

Infección antropogénica en gatos domésticos con SARS-CoV-2 variante alfa Linaje B.1.1.7 en Buenos Aires.

MALACARI Dario ², PECORA Andrea ¹, MOZGOVOJ Marina ^{3,4}, DIAZ María de los Ángeles ⁵, PERALTA Andrea ⁶, CACCIABUE Marco ⁶, PUEBLA Andrea ⁶, CARUSSO Cristian ⁷, MUNDO Silvia ⁷, GONZALEZ LOPEZ Maria ⁸, GAMARNIK Andrea ⁸, RINALDI Osvaldo ⁹, VIDAL Osvaldo ⁹, MAS Javier ^{2,10} y DUS SANTOS María José ^{1,3}.

¹, CyCV, Instituto de Virología, INTA, CONICET. ², Diagnogen S.A., Buenos Aires, Argentina. ³, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. ⁴ Centro de Agroindustria, Instituto de Ciencia y Tecnología de Sistemas Alimentarios Sustentables, INTA, CONICET.

⁵, Secretaria de Salud de la Municipalidad de la Matanza, Ministerio de Salud, Buenos Aires, Argentina. ⁶, CyCV, Instituto de Virología, INTA, CONICET. ⁷, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. ⁸, Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Buenos Aires (IIBBA, CONICET-Fundación Instituto Leloir), Buenos Aires, Argentina. ⁹, Veterinaria Rinaldi Vidal, Buenos Aires, Argentina. ¹⁰, Diagnostest SRL, Buenos Aires, Argentina

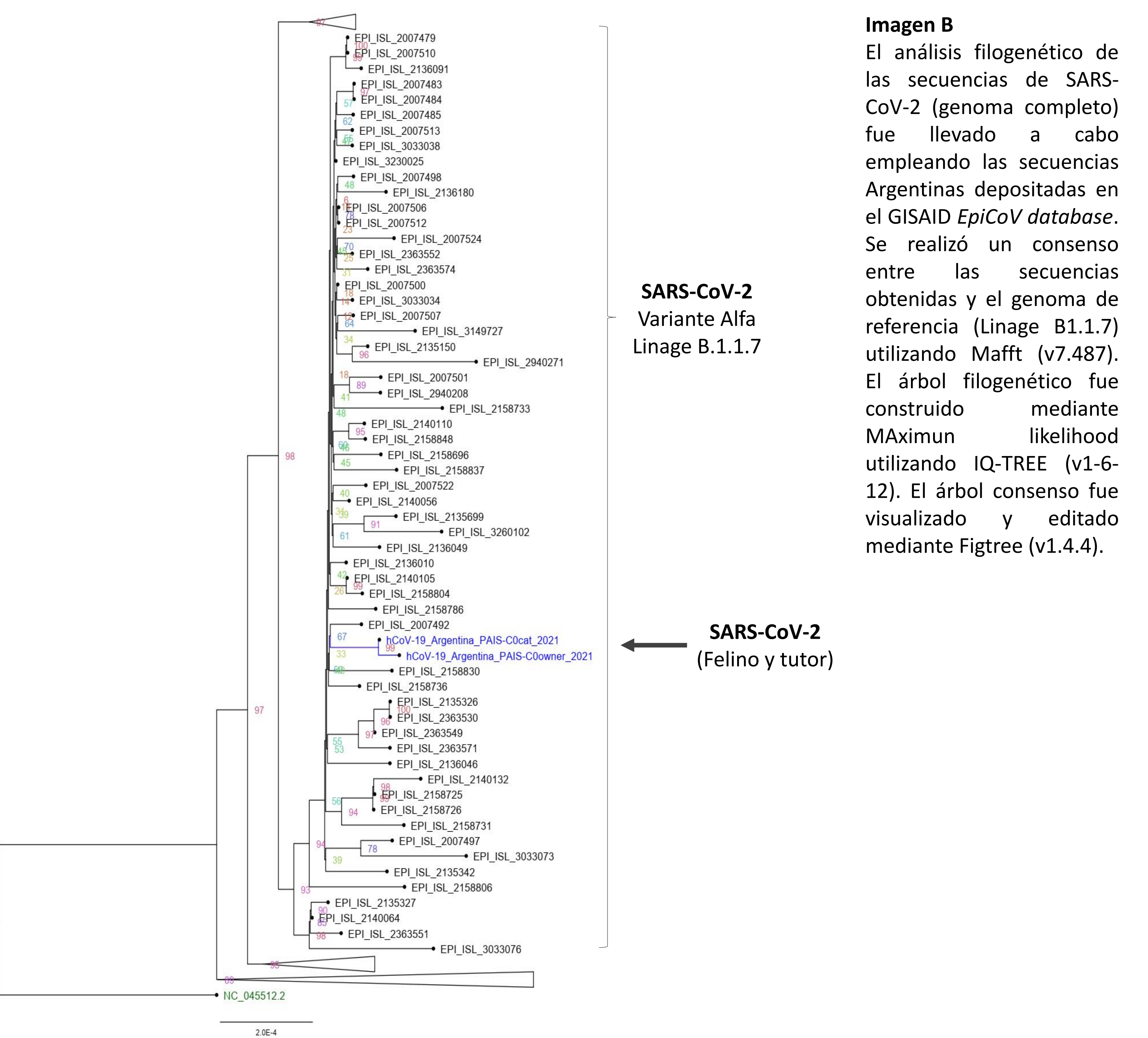
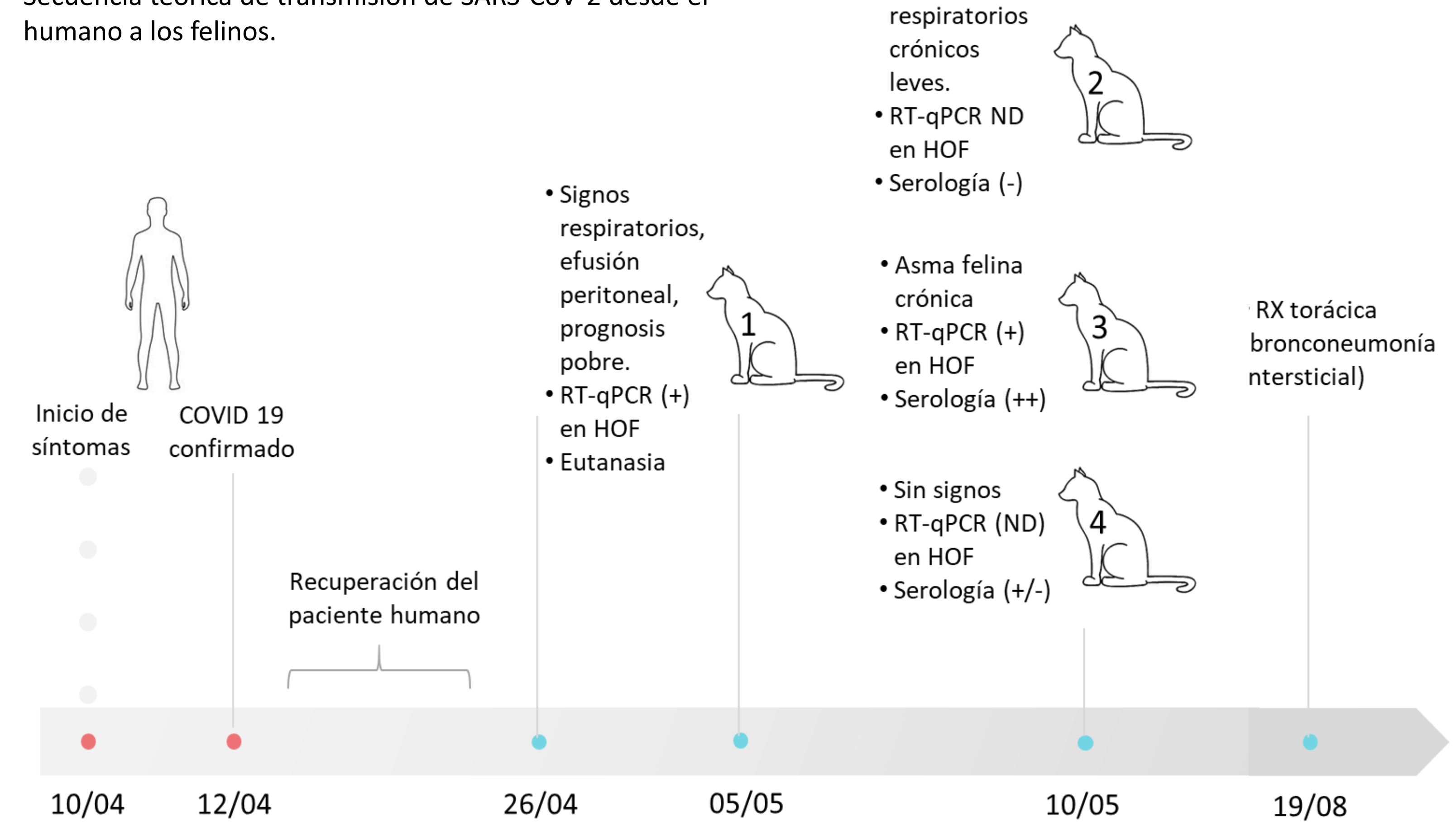
INTRODUCCIÓN. SARS-CoV-2 es un coronavirus emergente del género Betacoronavirus causante de la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19). La pandemia provocada por el SARS-CoV-2 ha llegado a casi todos los países del mundo con una extraordinaria tasa de transmisión de persona a persona (1). Los *Betacoronavirus* tiene una amplia gama de huéspedes incluyendo diferentes grupos de vertebrados pudiendo, eventualmente, cruzar las barreras de especies generando eventos de *spillover*, causando importantes enfermedades infecciosas respiratorias, entéricas y sistémicas (2), (3). Se ha reportado que los animales salvajes y de compañía son susceptibles a la infección por SARS-CoV-2. Por esta razón, aunque la transmisión de persona a persona es la principal forma de propagación del virus, existe una creciente preocupación con respecto a las zoonosis inversas, particularmente en el papel potencial que los animales de compañía infectados podrían jugar en la perpetuación de la propagación de la enfermedad (4). En este trabajo, se describe la infección natural de dos gatos por SARS-CoV-2, en Argentina, cuyo dueño había sido infectado previamente por SARS-CoV-2. Se identificó la variante alfa (linaje B.1.1.7) con una única mutación adicional, lo que sugiere fuertemente la ruta de transmisión de humano a gato.

MATERIALES Y MÉTODOS. Caso Clínico Humano; el 10 de abril, un hombre de 39 años con malestar general, tos, fiebre, dolor de cabeza y anosmia (signos clínicos consistentes de COVID-19) fue muestreado para el diagnóstico de SARS-CoV-2 en un nosocomio de la Zona Oeste del Gran Buenos Aires. Manifestó no presentar comorbilidades ni haber sido vacunado contra el SARS-CoV-2. El hombre compartía un departamento con su familia (ubicado en un distrito al oeste de Zona Metropolitana de Buenos Aires) con cuatro mascotas felinas. Caso Clínico Animal; el caso de estudio animal comprende 4 felinos, común europeo, quienes cohabitan la vivienda en estrecho contacto con los humanos. El examen físico implicó examen objetivo general (EOG), auscultación, palpación, temperatura rectal, grado de deshidratación y examen de mucosas y por otro lado se realizaron estudios complementarios, incluyendo radiografías torácicas y ecografía. Se realizó hisopado nasofaríngeo y orofaríngeo utilizando hisopos de dacron y medio de transporte para el posterior estudio molecular. Se tomaron muestras de sangre con EDTA para el posterior análisis serológico. Estudios complementarios. Se realizó la determinación de anticuerpos anti SARS-CoV-2 mediante ELISA y seroneutralización viral. La detección de SARS-CoV-2 de las muestras de hisopados de los felinos se realizó mediante RT-qPCR diseñada para amplificar la región ORF del SARS-CoV-2 (GENESIG), según las instrucciones del fabricante. La PCR detecta SARS-CoV-2 pero no otros coronavirus. Las muestras de hisopados que resultaron positivas, tanto para los humanos como los felinos, fueron sometidas a secuenciación y a un análisis filogenético.

RESULTADOS. El 26 de abril, el Gato N°1, macho castrado de 2 años de edad, presentó leve letargia por lo que fue trasladado a la clínica veterinaria. El EOG mostró 39,9 ° C de temperatura rectal y se palpó una masa en el mesogastrio. Se realizó un estudio ecográfico el cual mostró efusión peritoneal, se recuperó ese material y se realizó una RT-qPCR (Diagnogen S.A.) para descartar Coronavirus Felino, a su vez se confirmó la infección por SARS-CoV-2 por RT-qPCR en tiempo real de hisopado orofaríngeo. Tres días después los signos clínicos se agudizaron y el pronóstico fue desfavorable, teniendo varios parámetros en cuenta y por criterio del profesional a cargo se decidió realizar la eutanasia. Teniendo en cuenta lo ocurrido con el Gato N°1, en mayo y en junio el veterinario examinó a los demás gatos que compartían el mismo ambiente (N°2, N°3 y N°4). Los gatos 2 y 4 mostraron buen estado general, los hisopados realizados en estos felinos resultaron “no detectable” a la detección de SARS-CoV-2 mediante RT-qPCR. El gato N°3 también tenía un buen estado general, pero presentaba tos seca (asma felina) la cual persistió hasta el 19 de agosto, el estudio de RT-qPCR para SARS-CoV-2 resultó “Detectable” para este felino. Teniendo en cuenta estos resultados se decidió realizar un estudio radiológico al gatito N°3. El examen mostró un patrón bronquial e intersticial marcado en la zona diafragmática compatible con bronconeumonía intersticial. Este patrón ya había sido descrito por otros investigadores en gatos infectados con SARS-CoV-2 variante alfa. Para los Gatos N° 2, N° 3 y N° 4, se obtuvieron muestras de suero del día 30 y 56 después del inicio de los síntomas en el paciente humano y se realizó detección de anticuerpos anti-proteína *Spike* mediante ELISA y ensayo de seroneutralización viral. Se observó que los gatos N°2 y N°4 no presentaron una respuesta humoral detectable contra SARS-CoV-2 mientras que el gato N°3 presentó una fuerte respuesta de anticuerpos. Por otro lado. Las muestras de los tres gatos resultaron no reactivas a la detección de anticuerpos anti Coronavirus Felino realizado mediante inmunocromatografía lateral descartando de esta manera el posible cruzamiento entre anticuerpos de ambos virus. La secuenciación del genoma completo de SARS-CoV-2 de las muestras de hisopados del gato N°3 y del humano permitió caracterizar al virus detectado como variantes Alfa (linaje B1.1.7), además se observó una mutación adicional, la C22997A, que produce el cambio de aminoácido P479T en la glicoproteína *Spike*. El árbol filogenético determinó que las muestras del gato N°3 y del humano están estrechamente relacionadas.

DISCUSIÓN. Este trabajo describe un evento de zoonosis inversa ocurrido entre un humano y dos gatos domésticos en la zona oeste del Área Metropolitana de Buenos Aires. En este caso en particular, los gatos del estudio presentaban signos respiratorios preexistentes como comorbilidad, probablemente por enfermedades o deficiencias nutricionales sufridas antes de su adopción. Esta condición pudo haber predisposto a los gatos a infectarse con SARS-CoV-2. Los análisis filogenéticos determinaron que el humano y el gato N°3 se infectaron con la variante Alfa (linaje B.1.1.7) de SARS-CoV-2, la cual se encontraba circulando en la zona donde ocurrió este caso. Aún se desconoce el efecto de las variantes descritas en animales, en términos de transmisibilidad, gravedad de la enfermedad y patogénesis. La presencia de SARS-CoV-2 en mascotas también fue indirectamente identificado en varios estudios, mediante la detección de anticuerpos específicos contra la proteína *Spike* o anticuerpos neutralizantes. En este trabajo, la muestra de sangre del gato N°3 presentó una fuerte reactividad en la técnica de ELISA utilizada y una clara inducción de anticuerpos anti-*spike*. Las mascotas que habitaban la casa eran gatos callejeros adoptados que eran adultos en el momento de este estudio, y tres de ellos tenían signos respiratorios crónicos preexistentes como comorbilidad. El gato N°1 fue el primero en mostrar unos síntomas compatibles con COVID-19, y se confirmó la presencia del SARS-CoV-2. Unos días más tarde, el gato N°2 y N°3 mostraron signos clínicos leves, y por otro lado, este último mostró un resultado positivo claro a RT-qPCR de SARS-CoV-2. Es importante mencionar que 101 días después de este resultado, se realizó un estudio radiográfico al gato N°3 el cual mostró bronconeumonía intersticial, esto también fue observado por Zoccola y col., 2021 (5) en un gato infectado con SARS-CoV-2 variante alfa. Teniendo en cuenta que los cuatro gatos habían estado en estrecho contacto entre sí, y la convivencia con el propietario quien presentó la infección en una primera instancia, la posibilidad de transmisión entre el gato N°1 y el N°3 no puede ser descartada. La transmisión de gato a gato es factible a través del contacto directo o aerosoles, lo que se ha demostrado en infecciones experimentales (6 - 10).

Imagen A
Secuencia teórica de transmisión de SARS-CoV-2 desde el humano a los felinos.



CONCLUSIÓN. Teniendo en cuenta el impacto de la actual pandemia de COVID-19 y la notoria relevancia de los animales en la epidemiología de coronavirus (*spill-over*, salto entre especies y características zoonóticas), el concepto “Una salud”, ahora más que nunca, se vuelve extremadamente importante. Los servicios de Salud Pública y Medicina Veterinaria deben compartir información y trabajar juntos integrando perspectivas humanas, animales y ambientales para abordar futuros problemas de salud.

BIBLIOGRAFÍA
(1) Zhou P, Yang X, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. (2020) 579:270–3. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7 (2) Saif LJ. Animal coronaviruses: what can they teach us about the severe acute respiratory syndrome? *Rev Sci Tech*. (2004) 23:643–60. doi: 10.20506/rst.23.2.1513 (3) Corman VM, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill*. (2020) 25:2000045. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045 (4) Leroy EM, Ar Gouilh M, Brugère-Picoux J. 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*. (2020) 10:100133. doi: 10.1016/j.onehlt.2020.100133 (5) Zoccola R, Beltramo C, Magris G, Peletto S, Acutis P, Bozzetta E, et al. First detection of an Italian human-to-cat outbreak of SARS-CoV-2 Alpha variant - lineage B.1.1.7. *One Health*. (2021) 13:100295. doi: 10.1016/j.onehlt.2021.100295 (6) Shi J, Wen Z, Zhong G, Yang H, Wang C, Huang B, et al. Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS-coronavirus 2. *Science*. (2020) 368:1016–20. doi: 10.1126/science.abb7015. (7) Halfmann PJ, Hatta M, Chiba S, Maemura T, Fan S, Takeda M, et al. Transmission of SARS-CoV-2 in Domestic Cats. *N Engl J Med*. (2020) 383:592–4. doi: 10.1056/NEJMc2013400 (8) Bosco-Lauth AM, Hartwig AE, Porter SM, Gordy PW, Nehring M, Byas AD, et al. Experimental infection of domestic dogs and cats with SARS-CoV-2: pathogenesis, transmission, and response to reexposure in cats. *Proc Natl Acad Sci USA*. (2020) 117: 26382–8. doi: 10.1073/pnas.2013102117 (9) Gaudreault NN, Trujillo JD, Carossino M, Meekins DA, Morozov I, Madden DW, et al. SARS-CoV-2 infection, disease and transmission in domestic cats. *Emerg Microbes Infect*. (2020) 9:2322–32. doi: 10.1080/221.2020.3687 (10) Lakdawala SS, Menachery VD. The search for a COVID-19 animal model: a comparison of SARS-CoV-2 replication, transmission, and disease in mice to monkeys. *Science*. (2020) 368:942–3. doi: 10.1126/science.abc6141