



Lucía de Juan Ferré

dejuan@ucm.es

Grupo de Investigación Vigilancia Sanitaria. Centro VISAVET (UCM)

Vigilancia sanitaria de COVID-19 en animales y medio ambiente

Dos de los elementos que suscitaron especial preocupación al principio de la pandemia de COVID-19 (abril-mayo 2020) fueron el posible origen animal del virus y el potencial papel epidemiológico que los animales (especialmente las mascotas) pudieran tener en la transmisión y mantenimiento de SARS-CoV-2. El tándem mascotas y SARS-CoV-2 ha copado titulares y noticias en todo el mundo, principalmente como reflejo de la preocupación suscitada en la sociedad.

En este artículo se muestran las principales actividades desarrolladas por el grupo de investigación UCM Vigilancia Sanitaria y el Centro VISAVET en relación con la enfermedad COVID-19 en animales, destacando los proyectos, convenios de colaboración relacionados y las publicaciones científicas derivadas, así como la actividad docente y de divulgación.

COVID-19 en mascotas

La Figura 1 resume las principales líneas de trabajo desarrolladas en esta pandemia, para dar respuesta a las principales preguntas sobre SARS-CoV-2 y mascotas.

¿Pueden las mascotas desarrollar una enfermedad como consecuencia de la infección por SARS-CoV-2?

Diferentes estudios han demostrado que existe una importante variabilidad en la susceptibilidad a la infección en las diferentes especies animales. Las investigaciones llevadas a cabo en los proyectos COV20/01385 y ANTICIPA UCM han demostrado que las mascotas se infectan a partir de personas enfermas, tanto por vía respiratoria como digestiva. Una vez infectadas, eliminan bajas cargas virales no observándose trans-

misión entre ellas y tampoco suponen riesgo para las personas. La enfermedad en los animales infectados, tanto de forma experimental como natural, cursa con un cuadro clínico leve, con lesiones respiratorias muy similares a las descritas en humanos.

¿Qué manifestaciones clínicas y lesiones se asocian a la infección por este coronavirus en animales?

Dada la relevancia que tienen los gatos como mascotas, evaluar la susceptibilidad de los gatos a la infección por SARS-CoV-2 emulando mecanismos de transmisión naturales se convirtió en una prioridad para dar respuesta a esta pregunta. Para ello, se realizó una infección mediante aerosol (simulando un estornudo/tos) y lamido (contaminando el pelaje del gato con el virus). Se confirmó así que los gatos pueden infectarse por el virus mediante rutas de transmisión comunes. También se realizó un análisis molecular, serológico e histológico de todos los animales infectados, encontrándose replicación del virus y lesiones significativas en varios tejidos, especialmente aquellos del tracto respiratorio (trabajo publicado en la revista *Veterinary Research Communications* [1]).

Uno de los grupos más susceptibles y que, de hecho, contiene una de las especies animales en las que más casos se han reportado a nivel mundial, son los mustélidos, en concreto los visones. En el ámbito de las mascotas, o animales en contacto con humanos, los hurones son los que más incógnitas suscitaron respecto a su susceptibilidad a SARS-CoV-2, el cuadro clínico que los animales podrían presentar y su capacidad de transmisión. Una de las investigaciones desarrolladas en este campo demostró la posibilidad de infección natural por SARS-CoV-2 en hurones cuando la circulación del

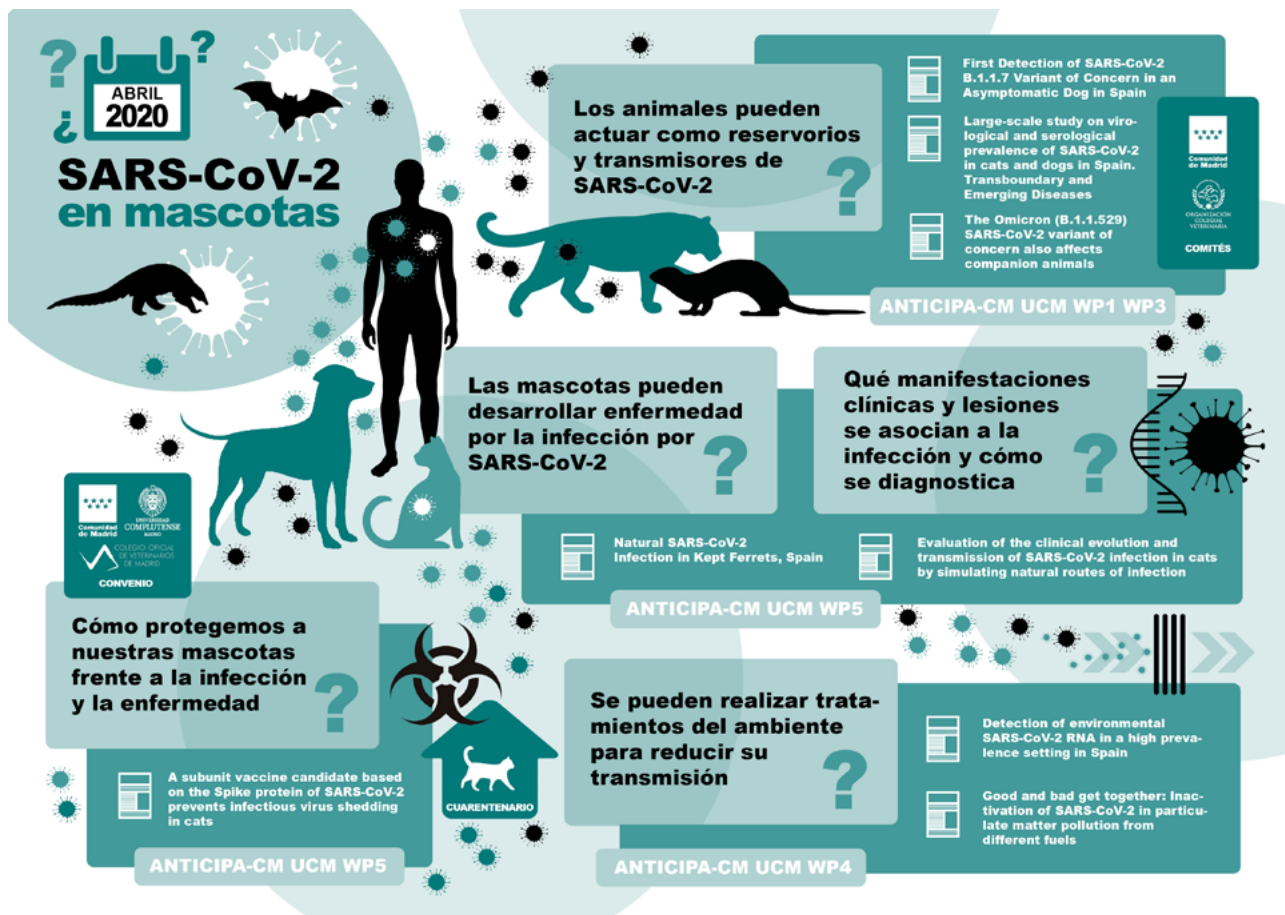


Figura 1. Principales líneas de trabajo relacionadas con COVID-19 en mascotas desarrolladas en el centro VISAVET durante esta pandemia.

virus entre humanos era alta (trabajo publicado en la revista *Emerging Infectious Diseases* [2]).

En el marco del proyecto ANTICIPA UCM, y como continuación de lo desarrollado en el proyecto COV20/01385, se ha realizado un experimento de infección *in vivo* con hurones para evaluar la susceptibilidad y lesiones generadas de manera comparativa entre la variante original de SARS-CoV-2 y la variante Ómicron, cuyos resultados están pendientes de publicación.

¿Cómo se diagnostica en animales?

Como base para poder llevar a cabo todas estas investigaciones y la labor desarrollada en el diagnóstico de COVID-19 en mascotas, se consiguió la puesta a punto y validación de técnicas diagnósticas en animales en un tiempo récord: aislamiento del virus, estudio molecular del virus, detección por PCR, detección por anticuerpos (ELISA) y seroneutralización, así como un sistema de muestreo que permitió la inactivación del virus.

En el campo de la divulgación se ha participado en artículos, entrevistas y congresos con el fin de dar difusión a los resultados obtenidos [11].

¿Pueden las mascotas actuar como reservorios y transmisores de SARS-CoV-2?

La evidencia científica ha puesto de manifiesto que, hasta la fecha, los animales, como el perro y el gato, pueden ser susceptibles a la infección por convivir con personas infectadas por SARS-CoV-2, si bien el número de casos confirmados a nivel internacional ha sido muy poco significativo si se compara con el número de casos descritos de personas propietarias de mascotas.

El proyecto titulado 'Estudio del potencial impacto del COVID-19 en mascotas y lince' (COV20/01385), liderado por el profesor José Manuel Sánchez-Vizcaíno (Centro VISAVET, UCM) y financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación y el Instituto de Salud Carlos III en el que participan 5 centros de investigación (Centro VISAVET-UCM, Facultad de Veterinaria-UCM, Instituto de Salud Carlos III, Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos y la Universidad de Córdoba),

Centros AVEM, Ingenasa y una amplia red de clínicas veterinarias y refugios municipales ha dado respuesta a esta pregunta. Dentro de los objetivos principales del estudio destacaba el de evaluar la presencia del SARS-CoV-2 en animales silvestres (lince) y mascotas (perros, gatos y hurones) y su papel epidemiológico como posible fuente de infección o reservorios a través de un amplio análisis epidemiológico, serológico, virológico y experimental (infección y transmisión) así como realizar un estudio de los mecanismos de infección y transmisión en mascotas y su patología. Respecto al primer objetivo, se estudiaron más de 2.500 animales y se analizaron más de 5.000 muestras de mascotas que habían convivido con personas sanas (no infectadas) o enfermos de COVID. Dentro de este proyecto en la Comunidad de Madrid, se han analizado más de 1.100 muestras para PCR hasta la fecha. Los resultados de este estudio a gran escala, sobre la frecuencia de detección de SARS-CoV-2 y prevalencia serológica en perros y gatos en España, se han materializado en una publicación en la revista *Transboundary and Emerging Diseases* [3]. De manera adicional, la identificación de las variantes de SARS-CoV-2 circulantes en la población de mascotas también era un factor de interés en este campo. La detección de las variantes Delta y Ómicron en animales de compañía ha dado lugar a la publicación de artículos en las revistas *Viruses* [4] y *Frontiers in Veterinary Science* [5 y 6], respectivamente. La labor desarrollada ha podido darse continuidad en el proyecto ANTICIPA UCM.

De manera adicional y con el fin de dar respuesta a esta pregunta, desde abril de 2020, cuando se constituyó el Comité COVID-19 de mascotas de la Comunidad de Madrid, se han seguido realizando esfuerzos para obtener datos fiables y actualizados, tanto de casos sospechosos como confirmados, que permitan tener una visión completa sobre la epidemiología de SARS-CoV-2 en las mascotas de la región. En el campo de la prevención y la gestión, en junio de 2020 se firmó un convenio de colaboración entre la Comunidad de Madrid, el Colegio Oficial de Veterinarios de Madrid y la Universidad Complutense de Madrid, a través del Centro VISAVET, para promover medidas de sanidad animal y protección de las mascotas en el contexto de la pandemia generada por el COVID-19. Entre otras labores, dicho Comité abordó el análisis desde una perspectiva científica, así como anticiparse, en caso de ser necesario, a posibles escenarios futuros que pudieran afectar a las mascotas. Así mismo, se elaboró un protocolo de actuación para la toma de muestras, asistencia y seguimien-

to de casos susceptibles, sospechosos y confirmados entre la población animal de la Comunidad. El Centro VISAVET era el encargado de realizar los análisis laboratoriales oficiales en casos sospechosos de infección por SARS-CoV-2 en mascotas. Debido al éxito de este comité se ha renombrado como Comité Veterinario de Zoonosis y enfermedades emergentes con capacidad para asesorar a la autoridad competente ante las nuevas alarmas, habiendo ya demostrado su utilidad en las dos últimas alertas sanitarias, la de la viruela del mono y la de la enfermedad del Nilo Occidental. Además, diferentes miembros del grupo de investigación han formado parte de otros Comités relacionados como el Comité del Consejo General de Colegios Veterinarios.

¿Cómo se puede proteger a las mascotas frente a la infección de SARS-CoV-2 y la enfermedad?

Además de las medidas de manejo y prevención propuestas por parte de diferentes autoridades, como el protocolo de actuación para la toma de muestras, asistencia y seguimiento de casos susceptibles, sospechosos y confirmados entre la población animal de la Comunidad de Madrid, existía un interés sobre el estudio de nuevas aproximaciones para la prevención de COVID-19 en mascotas en caso de que fuera necesario. En el marco del proyecto COV20/01385 y su continuación con el proyecto ANTICIPA UCM se han evaluado diferentes propuestas inmunológicas para el control de coronavirus en mascotas.

Por ejemplo, se realizó un estudio en el que se evaluó un prototipo vacunal frente al virus SARS-CoV-2 en gatos. Dicho prototipo vacunal consistió en una vacuna de subunidades basada en la proteína de la espícula del virus (*Spike*, S). Este prototipo produjo una fuerte respuesta inmunitaria basada en anticuerpos neutralizantes en los gatos vacunados y fue efectivo para evitar la secreción del virus infeccioso por parte de los animales vacunados. Los resultados de este trabajo se han recogido en un artículo científico publicado en la revista *Research in Veterinary Science* [7].

En el campo de los adyuvantes y la inmunidad entrenada, se ha realizado un experimento de infección *in vivo* con ratones modificados genéticamente (k18-hACE2) para evaluar el efecto de dos adyuvantes inoculados por diferentes vías (oral e intravenosa) frente a la infección por SARS-CoV-2 a nivel de mortalidad, morbilidad, sintomatología, lesiones, etc. Los resultados de este experimento se encuentran en proceso de análisis.

Tratamiento del ambiente contra la transmisión de SARS-CoV-2

Especialmente en los primeros meses de pandemia, existía una gran preocupación acerca del papel que el ambiente (mejor dicho, la contaminación ambiental) podía jugar en la transmisión de SARS-CoV-2. Una vez se demostró que la principal vía de transmisión de este coronavirus era la aerógena, las principales líneas de estudio se centraron en:

1. El análisis de cómo el medio ambiente podía ser empleado como una fuente de información, por ejemplo, para poner de manifiesto la presencia y circulación del virus, es decir, la utilidad de los muestreos ambientales en la lucha contra este coronavirus. Un ejemplo de esta aproximación se encuentra en la publicación de la revista *Transboundary and Emerging Diseases* [8] sobre la detección ambiental del RNA de SARS-CoV-2 en una zona de alta prevalencia en España.
2. La evaluación de sistemas de tratamiento de inactivación ambiental. Para ello, en el marco de la colaboración en el proyecto 'PHOTO vs. SARS CoV-2. Validación del equipo SFEG-Aire Limpio frente a COVID-19', se ha realizado la evaluación de un equipo de filtración frente al SARS-CoV-2. Mediante un ensayo de aerosol y recuperación del virus, se demostró que el equipo inactivaba de manera efectiva el virus durante las distintas etapas de filtración.
3. El efecto de la contaminación ambiental en el mantenimiento de la capacidad infectiva del virus. Se evaluó la persistencia y capacidad infectiva del SARS-CoV-2 en partículas contaminantes (combustibles y material particulado atmosférico asociado). El virus permanece infectivo en las partículas contaminantes del aire, pero es inactivado por las partículas del combustible. Sin embargo, aunque las partículas del combustible inactivan el SARS-CoV-2, la conclusión del estudio es que tanto las partículas atmosféricas contaminantes como el escape de los motores tienen un impacto negativo en la salud humana con implicaciones para el COVID-19 y otras enfermedades. La información sobre este estudio se puede ampliar en la publicación de la revista *Science of the total environment* [9].

En el ámbito de las actividades futuras, los estudios no se han interrumpido y continúan los trabajos en las siguientes líneas:

1. Estudios de inmunoprotección basados fundamentalmente en la cooperación de la inmunidad innata y adquirida, que además pueda ser aplicada a otros patógenos.
2. Estudios de factores predisponentes que incrementen la severidad de la infección, aplicables así mismo a otros agentes con actividad proinflamatoria.
3. Estudio de fármacos que limiten la gravedad de estos agentes con actividad proinflamatoria.
4. Continuar participando en el Comité Veterinario de Zoonosis y Enfermedades Emergentes en colaboración con la Consejería de Medio Ambiente de la Comunidad de Madrid y el Colegio de Veterinarios de Madrid dotándole de una mayor capacidad de actuación y de análisis y prevención de riesgos futuros.

VISAVET: laboratorio de contención biológica clave en la lucha contra la pandemia de COVID-19

La gestión de la pandemia de COVID-19 requería una información sobre el estado infectivo de la población que inicialmente chocó con la saturación de sistemas sanitarios y su capacidad diagnóstica. En este escenario surgieron iniciativas de apoyo diagnóstico como la del Laboratorio COVID-19 de la Universidad Complutense de Madrid, una red de laboratorios dedicados a la realización de pruebas PCR para la detección del virus, que centró su actividad en analizar muestras procedentes de residentes y trabajadores de las residencias de la Comunidad de Madrid. En esta red de laboratorios, así como en el desarrollo del programa informático CompluPCR impulsado por el Vicerrectorado de Tecnología y Sostenibilidad de la Universidad Complutense de Madrid participó VISAVET con objeto de contar con un software libre disponible para redes de laboratorios de análisis por PCR de SARS-CoV-2.

El centro VISAVET formó parte de esta red de laboratorios para el diagnóstico de COVID-19 como infraestructura de especial relevancia en su vertebración, al contar con instalaciones de contención biológica de nivel 3 (BSL-3) donde se pudo centralizar la extracción de material genético de las muestras para su posterior análisis por PCR y validación diagnóstica en otros laboratorios de la red.

Sin embargo, la capacitación para el desarrollo de estas actividades no solo dependió de las características de

biocontención de las instalaciones, siendo de vital importancia poder contar con el personal técnico cualificado necesario y el cumplimiento de unas prácticas de laboratorio de acuerdo con el manual de calidad y bioseguridad del centro, capacidades que permiten la acreditación bajo normas estrictas de calidad y que garantizan la validez de sus resultados diagnósticos.

VISAVET se constituyó como punto de recepción de las muestras biológicas, registrando su entrada mediante un sistema de gestión de la información LIMS (*Laboratory Information Management System*), integrado en el sistema de calidad, que dio soporte al flujo de datos de los análisis de COVID-19, desde la recepción de las muestras hasta la emisión de los informes de resultados. Este sistema era compatible con los entornos de trabajo que requieren las instalaciones de contención biológica y procedimientos de bioseguridad y bioprotección, y su arquitectura flexible permitió su disposición remota a los distintos laboratorios participantes de la red con el fin de centralizar la información relativa a los análisis realizados a las muestras, los resultados obtenidos y el posterior tratamiento de datos. Este desarrollo ha ayudado, asimismo, a los procesos que garantizan la calidad de los análisis realizados, disponiendo de referencias únicas que permiten la trazabilidad de los datos en todo momento, minimizando los posibles errores en la transcripción de las mismas y permitiendo un flujo anonimizado de datos que permite la confidencialidad de estos.

El Laboratorio COVID-19 de la Universidad Complutense de Madrid realizó en casi tres meses análisis a residentes y empleados de más de 200 centros residenciales que remitieron más de 30.000 muestras para su análisis y se remitieron más de 700 informes de resultados.

Por otro lado, las infraestructuras capacitan al centro para su subcontratación en la realización de otros proyectos de investigación relacionados, como, por ejemplo, con el tratamiento de la enfermedad mediante el uso de ensayos preclínicos en animales.

En relación con las actividades de diagnóstico del Laboratorio COVID-19 UCM se ha participado con diferentes artículos y comunicaciones en medios de divulgación [11].

Docencia y divulgación sobre COVID-19

La labor docente y divulgativa desarrollada en esta pandemia constituyen elementos clave en la transmisión de información a la sociedad que se han materializado en la organización y participación en cursos, seminarios o la publicación de artículos divulgativos o entrevistas en medios de comunicación.

Dentro de la actividad de formación destacan los siguientes cursos:

- Curso epidemias, zoonosis y pandemias. Una visión holística “*One Health*”. Cursos de verano de la Universidad Complutense. Edición 2021. El Escorial, 7-9 julio de 2021. (Organizado).
- Curso *One Health*: coronavirus, animales y humanos. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Madrid. 3 de octubre de 2022. (Participación).

Respecto a la actividad de divulgación, esta se inició de forma paralela a las primeras noticias de la enfermedad y ha sido continuada hasta la fecha comprendiendo la publicación de artículos, entrevistas, participación en congresos y seminarios [11].

Bibliografía

1. Barroso-Arévalo S*, Sánchez-Morales L, Barasona JA, Rivera B, Sánchez R, Risalde MA, Argullo-Ros I, Sánchez-Vizcaíno JM. Evaluation of the clinical evolution and transmission of SARS-CoV-2 infection in cats by simulating natural routes of infection. *Veterinary Research Communications*, 46(3):837-852. 2022. ISSN: 0165-7380. DOI: 10.1007/s11259-022-09908-5.
2. Gortazar C*, Barroso-Arévalo S, Ferreras-Colino E, Isla J, de la Fuente G, Rivera B, Domínguez L, de la Fuente J, Sánchez-Vizcaíno JM. Natural SARS-CoV-2 Infection in Kept Ferrets, Spain. *Emerging Infectious Diseases*, 27:7. 2021. ISSN: 1080-6040. DOI: 10.3201/eid2707.210096.
3. Barroso-Arévalo S*, Barneto A, Ramos AM, Rivera B, Sánchez R, Sánchez-Morales L, Pérez-Sancho M, Buendía A, Ferreras E, Ortiz-Menendez JC, Moreno I, Serres C, Vela C, Risalde MA, Domínguez L, Sánchez-Vizcaíno JM. Large-scale study on virological and serological prevalence of SARS-CoV-2

- in cats and dogs in Spain. *Transboundary and Emerging Diseases*, 69(4):e759-e774. 2022. ISSN: 1865-1674. DOI: 10.1111/tbed.14366.
4. Barroso-Arévalo S*, Rivera B, Domínguez L, Sánchez-Vizcaíno JM. First Detection of SARS-CoV-2 B.1.1.7 Variant of Concern in an Asymptomatic Dog in Spain. *Viruses*, 13(7):1379. 2021. ISSN: 1999-4915. DOI: 10.3390/v13071379.
 5. Barroso-Arévalo S*, Sánchez-Morales L, Pérez-Sancho M, Domínguez L, Sánchez-Vizcaíno JM. First Detection of SARS-CoV-2 B.1.617.2 (Delta) Variant of Concern in a Symptomatic Cat in Spain. *Frontiers in veterinary science*, 9:841430. 2022. ISSN: 2297-1769. DOI: 10.3389/fvets.2022.841430.
 6. Sánchez-Morales L*, Sánchez-Vizcaíno JM, Pérez-Sancho M, Domínguez L, Barroso-Arévalo S. The Omicron (B.1.1.529) SARS-CoV-2 variant of concern also affects companion animals. *Frontiers in veterinary science*, 9:940710. 2022. ISSN: 2297-1769. DOI: 10.3389/fvets.2022.940710.
 7. Barroso-Arévalo S, Sánchez-Morales L, Domínguez M, García-Seco T, Riscalde MA, García-Bocanegra I, Domínguez L, Sánchez-Vizcaíno JM. A subunit vaccine candidate based on the Spike protein of SARS-CoV-2 prevents infectious virus shedding in cats. *Research in Veterinary Science*, 148:52-64. 2022. ISSN: 0034-5288. DOI: 10.1016/j.rvsc.2022.05.003.
 8. Fernández de Mera IG, Rodríguez del Río FJ, de la Fuente J, Pérez-Sancho M, Hervás D, Moreno I, Domínguez M, Domínguez L, Gortázar C*. Detection of environmental SARS-CoV-2 RNA in a high prevalence setting in Spain. *Transboundary and Emerging Diseases*, 68(3):1487-1492. 2021. ISSN: 1865-1674. DOI: 10.1111/tbed.13817.
 9. De la Fuente J*, Armas O, Barroso-Arévalo S, Gortázar C, García-Seco T, Buendía A, Villanueva F, Soriano JA, Mazuecos L, Vaz-Rodrigues R, García-Contreras R, García A, Monsalve-Serrano J, Domínguez L, Sánchez-Vizcaíno JM. Good and bad get together: Inactivation of SARS-CoV-2 in particulate matter pollution from different fuels. *Science of the total environment*, 844:157241. 2022. ISSN: 0048-9697. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2022.157241.
 10. Gortázar C, Rodríguez del Río FJ, Domínguez L, de la Fuente J. Host or pathogen-related factors in COVID-19 severity? *The Lancet*, 396(10260):1396-1397. 2020. ISSN: 0140-6736. Impact factor: 79.321. Category: Medicine, General & Internal, Quartile: 1, Position: 2 of 169. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)32215-7.
 11. VISAVET. Comunicaciones y artículos de divulgación sobre COVID-19 en otros medios http://www.visavet.es/data/prensa/Divulgacion_COVID-19_VISAVET_Enero-2023.pdf