demostrado que más de 30 especies, incluyendo animales domésticos como perros, gatos, pollos, cerdos, patos y hurones pueden ser infectados por SARS-CoV-2; además, se identificó que los gatos domésticos pueden transmitir la infección intra-específicamente por medio de gotas respiratorias (Shi et al., 2020a).

Hasta finales de diciembre de 2022, se ha notificado la infección de SARS-CoV-2 en aproximadamente 699 animales tales como: binturong, perro, gato, gato pescador asiático, gorila, grandes felinos tales como león, tigre, leopardo de nieve, visón, coatí sudamericano, venados, por mencionar algunos y se mantiene la prevalencia en granjas de visones, así como en musélicos en general. La Organización Mundial de Sanidad Animal recomienda su reporte inmediato, inclusive de casos negativos (OIE, 2022).

La importancia de generar información sobre posibles hospedadores animales atiende a la Prioridad de Investigación identificada por la OMS en su documento “Ruta de Investigación Mundial Coordinada frente al COVID-19” (World Health Organization, 2020b), el cual tiene como objetivo global, el prevenir la transmisión entre animales y humanos, incluyendo futuros saltos y desarrollar estrategias preventivas en el sentido de “Una Sola Salud”. La prioridad incluye, determinar el rango de posibles hospederos, realizar la filogenia del COVID-19 en animales de granja, mascotas, silvestres y domésticos (World Health Organization, 2020b).

El estado de Puebla se encuentra entre los cuatro estados de la República Mexicana con mayor número de mascotas, el 55.05% de la población cuenta con al menos un perro mascota viviendo dentro de su hogar (INEGI, 2017); en el caso de la tenencia de gatos como mascota, cada día es más frecuente entre los habitantes. La infección en seres humanos por SARS-CoV-2 inició en la Ciudad de Puebla, el 9 de marzo de 2020, desde entonces se han registrado poco más de 144,338 casos positivos y 41,688 decesos, ocupando el 9° lugar a nivel nacional, según la tasa de infección (<https://datos.covid-19.conacyt.mx>), mientras que el municipio de Puebla se reporta como el municipio con más contagios, de acuerdo con el Gobierno del Estado de Puebla al 29 de marzo de 2023. Este trabajo plantea la estandarización de la prueba serodiagnóstica para la detección del antígeno SARS-Cov-2 en suero de perros y gatos por ensayo de ELISA indirecto. Este proyecto atiende a la necesidad de investigación sobre la detección de posibles hospedadores animales, en la ciudad de Puebla, sumando al monitoreo epidemiológico (unidades centinela) para colaborar con la comprensión de la dinámica de transmisión, los factores de riesgo relacionados con la infección en las mascotas, lo que servirá para generar información aplicada a la contención y mitigación de la pandemia (Olival et al., 2017).

3.2 Pregunta de investigación

¿Cuál es la frecuencia de detección de anticuerpos tipo IgG contra SARS-CoV-2 determinada en el suero de animales de compañía (perros y gatos) y la localización de animales positivos en el Municipio de Puebla, Puebla y área Metropolitana que hayan o no estado en contacto con personas positivas a COVID-19 durante la segunda ola de la infección en México? Y de ser así, ¿cuáles son los factores de riesgo demográficos, genéticos y de hábitos de tenencia de mascotas asociados a la presencia de anticuerpos?

3.3 Objetivos

Objetivo general

Determinar la frecuencia de la detección de anticuerpos específicos IgG anti-SARS-CoV -2 en muestras de suero de gatos y perros que habitan en el municipio de Puebla, Pue. y área Metropolitana, así como la ubicación geográfica de individuos positivos y los factores de riesgo asociados a la presencia de anticuerpos en el periodo de noviembre 2020 a marzo de 2021.

Objetivos particulares

1. Colectar sangre completa de perros y gatos que acudan a consulta médica por cualquier circunstancia al Hospital Veterinario de perros y gatos UPAEP y Hospitales veterinarios privados en los municipios del área Metropolitana de la ciudad de Puebla durante el periodo del 15 de noviembre de 2020 al 31 de marzo de 2021.
2. Determinar la seropositividad de anticuerpos IgG a SARS-CoV-2 en suero de gatos y perros con base en el protocolo ELISA indirecto usado en humanos, adaptado al uso en perros y gatos.
3. Evaluar los factores de riesgo de tipo demográficos, genéticos, de hábitos de tenencia de mascotas del tutor y del contacto con una persona positiva, negativa o probable a COVID-19.
4. Construir un mapa de la ciudad de Puebla y área Metropolitana con la distribución por colonia de donde provienen los casos de perros y gatos positivos a anticuerpos ELISA IgG anti SARS-CoV-2 en el periodo evaluado.

4. HIPÓTESIS

El 50% de la población muestreada de perros y gatos durante el estudio presentará anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2, y los factores de riesgo asociados más importantes serán la edad, frecuencias de contacto físico con el tutor y la cercanía con personas positivas a COVID-19.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo pertenece al proyecto “Gatos y perros mascota como unidades centinelas para el estudio epidemiológico de SARS-CoV-2 en humanos” (CONCYTEP, Convenio 110/2020 y 209/2020) y ha sido aprobado por el Comité de Ética en la Investigación del Decanato de Ciencias Médicas de UPAEP (CONBIOETICA21CE100620131021).

5.1 Población y muestra

La población de estudio fueron gatos y perros que habitan en el municipio de Puebla, Puebla y área Metropolitana. El tipo de muestreo fue por conveniencia, y la muestra estuvo compuesta por gatos y perros que fueron llevados de manera intencional por su tutor a una clínica u hospital veterinario para recibir cualquier servicio veterinario (consulta, medicina preventiva o seguimiento a tratamiento).

5.2 Criterios de selección

Criterios de inclusión

Perros y gatos de cualquier raza y sexo, mayores a 1 mes de edad residentes del municipio de Puebla y área metropolitana que hayan o no estado en contacto con personas positivas o sospechosas a SARS-CoV-2 y que presenten o no signología respiratoria o digestiva, cuyos tutores hayan leído y firmado el consentimiento ampliamente informado y completado una encuesta para evaluar los factores de riesgo.

Criterios de exclusión

Perros y gatos en consulta de urgencia, hembras gestantes o lactantes, así como pacientes cuyo tutor no aceptara participar en el estudio o no llenara la encuesta de manera completa.

5.3 Diseño del muestro

El tipo y diseño de este estudio es observacional, descriptivo, prospectivo, transversal, no probabilístico (muestreo por conveniencia).

5.4 Hospitales Veterinarios que participaron en el estudio

Los pacientes participantes del estudio acudieron a los siguientes centros médicos veterinarios: Hospital Veterinario para Pequeñas Especies UPAEP, Centro Clínico para Pequeños Felinos Cattoz, Centro Veterinario La Paz, Centro Veterinario Wego y Hospital Veterinario de Puebla, cuya dirección se muestra en la tabla 4.

Tabla 4. Hospitales veterinarios privados en donde se invitó a los tutores de perros y gatos a participar en el presente estudio.

Hospital o Centro clínico	Dirección
Hospital Veterinario para perros y gatos UPAEP	15 sur 710, Barrio de Santiago. CP 72410, Puebla, Puebla.
Centro Veterinario La Paz	Chignahuapan 5, La Paz. Puebla, Puebla.
Centro Clínico para Pequeños Felinos Cattoz	Chignahuapan 3, La Paz. Puebla, Puebla.
Centro Veterinario Wego	2 Norte 2012, Residencial Linda Vista de Jesús. San Pedro Cholula, Puebla.
Hospital Veterinario de Puebla	Lateral Recta a Cholula 3608, San Andrés Cholula, Puebla.

5.5 Obtención y preparación de la muestra sanguínea

Se obtuvieron de 1 a 5 ml de sangre completa (de acuerdo con la talla y peso del paciente) por venopunción de vena yugular, vena cefálica o vena safena de perros y gatos utilizando jeringas desechables estériles de 5 ml con aguja hipodérmica negra 22G o aguja hipodérmica verde 21G de acuerdo con el tamaño del paciente, previa tricotomía y asepsia del área. En el caso de los individuos felinos que no permitieron la venopunción en estado alerta, se solicitó autorización al tutor para realizar una sedación leve utilizando anestesia inhalada (Isoflurano), en un lapso no mayor a 15 minutos. En gatos cuyos tutores decidieron participar en la campaña Spay Day (campaña de esterilización gratuita realizada en el Hospital Veterinario UPAEP), donde la muestra fue obtenida durante la cirugía.

5.5.1 Manejo de la muestra de suero

La sangre completa se colectó en tubos rojos sin anticoagulante BD Vacutainer, se mantuvo a temperatura ambiente durante 20 minutos en posición vertical con ayuda de una gradilla hasta la formación de un coágulo y posteriormente se colocó dentro de una centrífuga por 10 min a 3000 rpm. El suero (aproximadamente 1 ml) se separó usando una pipeta monocanal; se recolectó en tubos Eppendorf de 2 ml que fueron rotulados en la tapa con el número de caso correspondiente y se congeló a -80° hasta su análisis. El proceso desde la invitación a los tutores de mascotas, hasta la toma y conservación de la muestra, se indica en la figura 4.

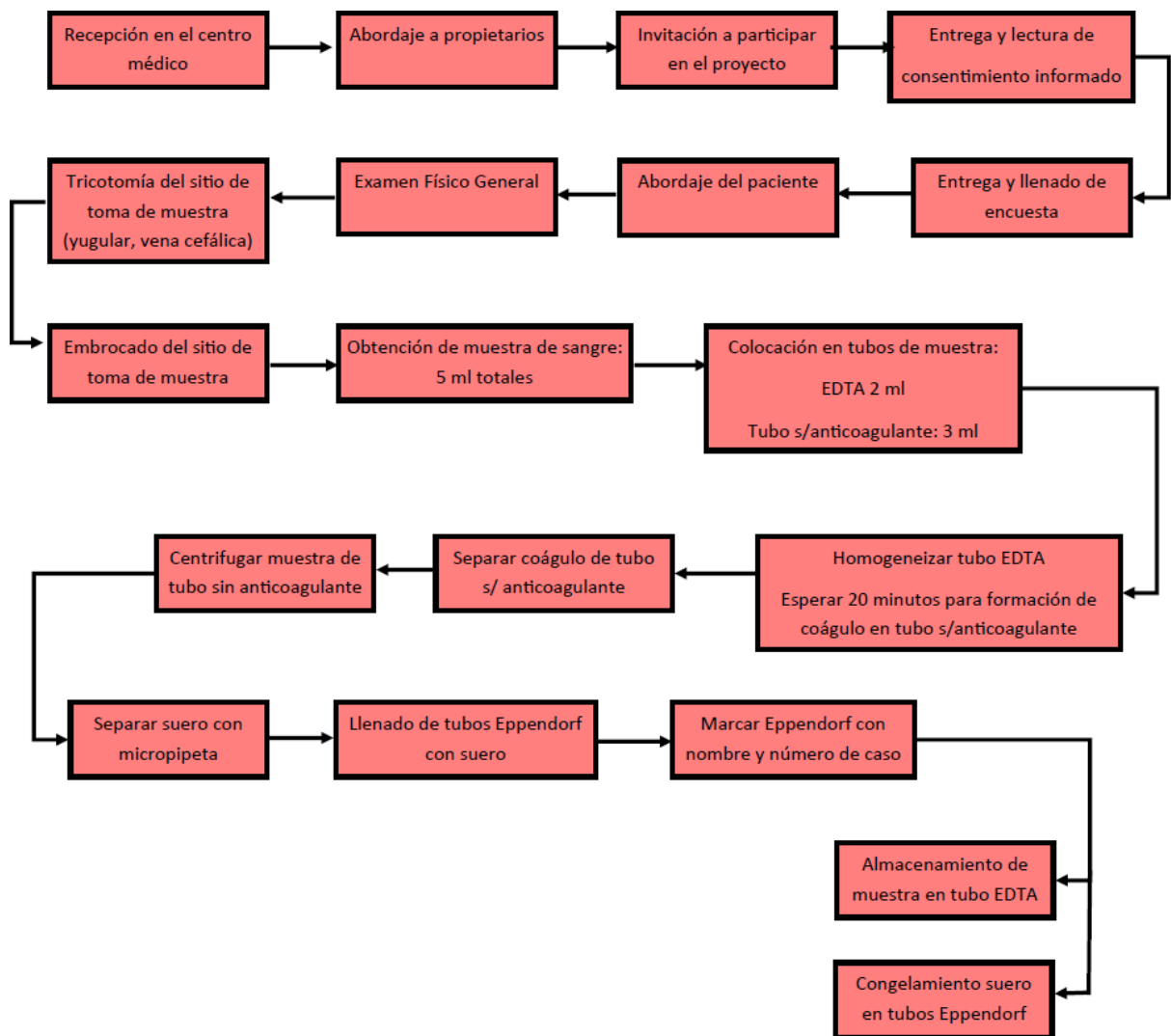


Figura 5. Diagrama de flujo para la realización del muestreo desde la invitación del tutor del paciente hasta la toma de muestras sanguíneas, separación y conservación del suero para el posterior análisis de ELISA.

5.6 Determinación de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2

Se determinó la presencia de anticuerpos IgG en perros y gatos mediante ELISA indirecto, el cual es un ensayo in vitro de tipo semi-cuantitativo. De manera breve, se utilizó el kit comercial Anti-SARS-CoV-2 ELISA (IgG) (EUROIMMUN, Lubeck, Alemania) diseñada para la detección de anticuerpos en seres humanos, el cual consiste en una placa de 96 pozos recubiertos con la proteína S recombinante (34161348, 32485620, aislado Wuhan-Hu-1). En el primer paso, las muestras de suero de los pacientes fueron diluidas y encubadas en los pozos; en caso positivo, los anticuerpos específicos IgG se unieron al SARS-CoV-2. Para detectar los anticuerpos, la muestra se incubó por segunda vez con un anticuerpo secundario IgG anti-perro o anti-gato marcado enzimáticamente, catalizando una reacción colorimétrica.

El proceso fue adaptado para detectar lecturas de IgG de perro y gato (Escobedo-Straffon et al., 2021). Se utilizaron los siguientes controles en perros para la construcción de la curva: control positivo (CP) del Anti-IgG perro, CP Anti- IgG humano (control propuesto para descartar el cruce con anticuerpos de humano para SARS-CoV-2), CP perro confirmado por PCR, control negativo del kit, control negativo perro por PCR, perro vacunado contra coronavirus canino, control negativo perro por PCR y no vacunado contra coronavirus canino y el calibrador.

En el caso de los gatos se utilizaron los siguientes controles para la construcción de la curva estándar: control positivo (CP) del Anti-IgG gato, CP Anti- IgG humano (control propuesto para descartar el cruce con anticuerpos de humano para SARS-CoV-2), CP gato sospechoso positivo, control negativo del kit, control negativo de gato sospechoso negativo y el calibrador.

El resultado de la densidad óptica fue evaluado en el espectrofotómetro con la lectura a 450 nm. Las muestras de suero con absorbancia de <0.99 se consideraron negativas, los sueros con absorbancias >1.0 se consideraron positivas. En humanos, el kit comercial tiene una sensibilidad de 94.4% (a los 10 días post infección) y una especificidad de 99.6% (Beavis et al., 2020).

5.7 Determinación de los factores de riesgo

Para evaluar los factores de riesgo asociados a la infección, se realizó una entrevista a cada uno de los tutores que aceptaron participar con su mascota en el estudio. Los datos se recolectaron en un formato de encuesta, que se muestra en el Anexo 1.

Los factores de riesgo a considerar en la encuesta fueron los siguientes:

- a) Factores genéticos (raza).
- b) Parámetros demográficos (sexo del paciente, edad del paciente, rango de edad del tutor, sexo del tutor, ubicación del domicilio, tipo de casa habitación)
- c) Asistencia al Centro de atención Veterinario (frecuencia, medicina preventiva, inmunización CoV en caso de los perros).
- d) Convivencia del tutor con su mascota (si comparte o no alimentos con la mascota, tipo de dieta de la mascota, si duerme con la mascota).
- e) Ambiente (convivencia con otras mascotas, especie de mascotas, si estuvo en contacto con Paciente sospechoso/positivo a COVID-19).
- f) Hábitos de tutores y mascotas (permanencia en interiores/exteriores, ubicación platos de comida y agua, limpieza de platos, tiempo que pasa el tutor fuera de casa, besos/caricias a la mascota, paseos con tutor/terceros).

5.8 Cuadro de Variables Operacionales

Tabla 5. Cuadro que muestra las Variables operacionales que se consideraron en el presente estudio.

Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Dimensiones	Indicadores en el estudio	Tipo de Variable
Detección de anticuerpos tipo anti IgG contra SARS-CoV-2	Presencia de anticuerpos tipo IgG anti SARS-CoV-2 en suero de perros y gatos que habitan en el municipio de Puebla y área Metropolitana.	Glucoproteínas del tipo gammaglobulinas involucradas en la respuesta inmune específica.	Absorbancia o densidad óptica de las muestras de suero problema obtenidas después de la prueba ELISA de anticuerpo tipo IgG.	Detección de anticuerpos por ELISA, con base en la curva de calibración.	Dependiente, cuantitativa, continua.
Factor de Riesgo	Cualquier rasgo, característica o exposición de un individuo que aumente su probabilidad de sufrir una enfermedad o lesión. (OMS)	Los factores de riesgo pueden dividirse en: -demográficos -Genéticos -Conducta -Fisiológicos -Medioambiental -Hábitos de tenencia del propietario	1. Factores de riesgo de tipo demográfico 2. Factores de riesgo de tipo genéticos 3. Factores de riesgo de tipo conductuales 4. Factores de riesgo de tipo fisiológicos	1. Edad y sexo del paciente, lugar de residencia; todos los individuos que habitan en el municipio de Puebla y área metropolitana. 2. Raza, especie 3. Hábitos indoor/outdoor 4. Presencia de signos respiratorios y/o digestivos	1. Independiente, cuantitativa, discontinua. 2. Independiente, cualitativas, cuantitativa, discontinua. 3. Independiente, cualitativa 4. Independiente, cualitativa

			5. Factores de riesgo de tipo medioambientales	5. Convivencia del tutor con su mascota (caricias, besos, etc.), contacto con paciente sospechoso/positivo a COVID-19	5. Independiente, cualitativa
			6. Factores de Riesgo de tipo tenencia del propietario	6. Vacunación, desparasitaciones vigentes, visitas al MVZ	6. independiente, cualitativa

5.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos sobre variables cualitativas de los tutores, perros y gatos fueron analizados mediante estadística descriptiva. Los resultados de la presencia de anticuerpos IgG se reportaron como variables categóricas y se empleó un análisis de test exacto de Fisher.

Se usaron tablas de contingencia de 2 x 2 para analizar los factores de riesgo y obtener valores de Odds ratio (OR) asociados a la presencia/ausencia de anticuerpos anti-SARS-CoV-2. Se obtuvieron los intervalos de confianza y los OR para cada factor de riesgo. Los análisis estadísticos se realizaron empleando el software R, versión 4.2.

6. LINEAMIENTOS BIOÉTICOS

Este proyecto fue revisado y aprobado por el Comité de Ética en la Investigación del Decanato de Ciencias Médicas de la Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla (CONBIOETICA21CE100620131021, Nov 2020). Todas las muestras de suero fueron recolectadas de gatos y perros cuyos tutores aceptaron participar en el estudio, después de conocer los alcances, del estudio, riesgos para la mascota y beneficios para la sociedad, todos los participantes firmaron el consentimiento informado y se les compartió la carta de resguardo de datos. Se anexa formulario de consentimiento ampliamente informado (Anexo 2).

7. RESULTADOS

7.1 Evaluación de la presencia de anticuerpos anti SARS-CoV-2 en perros

Se evaluaron un total de 48 perros en el periodo del 10 de noviembre de 2020 al 30 de marzo 2021. Entre los pacientes caninos, el 56% fueron machos y el 44% hembras, de las razas: Yorkshire Terrier, Schnauzer standard (3), Chihuahueño (2), Bullterrier inglés (2), Pastor Alemán (7), Lhasa Apso (1), Mestizo (13), Ganadero Australiano (1), Dachshund (1), Gran Danés (1), Scottish Terrier (1), Pomeranian (1), Poodle Standard (2), Pitbull (1), Shar Pei (1), Rottweiler (1), Labrador Retriever (2), Golden Retriever (2) y Husky Siberiano (2). La edad promedio de los pacientes caninos fue 6 años \pm de 3.63. El 33.3% de los pacientes caninos tenían vacunación mayor a 6 meses de su última aplicación, pero sólo 18 pacientes fueron inoculados con vacuna contra coronavirus canino, en cuanto a desparasitaciones, 22 individuos habían sido desparasitados en los últimos 6 meses, por lo que su medicina preventiva se encontraba vigente al momento del muestreo.

El 77% de los pacientes caninos conviven con otras mascotas, principalmente perros (58.3%), perros y gatos (14.58%) y 12 de éstos eran mascotas únicas. El 43.7% de los individuos tienen libre acceso a interiores y exteriores de su domicilio, mientras que el 35% (17 individuos) habitan únicamente dentro de casa y 20.8% únicamente viven en el exterior (patio, jardín, terraza, etc.); el 62% de perros participantes tiene hábitos de dormir con su tutor durante la noche y el 100% de tutores refieren que tienen hábitos de besos y caricias con sus mascotas. El 79% refiere que sale a pasear con sus perros y que ellos son los únicos que realizan esa actividad.

El 54.17% de los tutores mencionan que colocan los platos de comida y agua de sus mascotas principalmente fuera de casa, aunque 2 de ellos menciona que tienen platos de comida y agua dentro y fuera de casa, sin embargo, el 52.08% de los tutores no lavan los comederos 1 vez al día como mínimo. La dieta de los perros muestreados se basa principalmente en alimento comercial (91.67%), sin embargo, los tutores de 3 perros mencionan que la dieta de sus perros está compuesta por alimento comercial y comida casera, así como sólo 1 individuo tiene dieta casera exclusivamente.

Las encuestas arrojan que los perros tienen tutores mujeres en un 70.8% de los casos y 29.17% lo conforman hombres, principalmente en un rango de edad de más de 25 años (75%); habitando en un 85% casas habitación y sólo 7 pacientes habitan un departamento, también se reportó que 29 de los 48 tutores (60%) que participaron en el estudio pasaban más de 4 horas al día fuera de casa, utilizando vehículos de su propiedad para trasladarse a sus centros de trabajo.

La frecuencia de pacientes caninos que resultaron positivos a IgG anti-SARS-CoV-2 fue del 20.83% (10 pacientes de 48 perros muestreados), de los cuales el 12% fueron machos (6) y 8% hembras (4) de las razas Chihuahueño (1), Labrador Retriever (2), Mestizo (4) y Pastor Alemán (3). La edad promedio de los pacientes seropositivos (n=10) fue de 3.5 años, de los cuales sólo el 30% mostró signos respiratorios. En cuanto a las visitas al MVZ de rutina sólo el 40% de pacientes positivos acudía en un lapso no mayor a 6 meses, el 60% de pacientes presentaba desparasitación vigente, mientras que el 50% de individuos positivos se presentaron a administración de vacuna en los últimos 6 meses, a su vez, sólo el 40% confirmó que se había aplicado la vacuna contra Coronavirus Canino.

Con relación al entorno de los pacientes positivos, se reportó que el 100% vive en casa habitación, de los cuales el 90% convive con otros animales en casa, mayormente con perros (70%), con perros y gatos (20%) y sólo 1 individuo es mascota única en su domicilio. El 70% de pacientes positivos pasa la mayor parte de su tiempo en interiores y exteriores, sin preferencia por alguno, mientras que sólo 2 individuos habitan completamente en interiores y 1 únicamente en exteriores; sin embargo, de los 10 pacientes positivos, el 70% refiere que por las noches duerme en la habitación con el tutor y éstos tienen hábitos de besos y caricias para con su mascota sin excepciones.

La dieta de los pacientes positivos está basada en alimento comercial (croqueta) en su totalidad, sin descartar que en ocasiones el 70% de éstos reciben alimentos caseros (probaditas) por parte de sus tutores. Los hábitos de limpieza diarios de comederos y bebederos en los pacientes positivos los realiza únicamente el 40% de los tutores, tomando en cuenta que el 60% de estos colocan los platos de su mascota en exteriores y sólo 1 reporta tener comederos y bebederos dentro y fuera de casa. En cuanto a las actividades al aire libre, el 80% de los pacientes positivos refieren salir a la calle a pasear, exclusivamente con sus dueños.

En cuanto a los tutores de los pacientes positivos, se reporta que el 80% son mujeres y 20% hombres, cuyos rangos de edad son mayores a 25 años en un 70%; el 60% de tutores pasan menos de 4 horas fuera de casa al día al momento de la realización de la encuesta, presuntamente en sus sitios de trabajo o comprando víveres mientras que el 40% de tutores pasan más de 4 horas al día fuera de sus domicilios; el 100% reportó transportarse por vehículos de uso particular (no taxi o transporte público).

Finalmente, el 60% de los pacientes positivos (6) estuvieron en contacto con una persona sospechosa o positiva a COVID-19, que es el 12.5% del total de pacientes muestreados, mientras que

el 40% de pacientes positivos (4) que no estuvieron en contacto con una persona sospechosa o positiva a COVID-19 fue de 8.33%

Tabla 6. Pacientes caninos evaluados para la detección de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 en la Ciudad de Puebla y área Metropolitana. Se muestran las características de los pacientes (edad, sexo y raza), densidad óptica de la prueba ELISA y la interpretación del resultado.

Identificación	Raza	Grupo de edad	Sexo	Densidad óptica (nm)	Interpretación del resultado ELISA IgG
P-01	Schnauzer	<1 año	Hembra	0.593	Negativo
P-02	Chihuahueño	4-6 años	Macho	1.634	Positivo
P-03	Husky Siberiano	<1 año	Macho	0.616	Negativo
P-04	Dachshund	7-10 años	Hembra	0.8305	Negativo
P-05	Yorkshire Terrier	10+ años	Macho	0.563	Negativo
P-06	Yorkshire Terrier	1-3 años	Hembra	0.501	Negativo
P-07	Golden Retriever	1-3 años	Macho	0.4105	Negativo
P-08	Labrador Retriever	7-10 años	Hembra	1.794	Positivo
P-11	Mestizo	7-10 años	Macho	0.465	Negativo
P-12	Pastor Alemán	<1 año	Macho	0.485	Negativo
P-13	Pastor Alemán	4-6 años	Hembra	0.378	Negativo
P-14	Husky Siberiano	4-6 años	Hembra	0.4135	Negativo
P-15	Rottweiler	10+ años	Macho	0.4315	Negativo
P-16	Bullterrier Inglés	4-6 años	Hembra	0.4695	Negativo
P-17	Bullterrier Inglés	1-3 años	Macho	0.3485	Negativo
P-18	Pastor Alemán	4-6 años	Hembra	0.91	Negativo
P-19	Pastor Alemán	4-6 años	Macho	0.54	Negativo
P-21	Schnauzer	7-10 años	Macho	0.588	Negativo
P-22	Shar-Pei	<1 año	Hembra	0.6785	Negativo
P-23	Pitbull Terrier	7-10 años	Hembra	0.656	Negativo

P-27	Poodle	7-10 años	Hembra	0.5125	Negativo
P-29	Chihuahueño	7-10 años	Macho	0.637	Negativo
p-24	Mestizo	1-3 años	Macho	2.539	Positivo
p-24.2	Pastor Alemán	7-10 años	Hembra	1.492	Positivo
p-28	Pastor Alemán	1-3 años	Hembra	1.558	Positivo
P-30	Schnauzer	1-3 años	Macho	0.658	Negativo
P-34	Poodle	7-10 años	Macho	0.686	Negativo
P-36	Mestizo	10+años	Macho	0.535	Negativo
P-37	Ganadero Australiano	<1 año	Macho	0.585	Negativo
P-39	Mestizo	1-3 años	Macho	0.611	Negativo
P-40	Jack Russell Terrier	7-10 años	Macho	0.665	Negativo
P-41	Mestizo	10+ años	Hembra	0.493	Negativo
P-42	Mestizo	4-6 años	Macho	1.288	Positivo
P-43	Mestizo	1-3 años	Hembra	0.764	Negativo
P-44	Mestizo	1-3 años	Macho	0.832	Negativo
P-47	Pastor Alemán	1-3 años	Macho	1.0	Positivo
P-48	Mestizo	4-6 años	Hembra	0.929	Negativo
P-49	Mestizo	10+ años	Macho	0.811	Negativo
HVP-01	Golden Retriever	7-10 años	Hembra	0.725	Negativo
S/N	Lhasa Apso	10+ años	Macho	0.902	Negativo
S/N	Mestizo	<1 año	Hembra	1.217	Positivo
S/N	Mestizo	7-10 años	Hembra	0.777	Negativo
S/N	Scottish Terrier	7-10 años	Macho	0.682	Negativo
S/N	Yorkshire Terrier	4-6 años	Hembra	0.686	Negativo
S/N	Pomerania	4-6 años	Macho	0.800	Negativo
S/N	Gran Danés	7-10 años	Hembra	0.672	Negativo

S/N	Mestizo	7-10 años	Macho	1.200	Positivo
S/N	Labrador Retriever	7-10 años	Macho	2.812	Positivo

7.2 Evaluación de la presencia de anticuerpos anti SARS-CoV-2 en gatos

Se evaluaron un total de 30 gatos en el periodo del 10 de noviembre de 2020 al 30 de marzo 2021. Entre los pacientes felinos, el 50% (15) fueron machos y el 50% (15) hembras, de las razas Persa (1) y Doméstico de pelo corto (DPC, 29). La edad promedio de los pacientes felinos fue 3.6 años \pm 2.56; el 60% de los pacientes felinos tenían vacunación mayor a 6 meses de su última aplicación, pero sólo un paciente fue inoculado con vacuna contra coronavirus felino; en cuanto a desparasitaciones, 20 individuos habían sido desparasitados en los últimos 6 meses, por lo que su medicina preventiva se encontraba vigente al momento o del muestreo, las características de los pacientes gatos evaluados se muestran en la tabla 7.

El 86.67% de los pacientes felinos conviven con otras mascotas, principalmente perros y gatos (53.3%), otros gatos (23.3%), perros (10%) y 4 de éstos eran mascotas únicas. El 33.3% de los individuos tienen libre acceso a interiores y exteriores de su domicilio, mientras que el 53.3% (16 individuos) habitan únicamente dentro de casa y 13.3% únicamente viven en el exterior (con o sin hábitos de vagabundeo); el 86.67% de gatos participantes tiene hábitos de dormir con su tutor durante la noche y el 100% de tutores refieren que tienen hábitos de besos y caricias con sus mascotas. El 76.6% refiere que no permite que sus gatos tengan hábitos de vagabundeo y sólo 7 permitían a su gato salir durante el día.

La dieta de los gatos muestreados se basa principalmente en alimento comercial (90%), sin embargo, los tutores de 3 gatos mencionan que su dieta está compuesta por alimento comercial y comida casera y, que, en ocasiones, 18 tutores suelen darles probaditas de comida. El 83.23% de los tutores mencionan que colocan los platos de comida y agua de sus mascotas principalmente dentro de casa, aunque 5 de ellos menciona que tienen platos de comida y agua dentro y fuera de casa, sin embargo, el 63.33% de los tutores no lavan los comederos 1 vez al día como mínimo, sólo 11 personas lo hacen.

Las encuestas arrojan que los gatos tienen tutores mujeres en un 80% de los casos y 20% lo conforman hombres, principalmente en un rango de edad de más de 25 años (60%); habitando en un 70% casas habitación, sólo 9 pacientes habitan un departamento. El 56.6% de los tutores refirieron que suelen pasar más de 4 horas al día fuera de casa, utilizando principalmente transporte público y el 46.6% posee un vehículo de su propiedad para trasladarse a sus centros de trabajo.

La frecuencia de pacientes felinos que resultaron positivos a IgG anti-SARS-CoV-2 fue del 40% (12 pacientes), de los cuales el 27% fueron machos (8) y 13% hembras (4), todos de raza Doméstico de pelo corto. La edad promedio de los pacientes positivos es mayor a 4 años; siendo el 58.33% de los pacientes positivos mayores a 6 años, los cuales sólo el 8.33% mostró signos respiratorios.

En cuanto a las visitas al MVZ de rutina sólo el 41.67% de pacientes positivos acudía en un lapso no mayor a 6 meses, por lo que el 75% de pacientes presentaba desparasitación vigente, mientras que el 66.67% de individuos positivos se presentaron a administración de vacuna en los últimos 6 meses, a su vez, sólo el 8.3% confirmó que se había aplicado la vacuna contra Coronavirus Felino.

Con relación al entorno de los pacientes, se reportó que el 58.33% de pacientes positivos vive en casa habitación y el 41.67% habitan en un departamento, de los cuales el 91.67% convive con otros animales en casa, principalmente con gatos (41.67%) con perros y gatos (50%) y sólo 1 individuo es mascota única en su domicilio. El 66.67% de pacientes positivos pasa la mayor parte de su tiempo en interiores, 2 gatos tenían hábitos de vagabundeo (16.6%), y 2 gatos tienen acceso libre a interiores y exteriores (16.6%); de los 12 pacientes positivos, el 75% duerme en la habitación con el tutor y éstos tienen hábitos de besos y caricias para con su mascota sin excepciones (100%).

La dieta de los pacientes positivos está basada en alimento comercial (croqueta) en su totalidad, sin descartar que en ocasiones el 25% de éstos reciben alimentos caseros (probaditas) por parte de sus tutores. Los hábitos de limpieza diarios de comederos y bebederos en los pacientes positivos los realiza el 50% de los tutores, considerando que el 100% de individuos cuentan con comedero y bebedero dentro de casa.

En cuanto a los tutores de los pacientes positivos, se reporta que el 83.33% son mujeres y 16.67% hombres, cuyos rangos de edad se encuentran en la misma proporción (50% >25 años, 50% <25 años); el 41.67% de tutores pasan menos de 4 horas fuera de casa al día al momento de la realización de la encuesta, presuntamente en sus sitios de trabajo o comprando víveres mientras que el 58.33% de tutores pasan más de 4 horas al día fuera de sus domicilios; el 50% reportó transportarse por vehículos de uso particular (no taxi o transporte público) y el resto de propietarios confirmaron usar diariamente el transporte público para desplazarse.

Finalmente, el 66.67% de los pacientes positivos (8) estuvieron en contacto con una persona sospechosa o positiva a COVID-19, que es el 26.67% del total de pacientes muestreados, mientras que el 33.3% de pacientes positivos (4) que no estuvieron en contacto con una persona sospechosa o positiva a COVID-19 fue de 13.3% del total de individuos felinos participantes en el estudio.

Tabla 7. Pacientes gatos evaluados para la detección de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 en la Ciudad de Puebla y área Metropolitana. Se muestran las características de los pacientes (edad, sexo y raza), densidad óptica de la prueba ELISA y la interpretación del resultado.

Identificación	Raza	Grupo de edad	Sexo	Densidad óptica (nm)	Interpretación de resultado ELISA IgG
G-02	DPC	No reportado	Macho	1.443	Positivo
G-03	DPC	7-10 años	Macho	1.758	Positivo
G-04	Persa	1-3 años	Hembra	0.272	Negativo
G-05	DPC	10+ años	Macho	1.386	Positivo
G-06	DPC	4-6 años	Macho	1.131	Positivo
G-08	DPC	7-10 años	Macho	1.583	Positivo
G-10	DPC	5 meses	Hembra	1.063	Positivo
G-11	DPC	1-3 años	Macho	2.638	Positivo
G-12	DPC	1 año	Macho	0.571	Negativo
G-13	DPC	1-3 años	Hembra	0.576	Negativo
G-14	DPC	1 año	Hembra	0.519	Negativo
G-15	DPC	<1 año	Macho	0.973	Negativo
G-17	DPC	<1 año	Hembra	0.793	Negativo
G-18	DPC	<1 año	Hembra	0.923	Negativo
G-19	DPC	<1 año	Hembra	1.386	Positivo
G-20	DPC	1 año	Macho	0.942	Negativo
G-21	DPC	<1 año	Macho	0.633	Negativo
G-22	DPC	1 año	Macho	1.758	Positivo
G-25	DPC	<1 año	Macho	0.441	Negativo
G-27	DPC	1 año	Macho	0.647	Negativo
G-29	DPC	1 año	Macho	0.640	Negativo
G-32	DPC	4-6 años	Hembra	1.583	Positivo
G-33	DPC	1-3 años	Macho	1.322	Positivo
G-34	DPC	4-6 años	Hembra	0.640	Negativo
G-35	DPC	<1 año	Hembra	0.714	Negativo
G-38	DPC	1-3 años	Hembra	1.163	Positivo
G-40	DPC	1-3 años	Hembra	0.325	Negativo

G-41	DPC	<1 año	Hembra	0.502	Negativo
G-42	DPC	1-3 años	Hembra	0.815	Negativo
G-52	DPC	4-6 años	Hembra	0.528	Negativo

En la figura 5 se muestra una comparación de los individuos perros y gatos que se evaluaron para conocer la frecuencia de infección de perros y gatos en el municipio de Puebla y área Metropolitana.

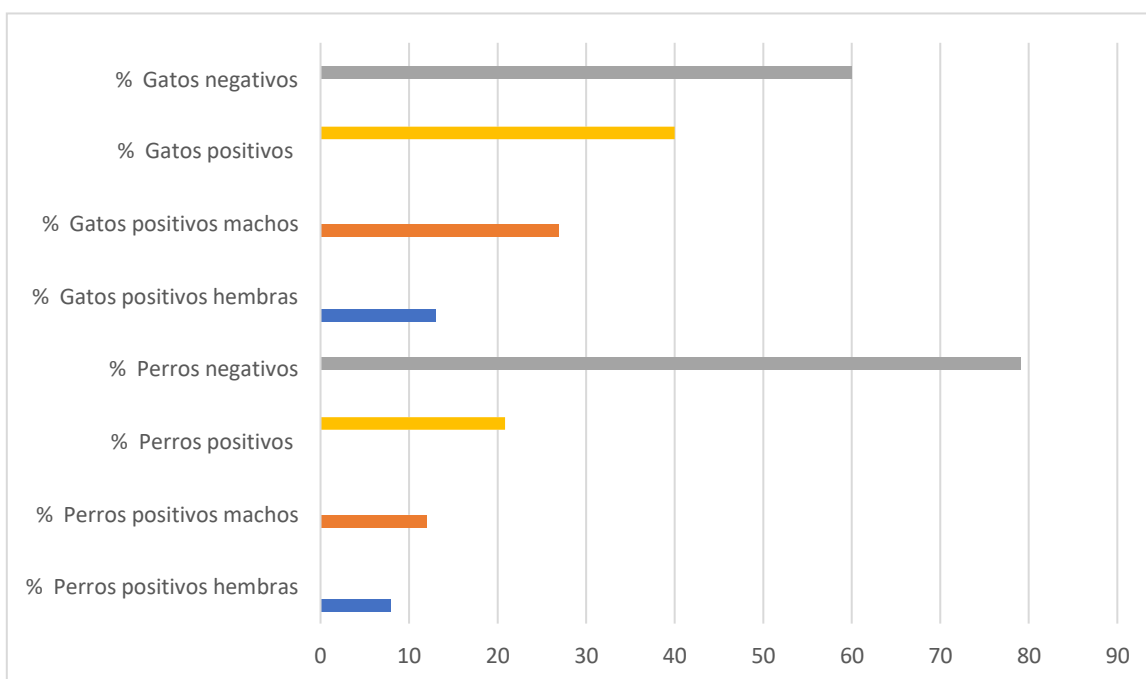


Figura 6. Comparación de la seropositividad de los individuos perros y gatos que se evaluaron para conocer la frecuencia de infección de perros y gatos en el municipio de Puebla y área Metropolitana.

7.3 Factores de riesgo asociados a la infección por SARS-CoV-2

El análisis de Odds ratio (OR) mostró los factores de riesgo asociados a la presencia/ausencia de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 en ambas especies evaluadas (perros y gatos). Los resultados mostraron que el único factor de los hábitos de tenencia del tutor que incrementa significativamente la probabilidad de tener la infección en perros y gatos es “compartir alimento con la mascota” (OR=2.61; 95% CI 0.96-7.21; p=0.038). Otros factores disminuyeron significativamente la probabilidad de tener la infección en perros y gatos como: el plato de comida de la mascota fuera de

casa (patio) (OR=0.26; 95% CI 0.06-0.82; p=0.018); más de 4 horas que el tutor pasa fuera de casa (OR=0.39; 95% CI 0.14-1.05; p= 0.046); la edad del tutor >25 años (OR=0.35; 95% CI 0.12-0.99; p=0.046).

En la tabla 8 se pueden observar los valores obtenidos para factores que pueden contribuir a aumentar la probabilidad de presentar la infección en perros y gatos, como: sexo (machos son más propensos), la frecuencia de atención médica veterinaria y desparasitación (a mayor frecuencia, mayor riesgo). Los intervalos de confianza y los OR para cada factor de riesgo evaluados se muestran en la tabla 8.

Tabla 8. Resultados del análisis estadístico de los factores de riesgo asociados a la infección por SARS-CoV-2 en perros y gatos mediante la prueba de Odds Ratio.

Variables	Odds_Ratio	Intervalo de confianza inferior	Intervalo de confianza superior	Valor P
Especie animal (perro/gato)	0.4550388	0.1685487	1.1989114	0.1156
Tutor sospechoso o positivo a COVID-19	0.6511833	0.2314531	1.7492034	0.3748
Sexo (machos)	1.798849	0.6866199	4.8140319	0.265
Edad	1.216418	0.4657031	3.2070467	0.8243
Frecuencia de visitas al veterinario	1.473586	0.5604592	3.8958987	0.5014
Signos Respiratorios	1.677271	0.4295983	6.2283863	0.3729
Desparasitación	1.525244	0.5380574	4.2483022	0.4691
Vacunación	0.5933647	0.2221073	1.5527401	0.2711
Otras mascotas en casa	1.452598	0.4296393	5.7562598	0.5921
Especies de mascotas en casa	0.6042426	0.2149007	1.7240265	0.3323
Lugar donde el animal pasa más tiempo en casa	0.8349679	0.206915	2.909645	1
Comparte la cama en el dormitorio	0.9550409	0.3366465	2.8398288	1
La mascota sale a pasear	0.6104198	0.2171943	1.6368372	0.3673
Alimentación	0.9670511	0.04846572	58.9534768	1

Tutor comparte alimentos con la mascota	2.61709	0.9665987	7.2146069	0.03872
Ubicación del plato de comida (fuera)	0.2628681	0.06934455	0.8248037	0.01853
Limpieza diaria del plato de comida	0.9293372	0.3492624	2.4368678	1
Género del tutor	0.7471588	0.2559692	2.2641954	0.6158
Edad del tutor (más de 25 años)	0.3513678	0.1216045	0.9985362	0.04652
Tipo de casa por construcción	0.8019009	0.1673424	3.1269516	1
Tiempo que pasa el tutor fuera de casa (> 4 horas/día)	0.3973397	0.1452738	1.0507612	0.04615
Uso de transporte público por parte del tutor	0.9702421	0.3278243	2.7330889	1

7.4 Mapa de distribución de los pacientes perros y gatos ELISA IgG anti SARS-CoV-2 positivos en la ciudad de Puebla y el área Metropolitana

De acuerdo con los datos recopilados durante la entrevista de tutores de los pacientes participantes, se realizó un mapa de distribución de acuerdo con la colonia donde habitaban las mascotas en el momento de realizarse el muestreo. El punto azul es la ubicación del paciente negativo control (negativo a PCR, anticuerpos anti-SARS-Cov-2) y los puntos rojos son los pacientes que tuvieron presencia de anticuerpos anti SARS-CoV-2, lo cual nos muestra que, en la zona norte del municipio de Puebla, Puebla los pacientes muestreados (perros y gatos) estuvieron en un mayor riesgo de infección.

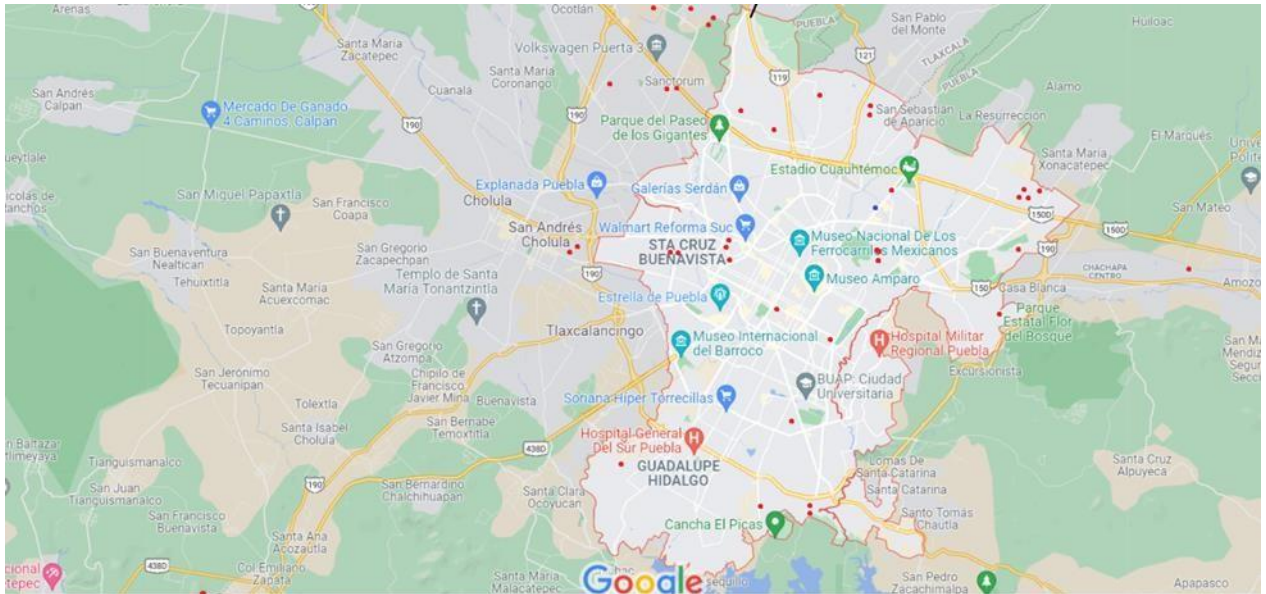


Figura 7. Mapa de distribución de pacientes perros y gatos ELISA IgG anti-SARS-CoV-2 positivos (puntos rojos) por colonia en el municipio de Puebla, Pue. y Área Metropolitana.

8. DISCUSIÓN

Este estudio seroepidemiológico es el primero realizado para detectar anticuerpos anti SARS-CoV-2 en perros y gatos en México, y en la ciudad de Puebla y el área Metropolitana, además representa el segundo en evaluar la susceptibilidad de mascotas a SARS-CoV-2 en nuestro país (Sánchez-Montes et al., 2021). El estudio aporta información relacionada a la susceptibilidad de las mascotas por infectarse con el virus de la COVID-19 y su relación con los hábitos de tenencia de animales, que se suma a otros estudios que abarcan la primera y segunda ola de esta enfermedad (2020-2021) sobre infecciones dadas en perros y gatos en todo el mundo.

La especie animal más afectada en este estudio fue la felina, ya que se identificó una alta frecuencia de seroconversión contra el SARS-CoV-2 de 40% IgG positivo, lo que concuerda con el estudio realizado en Francia, en donde dependiendo la zona geográfica en la que se encontraban los gatos, la seroconversión fue del 23.5 al 58.8% (Fritz et al., 2020). Otros estudios que reportaron una alta frecuencia anticuerpos de este virus en gatos, fueron los realizados en Brazil durante la primera ola (20%, Amaral Calvet et al., 2021), China 14.7% (Zhang et al., 2020) y Holanda con el 17.7% de gatos positivos (Aart et al., 2021). Diferentes estudios experimentales reportaron que los gatos son capaces de transmitir el virus SARS-CoV-2 a otros gatos por contacto directo; pueden ser asintomáticos o tener signos respiratorios durante el curso de la infección (Bosco-Lauth et al., 2020). Los altos títulos de anticuerpos que encontramos, al igual que en otras investigaciones, pueden proteger a los gatos de futuras infecciones (Bosco-Lauth et al., 2020; Gaudreault et al., 2021; Halfmann et al., 2020).

Se identificó una alta frecuencia de seroconversión contra el SARS-CoV-2 en perros (20.83% IgG positivo), lo que es más alto que el informado en estudios similares para perros realizados en Europa, América y Asia durante la primera y segunda ola de la pandemia de COVID-19. Como ejemplo los estudios que analizaron la frecuencia de detección de anticuerpos contra SARS-CoV-2 en perros mascota a través de ELISA en Croacia en el que se detectó el 7.56% (Stevanovic, Vilibic-Cavlek, et al., 2021), en China el 1.75% (Zhao et al., 2021), Tailandia 1.66% (Udom et al., 2021), Alemania 0.67% (Michelitsch, et al., 2020), lo cual puede deberse a las diferencias en el diseño del estudio, como por ejemplo el momento de la toma de la muestra durante la ola de COVID-19, el uso de kit ELISA comerciales o fabricados en cada laboratorio. Además, esto sugiere que es poco probable que los perros sean un reservorio importante de infección humana (Smith et al., 2021). La concientización de las personas de esos países con menor frecuencia de anticuerpos sobre la susceptibilidad de los animales al SARS-CoV-2, podría haber colaborado con la protección de las

mascotas contra la infección a través de buenas acciones de bioseguridad en el hogar, especialmente en los hogares infectados.

Realizando una comparativa de este estudio con los realizados por Fritz et al., 2020, Calvet et al., 2021 y Barua et al., 2021 podemos encontrar ciertas similitudes y diferencias en cuanto a los procesos y la estructuración en el diseño del estudio, ya que en todos los ya mencionados se realizaron análisis de suero de perros y gatos mediante ELISA durante los primeros 2 a 3 meses después de confirmarse que el tutor era positivo a COVID-19 o era sospechoso y presentaba síntomas de la enfermedad, con excepción del estudio realizado por Barua y colaboradores (2021), pues su muestreo fue completamente aleatorio y sin establecer criterios de selección de los individuos de estudio, tal como fue el caso del realizado por Calvet y este estudio, en los que se estableció un rango de edad de los pacientes perros y gatos que podían participar en el estudio (> 1 mes de edad).

Calvet et al. y Fritz et al. (2021), realizaron el estudio con una pequeña muestra dentro de una misma ciudad, al igual que el presente trabajo, por lo que estas cifras pueden limitar las conclusiones definitivas, pues se considera que es un sector pequeño el que participó y que, por tanto, no es totalmente concluyente; sin embargo, en otro estudio realizado en la segunda ola por la COVID-19 en Francia (Barua et al., 2022), se analizó un amplio grupo que abarcó a individuos (perros y gatos) que habitan en 48 estados diferentes en donde se determinó que la frecuencia de infección por SARS-CoV-2 fue de 2.5% en perros y 3.3% en gatos. Estos resultados no son comparables al presente estudio, ya que existen diferencias en las condiciones en las que habitan los participantes, tales como las costumbres de los tutores, el medio ambiente, los hábitos de tenencia de mascotas, alimentación, por mencionar algunos. En el presente estudio, al igual que el realizado por Barua (2022), Fritz et al., (2020) y Calvet et al., (2021), se realizaron revisiones médicas a los participantes, mediante un Examen Físico General, para evaluar la condición general de salud de estos y poder identificar a los individuos que pudiesen presentar signos respiratorios, digestivos o ambos, para así poder correlacionarlos con los resultados del ELISA que se realizó posteriormente.

En el estudio realizado por Fritz et al., (2020), se evaluaron un total de 67 perros, de los cuáles solo el 23% mostraron signos respiratorios, en el caso de los gatos, se observaron datos respiratorios en 39% de los pacientes (n=54 gatos). En el presente estudio el 12% de los perros y 32% de los gatos, mostraron signos respiratorios, probablemente relacionado con la severidad de la segunda ola de COVID-19 en México, que fue la de mayor contagio en nuestro país (CITA).

Calvet et al., reportó que 6 participantes muestreados presentaron signos respiratorios, digestivos o ambos (no menciona la especie ni el sexo), a diferencia de la presente, donde en el caso

de los perros, sólo 2 pacientes positivos presentaron signos respiratorios, en el caso de los gatos únicamente 1 gato presentó signos respiratorios y el resto de los individuos se encontraron asintomáticos o clínicamente sanos al momento de realizar el Examen Físico General previo a la toma de muestra. Cabe mencionar que Calvet et al., fueron los únicos que le dieron seguimiento a los participantes durante un lapso de 6 meses, en los cuales, de los 39 participantes, 2 no pudieron continuar con el seguimiento. Cabe mencionar que solamente Calvet et al., fueron los únicos en aplicar una encuesta sobre la tenencia de mascotas y los hábitos de higiene y convivencia de los tutores para con ellos, similar a la realizada en este trabajo; sin embargo, Fritz et al pudo obtener datos significativos de algunos tutores durante la anamnesis realizada previamente al Examen Físico General. Los 3 trabajos coinciden en que los hábitos de higiene y tenencia así como las conductas del tutor para con sus mascotas son parte fundamental de la transmisión de la enfermedad de humanos hacia animales, pues significaría que estos pacientes presentaron anticuerpos IgG contra SARS-CoV-2 contraídos por contacto directo con personas positivas o sospechosas a COVID-19 en su mayoría debido a que suelen dar abrazos, besos y caricias constantemente a sus mascotas, sin descartar que los tutores refirieron que convivían directamente con sus mascotas durante el periodo de cuarentena post infección, permitiéndoles principalmente permanecer en cama con ellos, lo cual podría sugerir que algunos pacientes positivos pudieron o no contraer el virus estando en contacto con superficies consideras como fómites, pero también significaría que los pacientes presentaron anticuerpos IgG contra SARS-CoV-2 contraídos por contacto directo con personas positivas o sospechosas a COVID-19 en su mayoría.

En los estudios consultados, así como en el presente trabajo se logró determinar mediante ELISA indirecto la densidad óptica de todos los pacientes muestreados, la densidad óptica para considerar una muestra positiva en cada uno fue variable (Fritz y Calvet no lo mencionan) y dependía del kit utilizado para la realización del análisis en este trabajo, los valores se consideraron positivos si sobrepasaban los 1.1 nm.

Como parte de la validación de resultados, Fritz et al (2020) realizaron una comparativa de los resultados del suero de los pacientes muestreados con suero de pacientes sanos almacenados previamente meses antes de declararse la pandemia por COVID-19 en el hospital de Lyon, Francia mientras que la presente obtuvo la muestra de una paciente canina y felino que se encontraran clínicamente sanos, no les haya sido administradas vacunas contra coronavirus canino y felino y que no se hubiesen encontrado en contacto con tutores positivos a SARS-CoV-2.

De acuerdo con los resultados, podemos determinar que la frecuencia de infección de perros (machos y hembras) es de 20.83%, mientras que la frecuencia de infección de gatos (machos y hembras) es de 40%, podemos observar que hay una diferencia numérica de casos positivos en machos, por lo que la realización de los métodos estadísticos fue necesaria para poder reafirmar dicha aseveración preliminar. Se debe considerar que un factor de riesgo importante es el hábito de besos y caricias con las mascotas, particularmente porque desde el comienzo de la pandemia en marzo de 2020, diversas organizaciones dedicadas a la vigilancia epidemiológica y el comportamiento del virus recomendaron mantenerse lejos de familiares y mascotas, ya que hasta entonces no se conocía información acerca del comportamiento del virus en animales, principalmente en animales de compañía cuya convivencia con personas es muy estrecha, lo cual los haría eventualmente susceptibles al virus, por lo que podemos concluir que el contacto con personas positivas o sospechosas a COVID-19 está relacionado con la presencia de IgG en sus mascotas, y que, a pesar de que hubiese presencia de anticuerpos, estos no representan un riesgo para la salud de las personas, no sin aclarar que las personas si pueden transmitir el virus a pequeñas especies (perros y gatos). No se detectaron signos respiratorios en la mayoría de los individuos muestreados.

De acuerdo con Mathavarajah y Delleire (2020), se ha reportado que SARS-CoV-2 infecta a los animales de forma específica en algunas especies, donde se ha demostrado que los felinos, tales como los gatos (en el caso de animales domésticos) son más susceptibles al virus que los perros debido a que se ha logrado caracterizar la estructura y la evolución de la ACE2, donde se identificó que el virus interactúa de forma similar entre el ACE2 de humanos y en animales de la familia *Felidae* pero no en *Canidae*, provocando que la proteína ACE2 felina sea de las más estrechamente relacionadas con la ACE2 humana, especialmente en lo que involucra la interfaz de unión del receptor, lo que explicaría por qué la transmisión entre gatos puede ocurrir con mayor facilidad que con perros a partir del contacto con un humano que ha contraído la infección y que se pudo correlacionar con los resultados obtenidos en esta tesis.

9. CONCLUSIONES

- Este estudio seroepidemiológico se originó como una respuesta al llamado de la OMS y de la OMSA en el primer semestre del 2020, para evaluar la susceptibilidad de hospederos animales al SARS-CoV-2 en contacto cercano con los seres humanos, sobre todo al inicio de la pandemia por la COVID-19.
- Este estudio fue el primero realizado para detectar anticuerpos específicos tipo IgG anti-SARS-CoV-2 en perros y gatos en México, en la ciudad de Puebla, Puebla, así como el área Metropolitana, además representa el segundo en evaluar la susceptibilidad de mascotas a SARS-CoV-2 en nuestro país.
- La información aquí reportada, colabora al grueso de la literatura que demuestra que los animales domésticos como perros y gatos están en contacto con virus humanos y son susceptibles de adquirir la infección y mostrar anticuerpos específicos contra el SARS-CoV-2, demostrando la posibilidad de Zooantroponosis o Zoonosis reversa.
- Se identificó la presencia de anticuerpos específicos IgG anti-SARS-CoV-2 en el 40% de los gatos evaluados (12 pacientes), de los cuales el 27% fueron machos (8) y 13% hembras (4), todos de raza Doméstico de pelo corto. La edad promedio de los pacientes positivos es mayor a 4 años; siendo el 58.33% de los pacientes positivos mayores a 6 años, los cuales sólo el 8.33% mostró signos respiratorios.
- La frecuencia de pacientes caninos que resultaron positivos a IgG anti-SARS-CoV-2 fue del 20.83% (10 pacientes), de los cuales el 60% fueron machos (6) y 40% hembras (4) de las razas Chihuahueño (1), Labrador Retriever (2), Mestizo (4) y Pastor Alemán (3).
- En el 60% de los pacientes canino positivos (6) estuvieron en contacto con una persona sospechosa o positiva a COVID-19.
- En los gatos y perros se determinó que el único factor relacionado con los hábitos de tenencia del tutor que incrementa significativamente la probabilidad de mostrar anticuerpos contra el virus, es “compartir alimento con la mascota”. Sin embargo, existen otros factores que disminuyeron significativamente la probabilidad de mostrar anticuerpos anti-SARS-CoV-2 como: el plato de comida de la mascota se encuentra fuera de la casa (patio), que el tutor pase más de cuatro horas fuera de casa y la edad del tutor de más de 25 años.
- Se demostró que en algunos pacientes gatos y perros que cursaron con signos respiratorios y digestivos y que estuvieron en contacto con personas sospechosas o positivas a COVID-19, fueron seropositivos a anticuerpos contra SARS-CoV-2, lo que sugiere que existió transmisión del virus de seres humanos a perros y gatos.

- La zona norte de la ciudad de Puebla resultó ser la zona geográfica en donde habitan un número mayor de perros y gatos positivos a anticuerpos anti-SARS-CoV-2.
- Es necesario continuar con el monitoreo epidemiológico de ésta y otras zoonosis que afectan a los perros y gatos para evitar futuros brotes.

10. REFERENCIAS

- Abdel-Moneim, A. S., & Abdelwhab, E. M. (2020). Evidence for SARS-CoV-2 Infection of Animal Hosts. *Pathogens*, 9(7), 1–27. <https://doi.org/10.3390/PATHOGENS9070529>
- AFCD. (2020). *Low-level of infection with COVID-19 in Pet Dog*. Agriculture, Fisheries and Conservation Department. https://www.afcd.gov.hk/english/publications/publications_press/pr2342.html
- Alekseev, K. P., Vlasova, A. N., Jung, K., Hasoksuz, M., Zhang, X., Halpin, R., Wang, S., Ghedin, E., Spiro, D., & Saif, L. J. (2008). Bovine-like coronaviruses isolated from four species of captive wild ruminants are homologous to bovine coronaviruses, based on complete genomic sequences. *Journal of Virology*, 82(24), 12422–12431. <https://doi.org/10.1128/JVI.01586-08>
- Alhadj, M., & Farhana, A. (2021). Enzyme Linked Immunosorbent Assay. *StatPearls*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555922/>
- Alluwaimi, A. M., Alshubaith, I. H., Al-Ali, A. M., & Abohelaika, S. (2020). The Coronaviruses of Animals and Birds: Their Zoonosis, Vaccines, and Models for SARS-CoV and SARS-CoV2. *Frontiers in Veterinary Science*, 7(September), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.582287>
- Andersen, K. G., Rambaut, A., Lipkin, W. I., Holmes, E. C., & Garry, R. F. (2020). The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nature Medicine* 2020 26:4, 26(4), 450–452. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0820-9>
- ASM. (2020). *COVID-19 Serology Testing Explained*. <https://asm.org/Articles/2020/May/COVID-19-Serology-Testing-Explained>
- Bashor, L., Gagne, R. B., Bosco-Lauth, A. M., Bowen, R. A., Stenglein, M., & De Woude, S. Van. (2021). SARS-CoV-2 evolution in animals suggests mechanisms for rapid variant selection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118(44). https://doi.org/10.1073/PNAS.2105253118/SUPPL_FILE/PNAS.2105253118.SAPP.PDF
- Belouzard, S., Chu, V. C., & Whittaker, G. R. (2009). Activation of the SARS coronavirus spike protein via sequential proteolytic cleavage at two distinct sites. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(14), 5871–5876. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0809524106>
- Bonilla-Aldana, D. K., Dhama, K., & Rodriguez-Morales, A. J. (2020). Revisiting the one health approach in the context of COVID-19: A look into the ecology of this emerging disease. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 8(3), 234–237. <https://doi.org/10.17582/JOURNAL.AAVS/2020/8.3.234.237>
- Bull. (1976). The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *World Health Organ.*, 54, 129–139.
- Cao, Y., Li, L., Feng, Z., Wan, S., Huang, P., Sun, X., Wen, F., Huang, X., Ning, G., & Wang, W. (2020). Comparative genetic analysis of the novel coronavirus (2019-nCoV/SARS-CoV-2) receptor ACE2 in different populations. *Cell Discovery* 2020 6:1, 6(1), 1–4. <https://doi.org/10.1038/s41421-020-0147-1>
- Cascella, M., Rajnik, M., Cuomo, A., Dulebohn, S. C., & Di Napoli, R. (2022). Features, Evaluation, and Treatment of Coronavirus (COVID-19). *StatPearls*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554776/>

- Chen, J. (2020). Pathogenicity and transmissibility of 2019-nCoV—A quick overview and comparison with other emerging viruses. *Microbes and Infection*, 22(2), 69–71. <https://doi.org/10.1016/J.MICINF.2020.01.004>
- Chini, M. (2020). *Coronavirus: Belgian cat infected by owner*. The Brussels Times. <https://www.brusselstimes.com/all-news/belgium-allnews/103003/coronavirus-belgi-an-woman-infected-her-cat>
- Corman, V. M., Landt, O., Kaiser, M., Molenkamp, R., Meijer, A., Chu, D. K. W., Bleicker, T., Brünink, S., Schneider, J., Schmidt, M. L., Mulders, D. G. J. C., Haagmans, B. L., Van Der Veer, B., Van Den Brink, S., Wijsman, L., Goderski, G., Romette, J. L., Ellis, J., Zambon, M., ... Drosten, C. (2020). Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Eurosurveillance*, 25(3), 2000045. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045/CITE/PLAINTEXT>
- Coronavirus disease 2019 (COVID-19): situation report, 73*. (n.d.). Retrieved February 5, 2022, from <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331686>
- Deng, J., Jin, Y., Liu, Y., Sun, J., Hao, L., Bai, J., Huang, T., Lin, D., Jin, Y., & Tian, K. (2020). Serological survey of SARS-CoV-2 for experimental, domestic, companion and wild animals excludes intermediate hosts of 35 different species of animals. *Transboundary and Emerging Diseases*, 67(4), 1745–1749. <https://doi.org/10.1111/TBED.13577>
- Dhama, K., Pawaiya, R. V. S., Chakraborty, S., Tiwari, R., Saminathan, M., & Yerma, A. K. (2014). Coronavirus infection in equines: A review. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9(3), 164–176. <https://doi.org/10.3923/AJAVA.2014.164.176>
- Donoghue, M., Hsieh, F., Baronas, E., Godbout, K., Gosselin, M., Stagliano, N., Donovan, M., Woolf, B., Robison, K., Jeyaseelan, R., Breitbart, R. E., & Acton, S. (2000). A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9. *Circulation Research*, 87(5). <https://doi.org/10.1161/01.RES.87.5.E1>
- El Zowalaty, M. E., & Järhult, J. D. (2020). From SARS to COVID-19: A previously unknown SARS-related coronavirus (SARS-CoV-2) of pandemic potential infecting humans - Call for a One Health approach. *One Health (Amsterdam, Netherlands)*, 9. <https://doi.org/10.1016/J.ONEHLT.2020.100124>
- Gallagher, T. M., & Buchmeier, M. J. (2001). Coronavirus spike proteins in viral entry and pathogenesis. *Virology*, 279(2), 371–374. <https://doi.org/10.1006/VIRO.2000.0757>
- Garigliany, M., Van Laere, A. S., Clercx, C., Giet, D., Escriou, N., Huon, C., Van Der Werf, S., Eloit, M., & Desmecht, D. (2020). SARS-CoV-2 Natural Transmission from Human to Cat, Belgium, March 2020. *Emerging Infectious Diseases*, 26(12), 3069–3071. <https://doi.org/10.3201/EID2612.202223>
- Gaudreault, N. N., Trujillo, J. D., Carossino, M., Meekins, D. A., Morozov, I., Madden, D. W., Indran, S. V., Bold, D., Balaraman, V., Kwon, T., Artiaga, B. L., Cool, K., García-Sastre, A., Ma, W., Wilson, W. C., Henningson, J., Balasuriya, U. B. R., & Richt, J. A. (2020). SARS-CoV-2 infection, disease and transmission in domestic cats. *Emerging Microbes & Infections*, 9(1), 2322–2332. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1833687>
- Gollakner, R., & Capua, I. (2020). Is COVID-19 the first pandemic that evolves into a panzootic? *Veterinaria Italiana*, 56(1), 11–12. <https://doi.org/10.12834/VETIT.2246.12523.1>
- Gorbalenya, A. E., Baker, S. C., Baric, R. S., de Groot, R. J., Drosten, C., Gulyaeva, A. A.,

- Haagmans, B. L., Lauber, C., Leontovich, A. M., Neuman, B. W., Penzar, D., Perlman, S., Poon, L. L. M., Samborskiy, D. V., Sidorov, I. A., Sola, I., & Ziebuhr, J. (2020a). The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nature Microbiology*, 5(4), 536–544. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0695-z>
- Gorbalenya, A. E., Baker, S. C., Baric, R. S., de Groot, R. J., Drosten, C., Gulyaeva, A. A., Haagmans, B. L., Lauber, C., Leontovich, A. M., Neuman, B. W., Penzar, D., Perlman, S., Poon, L. L. M., Samborskiy, D. V., Sidorov, I. A., Sola, I., & Ziebuhr, J. (2020b). The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nature Microbiology*, 5(4), 536–544. <https://doi.org/10.1038/S41564-020-0695-Z>
- Halfmann, P. J., Hatta, M., Chiba, S., Maemura, T., Fan, S., Takeda, M., Kinoshita, N., Hattori, S., Sakai-Tagawa, Y., Iwatsuki-Horimoto, K., Imai, M., & Kawaoka, Y. (2020). Transmission of SARS-CoV-2 in Domestic Cats. *New England Journal of Medicine*, 383(6), 592–594. https://doi.org/10.1056/NEJMC2013400/SUPPL_FILE/NEJMC2013400_DISCLOSURES.PDF
- Hassani, A., & Khan, G. (2020). Human-Animal Interaction and the Emergence of SARS-CoV-2. *JMIR Public Health and Surveillance*, 6(4). <https://doi.org/10.2196/22117>
- Helmy, Y. A., Fawzy, M., Elaswad, A., Sobieh, A., Kenney, S. P., & Shehata, A. A. (2020). The COVID-19 Pandemic: A Comprehensive Review of Taxonomy, Genetics, Epidemiology, Diagnosis, Treatment, and Control. *Journal of Clinical Medicine 2020, Vol. 9, Page 1225*, 9(4), 1225. <https://doi.org/10.3390/JCM9041225>
- Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Krueger, N., Mueller, M. A., Drosten, C., & Poehlmann, S. (2020). The novel coronavirus 2019 (2019-nCoV) uses the SARS-coronavirus receptor ACE2 and the cellular protease TMPRSS2 for entry into target cells. *BioRxiv*, 2020.01.31.929042. <https://doi.org/10.1101/2020.01.31.929042>
- Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., Krüger, N., Herrler, T., Erichsen, S., Schiergens, T. S., Herrler, G., Wu, N. H., Nitsche, A., Müller, M. A., Drosten, C., & 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., MacDonald, E., Dunbar, D., McDonald, M., Howie, F., Tennant, B., Herrity, D., Da Silva Filipe, A., Streicker, D. G., Willett, B. J., Murcia, P. R., Jarrett, R. F., Robertson, D. L., & 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), no. <https://doi.org/10.1002/VETR.247>
- Hwang, S. S., Lim, J., Yu, Z., Kong, P., Sefik, E., Xu, H., Harman, C. C. D., Kim, L. K., Lee, G. R., Li, H. B., & Flavell, R. A. (2020). Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science (New York, N.Y.)*, 367(6483), 1255–1260. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.ABB2507>
- ICTV. (2020). *International Committee on Taxonomy of Viruses: ICTV*. <https://ictv.global/>
- Jawerth, N. (2020). Detección del virus de la COVID-19 mediante la RT-PCR en tiempo real. *Enfermedades Infecciosas*, 1(1), 4.
- Ji, W., Wang, W., Zhao, X., Zai, J., & Li, X. (2020a). Cross-species transmission of the newly

- identified coronavirus 2019-nCoV. *Journal of Medical Virology*, 92(4), 433–440.
<https://doi.org/10.1002/jmv.25682>
- Ji, W., Wang, W., Zhao, X., Zai, J., & Li, X. (2020b). Cross-species transmission of the newly identified coronavirus 2019-nCoV. *Journal of Medical Virology*, 92(4), 433–440.
<https://doi.org/10.1002/JMV.25682>
- Junejo, Y., Ozaslan, M., Safdar, M., Khailany, R. A., Rehman, S. U., Yousaf, W., & Khan, M. A. (2020). Novel SARS-CoV-2/COVID-19: Origin, pathogenesis, genes and genetic variations, immune responses and phylogenetic analysis. *Gene Reports*, 20, 100752.
<https://doi.org/10.1016/J.GENREP.2020.100752>
- Jurgiel, 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.
<https://doi.org/10.1016/J.MEHY.2020.109831>
- Kelley, L. A., Mezulis, S., Yates, C. M., Wass, M. N., & Sternberg, M. J. E. (2015). The Phyre2 web portal for protein modeling, prediction and analysis. *Nature Protocols* 2015 10:6, 10(6), 845–858. <https://doi.org/10.1038/nprot.2015.053>
- Khailany, R. A., Safdar, M., & Ozaslan, M. (2020). Genomic characterization of a novel SARS-CoV-2. *Gene Reports*, 19, 100682. <https://doi.org/10.1016/J.GENREP.2020.100682>
- Kim, Y. Il, Kim, S. G., Kim, S. M., Kim, E. H., Park, S. J., Yu, K. M., Chang, J. H., Kim, E. J., Lee, S., Casel, M. A. B., Um, J., Song, M. S., Jeong, H. W., Lai, V. D., Kim, Y., Chin, B. S., Park, J. S., Chung, K. H., Foo, S. S., ... 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>
- Kiros, M., Andualem, H., Kiros, T., Hailemichael, W., Getu, S., Geteneh, A., Alemu, D., & Abegaz, W. E. (2020). COVID-19 pandemic: Current knowledge about the role of pets and other animals in disease transmission. *Virology Journal*, 17(1).
<https://doi.org/10.1186/s12985-020-01416-9>
- Koepfel, K. N., Mendes, A., Strydom, A., Rotherham, L., Mulumba, M., & Venter, M. (2022). SARS-CoV-2 Reverse Zoonoses to Pumas and Lions, South Africa. *Viruses*, 14(1), 1–12.
<https://doi.org/10.3390/v14010120>
- Konda, M., Dodda, B., Konala, V. M., Naramala, S., & Adapa, S. (2020). Potential Zoonotic Origins of SARS-CoV-2 and Insights for Preventing Future Pandemics Through One Health Approach. *Cureus*, 12(6). <https://doi.org/10.7759/CUREUS.8932>
- Kuba, K., Imai, Y., Rao, S., Gao, H., Guo, F., Guan, B., Huan, Y., Yang, P., Zhang, Y., Deng, W., Bao, L., Zhang, B., Liu, G., Wang, Z., Chappell, M., Liu, Y., Zheng, D., Leibbrandt, A., Wada, T., ... Penninger, J. M. (2005). A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury. *Nature Medicine*, 11(8), 875–879.
<https://doi.org/10.1038/NM1267>
- Lai, C. C., Shih, T. P., Ko, W. C., Tang, H. J., & Hsueh, P. R. (2020). Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 55(3), 105924.
<https://doi.org/10.1016/J.IJANTIMICAG.2020.105924>
- Lau, S. K. P., Woo, P. C. Y., Li, K. S. M., Tsang, A. K. L., Fan, R. Y. Y., Luk, H. K. H., Cai, J.-P., Chan, K.-H., Zheng, B.-J., Wang, M., & Yuen, K.-Y. (2015). Discovery of a novel

- coronavirus, China Rattus coronavirus HKU24, from Norway rats supports the murine origin of Betacoronavirus 1 and has implications for the ancestor of Betacoronavirus lineage A. *Journal of Virology*, 89(6), 3076–3092. <https://doi.org/10.1128/JVI.02420-14>
- Leroy, E. M., Ar Gouilh, M., & Brugère-Picoux, J. (2020a). 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 (Amsterdam, Netherlands)*, 10. <https://doi.org/10.1016/J.ONEHLT.2020.100133>
- Leroy, E. M., Ar Gouilh, M., & Brugère-Picoux, J. (2020b). 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. <https://doi.org/10.1016/J.ONEHLT.2020.100133>
- Li, F., Li, W., Farzan, M., & Harrison, S. C. (2005). Structure of SARS coronavirus spike receptor-binding domain complexed with receptor. *Science (New York, N.Y.)*, 309(5742), 1864–1868. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1116480>
- Li, Q., Guan, X., Wu, P., Wang, X., Zhou, L., Tong, Y., Ren, R., Leung, K. S. M., Lau, E. H. Y., Wong, J. Y., Xing, X., Xiang, N., Wu, Y., Li, C., Chen, Q., Li, D., Liu, T., Zhao, J., Liu, M., ... Feng, Z. (2020). Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia. *The New England Journal of Medicine*, 382(13), 1199–1207. <https://doi.org/10.1056/NEJMOA2001316>
- 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. <https://doi.org/10.1002/JMV.25731>
- Liu, Z., Xiao, X., Wei, X., Li, J., Yang, J., Tan, H., Zhu, J., Zhang, Q., Wu, J., & Liu, L. (2020). Composition and divergence of coronavirus spike proteins and host ACE2 receptors predict potential intermediate hosts of SARS-CoV-2. *Journal of Medical Virology*, 92(6), 595–601. <https://doi.org/10.1002/JMV.25726>
- Luan, J., Lu, Y., Jin, X., & Zhang, L. (2020). Spike protein recognition of mammalian ACE2 predicts the host range and an optimized ACE2 for SARS-CoV-2 infection. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 526(1), 165–169. <https://doi.org/10.1016/J.BBRC.2020.03.047>
- Malik, Y. S., Sircar, S., Bhat, S., Sharun, K., Dhama, K., Dadar, M., Tiwari, R., & Chaicumpa, W. (2020). Emerging novel coronavirus (2019-nCoV)—current scenario, evolutionary perspective based on genome analysis and recent developments. *Veterinary Quarterly*, 40(1), 68–76. https://doi.org/10.1080/01652176.2020.1727993/SUPPL_FILE/TVEQ_A_1727993_SM0882.ZIP
- Mallapaty, S. (2020). Coronavirus can infect cats - dogs, not so much. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/D41586-020-00984-8>
- Mastroberardino, L., Spindler, B., Pfeiffer, R., Skelly, P. J., Loffing, J., Shoemaker, C. B., & Verrey, F. (1998). Amino-acid transport by heterodimers of 4F2hc/CD98 and members of a permease family. *Nature* 1998 395:6699, 395(6699), 288–291. <https://doi.org/10.1038/26246>
- Mathavarajah, S., & Dellaire, G. (n.d.). *Lions, tigers and kittens too: ACE2 and susceptibility to COVID-19*. <https://doi.org/10.1093/emph/eoaa021>
- Meyer, B., Drosten, C., & Müller, M. A. (2014). Serological assays for emerging coronaviruses:

- Challenges and pitfalls. *Virus Research*, 194, 175–183.
<https://doi.org/10.1016/j.virusres.2014.03.018>
- Michelitsch, A., Hoffmann, D., Wernike, K., & Beer, M. (2020). Occurrence of antibodies against SARS-CoV-2 in the domestic cat population of Germany. *Vaccines*, 8(4), 1–10.
<https://doi.org/10.3390/VACCINES8040772>
- Millet, J. K., & Whittaker, G. R. (2015). Host cell proteases: Critical determinants of coronavirus tropism and pathogenesis. *Virus Research*, 202, 120–134.
<https://doi.org/10.1016/J.VIRUSRES.2014.11.021>
- Mortola, E., & Roy, P. (2004). Efficient assembly and release of SARS coronavirus-like particles by a heterologous expression system. *FEBS Letters*, 576(1–2), 174–178.
<https://doi.org/10.1016/J.FEBSLET.2004.09.009>
- Newman, A., Smith, D., Ghai, R. R., Wallace, R. M., Torchetti, M. K., Loiacono, C., Murrell, L. S., Carpenter, A., Moroff, S., Rooney, J. A., & Barton Behravesh, C. (2020). First Reported Cases of SARS-CoV-2 Infection in Companion Animals - New York, March-April 2020. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, 69(23), 710–713.
<https://doi.org/10.15585/MMWR.MM6923E3>
- OIE. (2020). Infección Por Sars-Cov-2 En Animales. *Organizacion Mundial de Sanidad Animal*, 2, 3–6. https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Our_scientific_expertise/docs/pdf/COV-19/E_Factsheet_SARS-CoV-2.pdf
- OIE. (2022). *SARS-COV-2 IN ANIMALS-SITUATION REPORT 9*. https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.23.2001005#html_fulltext
- Okba, N. M. A., Müller, M. A., Li, W., Wang, C., Geurtsvankessel, C. H., Corman, V. M., Lamers, M. M., Sikkema, R. S., Bruin, E. De, Chandler, F. D., Yazdanpanah, Y., Hingrat, Q. Le, Descamps, D., Houhou-Fidouh, N., Reusken, C. B. E. M., Bosch, B. J., Drosten, C., Koopmans, M. P. G., & Haagmans, B. L. (2020). Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2-Specific Antibody Responses in Coronavirus Disease Patients. *Emerging Infectious Diseases*, 26(7), 1478–1488. <https://doi.org/10.3201/eid2607.200841>
- Ozaslan, M., Safdar, M., Kilic, I. H., & A. Khailan, R. (2020). Practical Measures to Prevent COVID-19: A Mini-Review. *Journal of Biological Sciences*, 20(2), 100–102.
<https://doi.org/10.3923/JBS.2020.100.102>
- Petrosillo, N., Viceconte, G., Ergonul, O., Ippolito, G., & Petersen, E. (2020). COVID-19, SARS and MERS: are they closely related? *Clinical Microbiology and Infection*, 26(6), 729–734.
<https://doi.org/10.1016/J.CMI.2020.03.026>
- Rehman, S. U., Shafique, L., Ihsan, A., & Liu, Q. (2020). Evolutionary Trajectory for the Emergence of Novel Coronavirus SARS-CoV-2. *Pathogens* 2020, Vol. 9, Page 240, 9(3), 240.
<https://doi.org/10.3390/PATHOGENS9030240>
- Rodríguez, L., & Núñez, V. (2020). Pathophysiology and Clinical Manifestations SARS COVID (Covid 19). *Revista Argentina de Quemaduras*, 30, 8–15.
- Sailleau, C., Dumarest, M., Vanhomwegen, J., Delaplace, M., Caro, V., Kwasiborski, A., Hourdel, V., Chevaillier, P., Barbarino, A., Comtet, L., Pourquier, P., Klonjowski, B., Manuguerra, J. C., Zientara, S., & 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., Terrón, M. T., Cruz, S., Parera, M., Noguera-Julián, M., Izquierdo-Useros, N., Guallar, V., Vidal, E., Valencia, A., Blanco, I., Blanco, J., Clotet, B., & 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>
- Seow, J., Graham, C., Merrick, B., Acors, S., Steel, K. J. A., Hemmings, O., O’Byrne, A., Kouphou, N., Pickering, S., Galao, R. P., Betancor, G., Wilson, H. D., Signell, A. W., Winstone, H., Kerridge, C., Temperton, N., Snell, L., Bisnauthsing, K., Moore, A., ... Doores, K. J. (2020). Longitudinal evaluation and decline of antibody responses in SARS-CoV-2 infection. *MedRxiv*, 2020.07.09.20148429. <https://doi.org/10.1101/2020.07.09.20148429>
- Shi, J., Wen, Z., Zhong, G., Yang, H., Wang, C., Huang, B., Liu, R., He, X., Shuai, L., Sun, Z., Zhao, Y., Liu, P., Liang, L., Cui, P., Wang, J., Zhang, X., Guan, Y., Tan, W., Wu, G., ... Bu, Z. (2020a). Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS-coronavirus 2. *Science*, *368*(6494), 1016–1020. <https://doi.org/10.1126/science.abb7015>
- Shi, J., Wen, Z., Zhong, G., Yang, H., Wang, C., Huang, B., Liu, R., He, X., Shuai, L., Sun, Z., Zhao, Y., Liu, P., Liang, L., Cui, P., Wang, J., Zhang, X., Guan, Y., Tan, W., Wu, G., ... Bu, Z. (2020b). Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS-coronavirus 2. *Science*, *368*(6494), 1016–1020. https://doi.org/10.1126/SCIENCE.ABB7015/SUPPL_FILE/ABB7015_SHI_SM.PDF
- Shi, J., Wen, Z., Zhong, G., Yang, H., Wang, C., Huang, B., Liu, R., He, X., Shuai, L., Sun, Z., Zhao, Y., Liu, P., Liang, L., Cui, P., Wang, J., Zhang, X., Guan, Y., Tan, W., Wu, G., ... Bu, Z. (2020c). Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS-coronavirus 2. *Science (New York, N.Y.)*, *368*(6494), 1016–1020. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.ABB7015>
- Simmons, G., Reeves, J. D., Rennekamp, A. J., Amberg, S. M., Piefer, A. J., & Bates, P. (2004). Characterization of severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus (SARS-CoV) spike glycoprotein-mediated viral entry. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *101*(12), 4240–4245. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0306446101>
- Simmons, G., Zmora, P., Gierer, S., Heurich, A., & Pöhlmann, S. (2013). Proteolytic activation of the SARS-coronavirus spike protein: cutting enzymes at the cutting edge of antiviral research. *Antiviral Research*, *100*(3), 605–614. <https://doi.org/10.1016/J.ANTIVIRAL.2013.09.028>
- Sit, T. H. C., Brackman, C. J., Ip, S. M., Tam, K. W. S., Law, P. Y. T., To, E. M. W., Yu, V. Y. T., Sims, L. D., Tsang, D. N. C., Chu, D. K. W., Perera, R. A. P. M., Poon, L. L. M., & Peiris, M. (2020). Infection of dogs with SARS-CoV-2. *Nature*, *586*(7831), 776–778. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2334-5>
- Song, W., Gui, M., Wang, X., & Xiang, Y. (2018). Cryo-EM structure of the SARS coronavirus spike glycoprotein in complex with its host cell receptor ACE2. *PLoS Pathogens*, *14*(8). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PPAT.1007236>
- 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-CoV-2/COVID-19 fit? *Veterinary Microbiology*, *247*. <https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2020.108777>
- Su, S., Wong, G., Shi, W., Liu, J., Lai, A. C. K., Zhou, J., Liu, W., Bi, Y., & Gao, G. F. (2016). Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses. *Trends in Microbiology*, *24*(6), 490–502. <https://doi.org/10.1016/J.TIM.2016.03.003>

- Sun, K., Gu, L., Ma, L., & Duan, Y. (2021). Atlas of ACE2 gene expression reveals novel insights into transmission of SARS-CoV-2. *Heliyon*, 7(1).
<https://doi.org/10.1016/J.HELIYON.2020.E05850>
- Tilocca, B., Soggiu, A., Musella, V., Britti, D., Sanguinetti, 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. <https://doi.org/10.1016/J.MICINF.2020.03.002>
- Tiwari, R., Dhama, K., Sharun, K., Iqbal Yattoo, M., Malik, Y. S., Singh, R., Michalak, I., Sah, R., Bonilla-Aldana, D. K., & Rodriguez-Morales, A. J. (2020). COVID-19: animals, veterinary and zoonotic links. *Veterinary Quarterly*, 40(1), 169–182.
<https://doi.org/10.1080/01652176.2020.1766725>
- To, K. K. W., Tsang, O. T. Y., Leung, W. S., Tam, A. R., Wu, T. C., Lung, D. C., Yip, C. C. Y., Cai, J. P., Chan, J. M. C., Chik, T. S. H., Lau, D. P. L., Choi, C. Y. C., Chen, L. L., Chan, W. M., Chan, K. H., Ip, J. D., Ng, A. C. K., Poon, R. W. S., Luo, C. T., ... Yuen, K. Y. (2020). Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study. *The Lancet Infectious Diseases*, 20(5), 565–574. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30196-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30196-1)
- Vogels, C. B. F., Brito, A. F., Wyllie, A. L., Fauver, J. R., Ott, I. M., Kalinich, C. C., Petrone, M. E., Casanovas-Massana, A., Catherine Muenker, M., Moore, A. J., Klein, J., Lu, P., Lu-Culligan, A., Jiang, X., Kim, D. J., Kudo, E., Mao, T., Moriyama, M., Oh, J. E., ... Grubaugh, N. D. (2020). Analytical sensitivity and efficiency comparisons of SARS-CoV-2 RT-qPCR primer-probe sets. *Nature Microbiology* 2020 5:10, 5(10), 1299–1305.
<https://doi.org/10.1038/s41564-020-0761-6>
- 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(7). <https://doi.org/10.1128/JVI.00127-20/ASSET/EA9A0885-A970-4B62-B79A-99D6CA7D96E0/ASSETS/GRAPHIC/JVI.00127-20-F0004.JPEG>
- Wang, Chen, Horby, P. W., Hayden, F. G., & Gao, G. F. (2020). A novel coronavirus outbreak of global health concern. *The Lancet*, 395(10223), 470–473. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30185-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30185-9)
- Wang, Chong, Zheng, X., Gai, W., Zhao, Y., Wang, H., Wang, H., Feng, N., Chi, H., Qiu, B., Li, N., Wang, T., Gao, Y., Yang, S., & Xia, X. (2017). MERS-CoV virus-like particles produced in insect cells induce specific humoral and cellular immunity in rhesus macaques. *Oncotarget*, 8(8), 12686. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.8475>
- Ward, M. P., Li, X., & Tian, K. (2020). Novel coronavirus 2019, an emerging public health emergency. *Transboundary and Emerging Diseases*, 67(2), 469.
<https://doi.org/10.1111/TBED.13509>
- Wölfel, R., Corman, V. M., Guggemos, W., Seilmaier, M., Zange, S., Müller, M. A., Niemeyer, D., Jones, T. C., Vollmar, P., Rothe, C., Hoelscher, M., Bleicker, T., Brünink, S., Schneider, J., Ehmann, R., Zwirgmaier, K., Drosten, C., & Wendtner, C. (2020). Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*, 581(7809), 465–469.
<https://doi.org/10.1038/s41586-020-2196-x>
- Woo, P. C. Y., Lau, S. K. P., Lam, C. S. F., Lau, C. C. Y., Tsang, A. K. L., Lau, J. H. N., Bai, R., Teng, J. L. L., Tsang, C. C. C., Wang, M., Zheng, B.-J., Chan, K.-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(7), 3995–4008. https://doi.org/10.1128/JVI.06540-11/SUPPL_FILE/TABLES1-S5.PDF

- Woo, Patrick C. Y., Lau, S. K. P., Chu, C., Chan, K., Tsoi, H., Huang, Y., Wong, B. H. L., Poon, R. W. S., Cai, J. J., Luk, W., Poon, L. L. M., Wong, S. S. Y., Guan, Y., Peiris, J. S. M., & Yuen, K. (2005). Characterization and Complete Genome Sequence of a Novel Coronavirus, Coronavirus HKU1, from Patients with Pneumonia. *Journal of Virology*, 79(2), 884–895. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.2.884-895.2005/ASSET/D53101B3-346E-4457-A7D3-765780566405/ASSETS/GRAPHIC/ZJV0020556470006.JPEG>
- Wu, Y., Ho, W., Huang, Y., Jin, D. Y., Li, S., Liu, S. L., Liu, X., Qiu, J., Sang, Y., Wang, Q., Yuen, K. Y., & Zheng, Z. M. (2020). SARS-CoV-2 is an appropriate name for the new coronavirus. *The Lancet*, 395(10228), 949–950. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30557-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30557-2)
- Yan, R., Zhao, X., Lei, J., & Zhou, Q. (2019). Structure of the human LAT1-4F2hc heteromeric amino acid transporter complex. *Nature*, 568(7750), 127–130. <https://doi.org/10.1038/S41586-019-1011-Z>
- Yeşilbağ, K., & Aytoğu, G. (2020). Coronavirus Host Divergence and Novel Coronavirus (Sars-CoV-2) Outbreak. *Clinical and Experimental Ocular Trauma and Infection*, 2(1), 6–14.
- Zhang, Q., Zhang, H., Huang, K., Yang, Y., Hui, X., Gao, J., He, X., Li, C., Gong, W., Zhang, Y., Peng, C., Gao, X., Chen, H., Zou, Z., Shi, Z., & Jin, M. (2020). SARS-CoV-2 neutralizing serum antibodies in cats: a serological investigation. <https://doi.org/10.1101/2020.04.01.021196>
- Zhao, J., Yuan, Q., Wang, H., Liu, W., Liao, X., Su, Y., Wang, X., Yuan, J., Li, T., Li, J., Qian, S., Hong, C., Wang, F., Liu, Y., Wang, Z., He, Q., Li, Z., He, B., Zhang, T., ... Zhang, Z. (2020). Antibody Responses to SARS-CoV-2 in Patients With Novel Coronavirus Disease 2019. *Clinical Infectious Diseases*, 71(16), 2027–2034. <https://doi.org/10.1093/CID/CIAA344>
- Zhao, Y., Zhao, Z., Wang, Y., Zhou, Y., Ma, Y., & Zuo, W. (2020). Single-cell RNA expression profiling of ACE2, the putative receptor of Wuhan 2019-nCov. *BioRxiv*, 2020.01.26.919985. <https://doi.org/10.1101/2020.01.26.919985>
- Zhong, N. S., Zheng, B. J., Li, Y. M., Poon, L. L. M., Xie, Z. H., Chan, K. H., Li, P. H., Tan, S. Y., Chang, Q., Xie, J. P., Liu, X. Q., Xu, J., Li, D. X., Yuen, K. Y., Peiris, J. S. M., & Guan, Y. (2003). Epidemiology and cause of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangdong, People's Republic of China, in February, 2003. *Lancet (London, England)*, 362(9393), 1353–1358. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)14630-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)14630-2)
- Zhou, H., Chen, X., Hu, T., Li, J., Song, H., Liu, Y., Wang, P., Liu, D., Yang, J., Holmes, E. C., Hughes, A. C., Bi, Y., & Shi, W. (2020). A Novel Bat Coronavirus Closely Related to SARS-CoV-2 Contains Natural Insertions at the S1/S2 Cleavage Site of the Spike Protein. *Current Biology*, 30(11), 2196-2203.e3. <https://doi.org/10.1016/J.CUB.2020.05.023>
- Zhou, P., Yang, X. Lou, Wang, X. G., Hu, B., Zhang, L., Zhang, W., Si, H. R., Zhu, Y., Li, B., Huang, C. L., Chen, H. D., Chen, J., Luo, Y., Guo, H., Jiang, R. Di, Liu, M. Q., Chen, Y., Shen, X. R., Wang, X., ... Shi, Z. L. (2020). A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, 579(7798), 270–273. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>
- Zhu, N., Zhang, D., Wang, W., Li, X., Yang, B., Song, J., Zhao, X., Huang, B., Shi, W., Lu, R.,

Niu, P., Zhan, F., Ma, X., Wang, D., Xu, W., Wu, G., Gao, G. F., & Tan, W. (2020). A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *The New England Journal of Medicine*, 382(8), 727–733. <https://doi.org/10.1056/NEJMOA2001017>

Zisman, L. S., Keller, R. S., Weaver, B., Lin, Q., Speth, R., Bristow, M. R., & Canver, C. C. (2003). Increased angiotensin-(1-7)-forming activity in failing human heart ventricles: evidence for upregulation of the angiotensin-converting enzyme Homologue ACE2. *Circulation*, 108(14), 1707–1712. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000094734.67990.99>

1. ANEXOS



Anexo 1. Formato de carta de consentimiento informado para participantes en la Investigación de la FMVZ y Biotecnología de UPAEP

Este Formulario de Consentimiento Informado se dirige a propietarios de gatos y perros mascotas, que han sido diagnosticadas como positivas por la infección por SARS-CoV-2, y que además, hayan o no mostrado signos de la infección (sintomáticos y asintomáticos), en el Municipio de Puebla, México, para invitarlos a participar en la investigación dirigida por las Facultades de Medicina Veterinaria y Zootecnia y de Biotecnología y de la UPAEP.

Proyecto: "Gatos y perros mascota como unidades centinelas para el estudio epidemiológico del SARS-CoV-2 en humanos en el Municipio de Puebla".

Nombre del Investigador Principal: Dra. Fabiola Carolina Espinosa Gómez / Dra. Elizabeth Bautista

Nombre del Investigador Estudiante: MVZ Oscar Emilio Palacios Cruz

Nombre de la Universidad: Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla, UPAEP.

El propósito de este estudio es conocer si las mascotas (perros y gatos) son susceptibles de presentar el virus que causa la pandemia llamada COVID-19, sobre todo aquellas mascotas que vivan dentro de la casa de propietarios/pacientes que han sido diagnosticados como positivos por la infección del SARS-CoV-2, y que, además hayan o no mostrado signos de la infección (sintomáticos y asintomáticos), en el Estado de Puebla, México. Si fueran susceptibles los perros y gatos, sería importante conocer si fueron contagiados por sus propios propietarios, y si hay condiciones del propio animal que hayan colaborado en que se infectaran.

Esta investigación incluirá una única extracción de muestra de sangre de su gato o perro, la muestra tendrá un volumen máximo de 3 ml. También incluye la toma de muestra con un hisopo de algodón estéril, que será introducida a la nariz y/o cavidad oral de su mascota.

Si usted accede a participar en este estudio, se le pedirá responder preguntas para completar una encuesta y permitir que se tome muestra sanguínea de su gato o perro. Esto tomará aproximadamente de 10 a 15 minutos de su tiempo y se le pedirá que una persona diferente a usted asista al Hospital Veterinario UPAEP con su mascota para la toma de muestra.

Antes de la toma de muestra, se realizará un examen físico general a su mascota. La muestra sanguínea de su gato o perro será extraída por Médicos Veterinarios titulados, especialistas en el manejo de gatos y perros domésticos y perfectamente capacitados para la toma de muestras biológicas. En todo momento se cuidará la salud y bienestar de su perro o gato.

La muestra sanguínea será evaluada para determinar si existen alteraciones y/o metabolitos que indiquen salud o enfermedad de su mascota, así como la posible existencia de anticuerpos contra el virus de la COVID-19. La muestra de hisopo de algodón servirá



para experimentos de laboratorio que muestre si existe el virus en su mascota. En caso de ser positivo, su gato o perro no representa ningún riesgo para usted o su familia, de acuerdo a que aún no hay información científica que demuestre riesgos para los seres humanos.

La participación en este estudio es estrictamente voluntaria. La información que se recoja será confidencial y no se usará para ningún otro propósito fuera de los de esta investigación. Sus respuestas al cuestionario serán codificadas usando un número de identificación y, por lo tanto, serán anónimas. Si usted elige conocer los resultados de la prueba de sangre o del hisopado, podremos informarle, siempre y cuando nos proporcione un correo electrónico o un teléfono particular al cual podamos comunicarnos en el futuro. El estudio podrá resultar en un informe del estado de salud general personalizado a cada perro y gato, este informe será gratuito y se le hará llegar por correo electrónico.

Si tiene alguna duda sobre este proyecto, puede hacer preguntas en cualquier momento durante su participación en él. Igualmente, puede retirarse del proyecto en cualquier momento sin que eso lo perjudique en ninguna forma. Si algunas de las preguntas de la encuesta le parecen incómodas, tiene usted el derecho de hacérselo saber al investigador o de no responderlas.

Riesgos para su gato o perro

Aunque se tomará la muestra sanguínea de las mascotas maximizando las medidas precautorias de una lesión, es posible que se pueda lesionar el vaso sanguíneo por la entrada de la aguja o el movimiento involuntario del paciente. Los riesgos son mínimos y solamente están relacionados con la formación de un moretón (hematoma). Para la toma de muestra con el hisopo, no existen riesgos, ya que es solo una pequeña introducción del algodón como si limpiáramos el área.

De igual forma, en el caso de gatos que no permitan el manejo para realizar la toma de muestra es posible que se le solicite el manejo con anestesia inhalada para poder facilitar la recolección de muestra sanguínea. Como tal, el proceso de anestesia inhalada es seguro, aunque cada paciente puede reaccionar de manera distinta ante el procedimiento.

Beneficios

El primer beneficio para usted es conocer de forma gratuita, si su gato o perro ha estado en contacto con la infección y de ser así, se le capacitará de manera corta con estrategias para que minimice el riesgo futuro de que su mascota pueda contraer esta u otra enfermedad.

Los beneficios para la comunidad es conocer si el virus se encuentra contaminando el ambiente en que todos vivimos, ya que no solo el gato o perro sino también otros animales como cerdos, pollos y hámsters se pueden contaminar.

Confidencialidad

La encuesta es anónima y no le pediremos sus datos particulares como nombre, dirección, teléfono. En el caso de que usted desee conocer los resultados de los análisis de la sangre de su gato o perro, podrá compartimos un correo electrónico o teléfono para hacerle llegar la información. Estos datos serán conocidos solamente por el equipo de investigación y mantendrán en todo momento la confidencialidad de sus datos.



Derecho a negarse o retirarse

Esto es una reconfirmación de que su participación es voluntaria y tiene el derecho a retirarse, si es que ya no quiere participar con su gato o perro en el estudio. Es su elección y todos sus derechos serán respetados.

A Quién Contactar

Si tiene cualquier pregunta puede hacerlas ahora o más tarde, incluso después que hayamos tomado las muestras de sangre y de hisopos. Si desea hacer preguntas más tarde, puede contactar cualquiera de las siguientes personas:

Dra. Fabiola Espinosa (cédula profesional 4599944), correo:

fabiolacarolina.espinosa@upaep.mx

Teléfono celular: 22 81 77 85 28

Dra. Elizabeth Bautista Rodríguez, correo: elizabeth.bautista@upaep.mx

Este proyecto ha sido revisado y aprobado por el Comité de Ética en la Investigación del Decanato de Ciencias Médicas de la Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla, UPAEP.



Formulario para manifestar la “participación voluntaria” en el proyecto de investigación

He sido invitado a participar en la investigación que tiene como nombre “Gatos y perros mascota como unidades centinelas para el estudio epidemiológico del SARS-CoV-2 en humanos en el Municipio de Puebla, Pue.”

Entiendo que me harán unas preguntas sobre los hábitos que tengo en la tenencia de mi/mis gatos o perros para llenar una encuesta anónima. Mi gato o perro será manejado por Médicos Veterinarios para tomar una muestra de sangre de volumen máximo de 3 ml, usando una aguja hipodérmica. He sido informado de que los riesgos son mínimos para mi gato o perro y pueden incluir solo un pequeño hematoma en el área en donde se introduzca la aguja, para tomar la muestra de sangre.

Se me ha proporcionado el nombre de un investigador que puede ser fácilmente contactado usando el nombre y correo electrónico que se me ha dado de esa persona.

He leído la información proporcionada o me ha sido leída. He tenido la oportunidad de preguntar sobre ella y se me ha contestado satisfactoriamente las preguntas que he realizado. Consiento voluntariamente participar en esta investigación como participante propietario de un gato o perro y entiendo que tengo el derecho de retirarme de la investigación en cualquier momento sin que me afecte en ninguna manera.

Nombre del propietario de la mascota:

Firma del propietario de la mascota:

Fecha Día/mes/año:

Anexo 2. Carta de Responsabilidad, Resguardo y Confidencialidad de la Información

La que suscribe, **Dra. Fabiola Carolina Espinosa Gómez**, de nacionalidad mexicana, de profesión médica veterinaria zootecnista (cédula profesional 4599944), profesor investigador de tiempo completo con ID 3412095 de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla UPAEP, manifiesto lo siguiente:

- 1) Que, participo en la coordinación y ejecución del Proyecto de Investigación denominado "Gatos y perros mascota como unidades centinelas para el estudio epidemiológico del SARS-CoV-2 en humanos en el Municipio de Puebla, Pue."
- 2) Que, me comprometo a que toda la información obtenida en la encuesta aplicada a los participantes que son propietarios de perros y gatos que cumplan con los criterios de inclusión y que hayan firmado el formato de consentimiento informado para participar en este proyecto, será tratada de manera estrictamente confidencial, tomando todas las medidas de seguridad y protección adecuadas que aseguren que no será conocida por terceros no autorizados.
- 3) Que, adquiero el compromiso de no utilizar con fines de difusión, publicación por cualquier medio, o transferencia de los datos personales obtenidos, relacionada con los intercambios de información derivados de esta investigación epidemiológica desarrollada en la UPAEP. Los datos obtenidos serán empleados de forma anónima y únicamente con fines científicos y de investigación, y podrán concluir en una publicación académica.
- 4) Asimismo, asumo la responsabilidad de enterar a todas las personas que estarán relacionados con el proceso del proyecto mencionado, de los compromisos, responsabilidades y alcances contenidos en esta carta, a fin de garantizar la confidencialidad aquí comprometida.

Atentamente

"La Cultura al Servicio del Pueblo"

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Fabiola Espinosa', is written over a faint, illegible stamp.

Dra. Fabiola Carolina Espinosa Gómez Profesor Investigador de Tiempo Completo
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Av 15 Pte 1910, Barrio de Santiago, 72410 Puebla, Pue.

Teléfono: 222 9285155, Ext. 7734

fabiolacarolina.espinosa@upaep.mx

Evaluación de los posibles factores de riesgo la infección de Coronavirus 2019 en perros y gatos

Número de Encuesta: _____		
Datos de la mascota		
Especie: <input type="checkbox"/> Gato <input type="checkbox"/> Perro	Sexo: <input type="checkbox"/> Hembra <input type="checkbox"/> Macho	Edad: <input type="checkbox"/> < 1 año <input type="checkbox"/> 1 a 3 años <input type="checkbox"/> 4 a 6 años <input type="checkbox"/> 7 a 10 años <input type="checkbox"/> > 10 años

Instrucciones: seleccione una o varias respuestas correctas.

1. ¿Con qué frecuencia lleva a su mascota al médico veterinario?

- >1 vez al mes 1 vez al mes cada 3-4 meses cada 6 meses 1 vez al año

2. ¿Cuándo fue la última ocasión que su mascota presentó problemas respiratorios?

- Nunca ha presentado Hace 1 semana Hace 15 días Hace 1 mes
 Hace 2-3 meses Hace 6 meses Hace 1 año Hace >1 año

3. ¿Cuándo fue la última vez que su veterinario desparasitó a su mascota?

- Nunca se ha desparasitado Hace 1 semana Hace 15 días Hace 1 mes
 Hace 2-3 meses Hace 6 meses Hace 1 año Hace >1 año

4. ¿Cuándo fue la última vez que su veterinario vacunó a su mascota?

- Nunca se ha vacunado Hace 1 semana Hace 15 días Hace 1 mes
 Hace 2-3 meses Hace 6 meses Hace 1 año Hace >1 año

5. ¿Cuáles son las vacunas con las que cuenta su mascota?

- | Perro | | Gato | |
|--|---|--|--|
| <input type="checkbox"/> Parvovirus canino | <input type="checkbox"/> Distemper canino | <input type="checkbox"/> Calicivirus felino | <input type="checkbox"/> Rinotraqueitis viral felina |
| <input type="checkbox"/> Adenovirus canino | <input type="checkbox"/> Coronavirus canino | <input type="checkbox"/> Panleucopenia felina | <input type="checkbox"/> Chlamydia felina |
| <input type="checkbox"/> Leptospirosis | <input type="checkbox"/> Parainfluenza canina | <input type="checkbox"/> Leucemia viral felina | <input type="checkbox"/> Rabia |
| <input type="checkbox"/> Bordetella | <input type="checkbox"/> Rabia | | |

6. En caso de tener más de 1 mascota, ¿todas sus mascotas conviven entre ellas?

- Si No

7. ¿Qué especie(s) tiene como mascota y cuántos?

- Perro (#__) Gato (#__) Otros: _____

8. ¿Sitio del hogar donde pasa más tiempo su(s) mascota(s)?

- Patio Sala Cochera Cocina Comedor Habitación
 Cuarto especial para ella Otro: _____

9. ¿Su mascota duerme con los miembros del hogar?

- Si No

10. Marque las actividades afectivas que realiza con su mascota:

- Abrazos Caricias Besos Ninguna

12. ¿Con qué frecuencia su mascota sale de paseo?

- No sale Diariamente 5-6 veces por semana 3-4 veces por semana
 1-2 veces por semana 1 vez cada 15 días 1 vez cada mes

13. ¿Quién es el encargado de pasear a su mascota?

- Sale solo Yo mismo Un miembro del hogar Contrato a alguien externo

14. Forma de compra de alimento para su mascota:

- A granel Bulto sellado Prepara la dieta en casa Otro: _____

15. ¿Comparte alimentos con su mascota?

- Si No

16. Sitio del hogar donde su mascota tiene sus trastes de agua y comida:

- Patio Sala Cochera Cocina Comedor Habitación
 Cuarto especial para ella Otro: _____

17. ¿Con qué frecuencia lava los trastes de su mascota?

- Después de comer Una vez al día Cada 2 días Cada 3er día
 Una vez a la semana Una vez cada 15 días Una vez al mes

Datos del tutor

Ocupación:

Sexo:

- Mujer
 Hombre

Edad:

- < 25 25-30
 30-45 ≥ 51

1. Tipo de hogar donde habita:

- Casa independiente Departamento en edificio Otro: _____

2. Tiempo que pasa fuera de casa diariamente:

- < 4 horas 4 a 6 horas 6 a 8 horas 8 a 10 horas > 10 horas

3. ¿Cuál es el medio de transporte que emplea para poder trasladarse de manera continua?

- Vehículo automotor propio Servicio de taxi Transporte urbano (ruta) Bicicleta
 A pie Otro: _____

4. ¿Cuáles son los espacios públicos que más frecuenta?

- Sitio de trabajo Mercado/Supermercado Plaza comercial Parque
 Gimnasio Calle

5. Ha tenido usted o alguno de los miembros de su hogar contacto con una persona positiva o sospechosa a SARS-CoV-2

- Si No No sabe

