Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado
Facultad de Medicina Veterinaria
Unidad de Posgrado

Identificación de especies de coronavirus en primates no humanos procedentes de centros de rescate de la Amazonía peruana

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Ciencias Veterinarias con mención en Medicina y Cirugía Animal

AUTOR

Andrea Alejandra TAVERA GONZALES

ASESOR

Dr. Abelardo Lenin MATURRANO HERNÁNDEZ

Lima, Perú

2025



Reconocimiento − No Comercial − Compartir Igual − Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Tavera A. Identificación de especies de coronavirus en primates no humanos procedentes de centros de rescate de la Amazonía peruana [Tesis de maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Unidad de Posgrado; 2025.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Andrea Alejandra Tavera Gonzales
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	72786763
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-5581-0823
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Abelardo Lenin Maturrano Hernandez
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	15725076
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0001-8819-7335
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Dennis Alexander Navarro Mamani
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	70444236
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Roberto Kosmas Elias Piperis
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	25772131
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Gladis Susana Atias Vasquez
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	05391049

Datos de investigación

Línea de investigación	A.1.3.1. Salud Pública B.4.1.5. Microbiología y parasitología veterinaria B.4.1.9. Patología clínica y biología molecular B.4.4.1. Medicina Veterinaria preventiva
Grupo de investigación	Biotecnología aplicada a la conservación, sanidad y producción animal – SANIGEN
Agencia de financiamiento	Perú. Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (CONCYTEC). Programa Nacional de Investigación Científica y Estudios Avanzados (PROCIENCIA). Contrato N°076-2021FONDECYT.
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Estación Biológica de la Isla Muyuy. Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura – Iquitos. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. País: Perú Departamento: Loreto Provincia: Maynas Distrito: Fernando Lores Latitud: -3.862375375031175 Longitud: -73.19190470198737 Edificio: Estación Biológica de Padre Isla. Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura – Iquitos. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. País: Perú Departamento: Loreto Provincia: Maynas Distrito: Belén Centro poblado: Padre Isla Latitud: -3.685636799243024 Longitud: -73.180904700296

	Edificio: Laboratorio de Microbiología. Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura – Iquitos. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. País: Perú Departamento: Loreto Provincia: Maynas Distrito: San Juan Bautista Calle: Av. Guardia Republicana 85 Latitud: -3.7715567900052167 Longitud: -73.27418384314748 Edificio: Laboratorio de Biología y Genética Molecular. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: San Borja Calle: Av. Circunvalación 2800 Latitud: -12.081202380563496 Longitud: -76.98825552784876
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Agosto 2022 - Febrero 2023
URL de disciplinas OCDE	Ciencia Veterinaria https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#4.03.01 Tecnología para la identificación y funcionamiento del ADN, proteínas y enzimas y como influencian la enfermedad https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.04.03 Salud Pública, Salud Ambiental https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.03.05

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Medicina Veterinaria
UNIDAD DE POSGRADO

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE MAGÍSTER EN CIENCIAS VETERINARIAS CON MENCIÓN EN MEDICINA Y CIRUGÍA ANIMAL

En la Sala de Posgrado de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, siendo las 12:00 horas del día lunes 10 de febrero del 2025, el Jurado de Tesis de Grado de Magíster presidido por el Mg. Dennis Alexander Navarro Mamani y conformado por los siguientes miembros docentes: Mg. Gladis Susana Atías Vásquez , Mg. Roberto Kosmas Elías Piperis y el Dr. Abelardo Lenin Maturrano Hernández (asesor), se dio inicio a la sustentación oral y pública de la Tesis titulada:

"IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE CORONAVIRUS EN PRIMATES NO HUMANOS PROCEDENTES DE CENTROS DE RESCATE DE LA AMAZONÍA PERUANA", presentado por la Bachiller en Medicina Veterinaria:

ANDREA ALEJANDRA TAVERA GONZALES

Quien sustentó la Tesis para obtener el Grado Académico de Magíster en Ciencias Veterinarias con mención en Medicina y Cirugía Animal y absolvió satisfactoriamente las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado y practicada la votación obtuvo la calificación de:

MUY BUENO, (17) DIECISIETE

A continuación, el Jurado por intermedio de su Presidente recomendó a la Unidad de Posgrado de la Facultad de Medicina Veterinaria, proponga el otorgamiento del Grado Académico de Magíster en Ciencias Veterinarias con mención en Medicina y Cirugía Animal, a la Bachiller en Medicina Veterinaria Andrea Alejandra Tavera Gonzales.

Siendo las 13:33 horas del día lunes 10 de febrero de 2025, se dio por concluido el acto académico, suscribiéndose la presente Acta.

Mg. Dennis Alexander Navarro Mamani (P.Ax.D.E.)
Presidente

Mg. Gladis Susana Atías Vásquez (P.A.T.C.)
Miembro

Mg. Roberto Kosmas Elías Piperis
Miembro

Dr. Abelardo Lenin Maturrano Hernández (P.P.D.E)
Miembro Asesor

Dr. César Miguel Gavidia Chucán (P.P.D.E.)
Director de la Unidad de Posgrado

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE
SAN MARCOS
Universidad del Perú, Decana de América

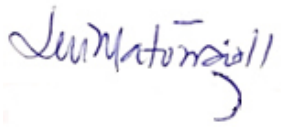
CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, Abelardo Lenin Maturrano Hernández en mi condición de asesor acreditado con el Dictamen N°000028-2025-UPG-VDIP-FMV/UNMSM de la tesis, cuyo título es "**IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE CORONAVIRUS EN PRIMATES NO HUMANOS PROCEDENTES DE CENTROS DE RESCATE DE LA AMAZONÍA PERUANA**", presentado por la Bachiller Andrea Alejandra Tavera Gonzales para optar el Grado Académico de Magister en Ciencias Veterinarias con mención en Medicina y Cirugía Animal.

CERTIFICO que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante la plataforma PIDS, el documento evaluado cuenta con el 5% de similitud, nivel **PERMITIDO** para continuar con los trámites correspondientes y para su **publicación en el repositorio institucional.**

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del Grado Académico de Magíster en Ciencias Veterinarias con mención en Medicina y Cirugía Animal.

Lima, 09 de setiembre de 2026

Firma del Asesor: 

Nombres y Apellidos del asesor: Abelardo Lenin Maturrano Hernández

DNI: 15725076

La vigencia del presente certificado corresponde a un periodo de noventa (90) días desde la fecha de su emisión; siempre que no haya observaciones en el texto durante el proceso de revisión por el jurado informante o surja alguna contingencia.

Dedicatoria

A mi papá Nando y mi mamá Carmen,
a quienes siempre dedicaré cualquier logro que pueda conseguir.

Agradecimientos

Al Dr. Lenin Maturrano, por haber creído en mí y haber sido mi asesor y guía en la realización de este proyecto.

Al Dr. Luis Luna, el Dr. Jhonathan Bazalar y a todo el equipo de UBIGEM del Laboratorio de Biología y Genética Molecular de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, quienes me ayudaron activamente en la realización y culminación de esta investigación.

A mi familia y amigos, por ser mi apoyo y fuente de seguridad.

A Sebastián, por ser invaluable y motivarme constantemente a seguir avanzando.

Este trabajo fue financiado por PROCIENCIA-CONCYTEC en el marco de la convocatoria Proyecto Investigación Básica 2021-01 [Convenio N° 076-2021-FONDECYT].





Índice

Dedicatoria 2
Agradecimientos 3
ABREVIATURAS 6
LISTA DE CUADROS 8
LISTA DE FIGURAS 9
LISTA DE ANEXOS 11
RESUMEN 12
ABSTRACT 13
I. INTRODUCCIÓN 14
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA 16
II.1. Agente causal 16
II.2. Taxonomía y clasificación 17
II.3. Morfología y estructura viral 20
II.4. Ciclo de replicación 21
II.5. Huésped 22
II.5.1. Factores del huésped 22
II.5.2. Coronavirus en humanos 23
II.5.3. Coronavirus en los vacunos 24
II.5.4. Coronavirus en dromedarios y camélidos 24
II.5.5. Coronavirus en equinos 25
II.5.6. Coronavirus en suinos 25
II.5.7. Coronavirus en felinos 25
II.5.8. Coronavirus en caninos 26
II.5.9. Coronavirus en primates no humanos 27
II.6. Patogenia 29
II.7. Signos clínicos 29
II.8. Pruebas moleculares para identificación de coronavirus 30
II.8.1. PCR 30
II.8.2. RT-PCR 31
II.8.3. PCR NESTED 32
II.8.4. Metagenómica viral 33
II.9. Perú 33
II.9.1. Especies de primates en la selva peruana 34
II.9.2. La pandemia del COVID – 19 en Perú 46

III. MATERIALES Y MÉTODOS 48
III.1.1. Lugar de ejecución y periodo de duración 48
III.1.1.1. Loreto 48
III.1.1.2. Ucayali 50
III.1.1.3. Madre de Dios 51
III.1.2. Consideraciones Éticas 51
III.1.3. Animales de estudio 52
III.1.4. Atelidae 52
III.1.5. Cebidae 52
III.1.6. Toma de muestra 53
III.1.7. Análisis molecular 54
III.1.8. Enriquecimiento Viral 54
III.1.9. Extracción de ARN viral 55
III.1.10. Síntesis de ADN complementario (ADNc) 56
III.1.11. Amplificación por PCR Nested 57
III.1.12. Detección de secuencias de coronavirus mediante secuenciación metagenómica 58
III.1.13. Análisis filogenético 58
IV. RESULTADOS 59
V. DISCUSIÓN 63
VI. CONCLUSIONES 69
VII. BIBLIOGRAFÍA 70

ABREVIATURAS

CoV	Coronavirus
ARN	Ácido Ribonucleico
(SARS)-CoV	Coronavirus del Síndrome Respiratorio Agudo
PNH	Primates No Humanos
UNMSM	Universidad Nacional Mayor de San Marcos
RdRp	ARN Replicasa
OIE	Organización Mundial de Salud Animal
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
ICTV	Comité Internacional de Taxonomía Viral
HCoV 229E	Coronavirus Humano 229E
HCoV NL63	Coronavirus Humano NL63
PEDV	Virus de Diarrea Epidémica Porcina
CCoV	Coronavirus Canino
FCoV	Coronavirus Felino
Mink CoV	Coronavirus del Hurón
(MERS)-CoV	Coronavirus del Síndrome Respiratorio del Oriente Medio
ORF 1ab	Proteína 1ab
PP1a	Poliproteínas 1a
PP1ab	Poliproteínas 1ab
Proteína S	Proteína Espiga
Proteína E	Proteína Envoltura
Proteína M	Proteína Membrana
Proteína N	Proteína Nucleocápside
Proteína HE	Proteína Hemaglutinin-esterasa
ARNm	Ácido Ribonucleico Mensajero
PAMP's	Patrones Moleculares Asociados a Patógenos
ARNg	Ácido Ribonucleico Genómico
RE	Retículo Endoplásmico
HCoV-OC43	Coronavirus Humano OC43
HCoV-HKU1	Coronavirus Humano HKU1
COVID-19	Enfermedad Respiratoria del Coronavirus 2019
BCoV	Coronavirus Bovino
ECoV	Coronavirus Equino
SADS-CoV	Coronavirus de Síndrome de Diarrea Aguda Porcina
PRCoV	Coronavirus Respiratorio Porcino
PHEV	Virus de Encefalomielitis Hemaglutinante Porcina
PDCoV	DeltaCoronavirus Porcino
FECoV	Coronavirus Entérico Felino
FIPV	Virus de Peritonitis Infecciosa Felina
PIF	Peritonitis Infecciosa Felina
CRCoV	Coronavirus Respiratorio Canino
ACE2	Enzima Convertidora de Angiotensina 2
IL1	Interleucina 1
IL1β	Interleucina 1beta
IL6	Interleucina 6
IL8	Interleucina 8
CXCL10	Ligando 10 de quimiciona
TNFα	Factor de Necrosis Tumoral alfa
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
ARNc	Ácido Ribonucleico Complementario
SARS RATG13	Coronavirus del murciélago
K18-HDPP4	Ratón con Citoqueratina humana 18 HDPP4

K18-HACE2	Ratón con Citoqueratina humana 18 HACE2
mDPP4	Dipeptidil Peptidasa-4
MINAM	Ministerio del Ambiente
PBS	Solución Buffer Fosfato Salina
NCBI	Centro Nacional de Información Biotecnológica
SE	Semana Epidemiológica
SERFOR	Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre
CEBA	Comité de Bienestar Animal
FMV	Faculta de Medicina Veterinaria

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de los coronavirus - CoV (ICTV, 2023).

Cuadro 2. Lista de PNH amenazados según la categorización de especies amenazadas aprobada mediante Decreto Supremo N°004-2014-MINAGRI (Tomado de MINAGRI, 2020)

Cuadro 3. Lista de grupos de muestras de heces PNH clasificadas según especie y área de muestreo (N=76)

Cuadro 4. Lista de secuencias usadas en el análisis filogenético

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diversidad de especies animales en las que se han identificado coronavirus (Tomado de Colina *et al.*, 2021).

Figura 2 Dibujo a escala estructural de un coronavirus y representación de cadena de ARN + y proteínas estructurales codificadas (Cui *et al*., 2019; Biophysical society, 2022).

Figura 3. Mecanismo de ingreso y replicación del SARS-CoV-2. Tomado de Lam *et al*., 2021.

Figura 4. Alineación de la secuencia de proteínas ACE2 y sitios críticos de unión frente al SARS-CoV-2. Se señalan en rojo los PNH que pueden infectarse exitosamente con COVID-19. Tomado de Melin *et al*., 2020

Figura 5. Modelo de proceso PCR donde se desnaturaliza el ADN bicatenario por calor, los primers se alinean con las hebras individuales de ADN y luego estos mismos primers se extienden con la ADN polimerasa, dando la elongación y obteniendo dos copias de la hebra de ADN original (Labbox, 2021).

Figura 6. La RT-PCR inicia con una cadena ARN, mediante el uso de la trascriptasa inversa se forma el ADNcomplementario y se obtiene la copia final de ADN que luego pasará a un proceso de PCR convencional (Jamshaid *et al.,* 2020).

Figura 7. Modelo en diagrama de una PCR NESTED (Tomado de Pacheco *et al*., 2013

Figura 8. Árbol filogenético de los primates (Tomado de Kowalewski *et al.*, 2016).

Figura 9. Algunos ejemplares de las distintas especies pertenecientes a la familia Atelidae. **A.** *Ateles chamek*, **B.** *Ateles belzebuth*, **C.** *Lagothrix lagotricha*, **D.** *Lagothrix flavicauda*, **E.** *Alouatta seniculus*, **F.** *Alouatta palliata* (Tomado de Allgas *et al*, 2017).

Figura 10. Algunos ejemplares de las distintas especies pertenecientes a la familia Cebidae. **A.** *Cebus apella*, **B.** *Cebus unicolor*, **C.** *Saimiri sciureus*, **D.** *Aotus nigriceps*, **E.** *Saimiri boliviensis*, **F.** *Aotus nancymae* (Tomado de Allgas *et al*, 2017).

Figura 11. Algunos ejemplares de las distintas especies pertenecientes a la familia Pithecidae. **A.** *Callicebus lucifer*, **B.** *Callicebus cupreus*, **C.** *Callicebus oenanthe*, **D.** *Callicebus discolor*, **E.** *Pithecia monachus*, **F.** *Cacajo calvus* (Tomado de Allgas *et al*, 2017).

Figura 12. Gráfico demostrativo las cinco olas de casos SARS-CoV-II registrados durante los 3 años de pandemia. (Tomado de Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades-MINSA, 2023).

Figura 13. Mapas demostrativos de los departamentos más afectados durante los primeros dos años de pandemia. (Tomado de Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades-MINSA, 2023).

Figura 14. Localización de las Islas Padre y Muyuy en Loreto.

Figura 15. Localización del centro poblado Bello Horizonte en Ucayali.

Figura 16. Localización del centro Puerto Maldonado en Madre de Dios.

Figura 17. Procesamiento de muestras en cámara de flujo.

Figura 18. Electroforesis donde se identifica el Ladder de 50 pb (L), el Control Positivo (CP) que fue una vacuna de coronavirus inactivado (CPV-CV VANGUARD PLUS, Zoetis) ubicado aproximadamente a nivel de 500 pb, el Control Negativo (CN) que fue agua libre de nucleasas y los *pooles* P1, P2 y P3.

Figura 19. Alineación de 8 lecturas (250, 201, 201, 175, 175, 66, 66 y 195 nucleótidos de longitud) del grupo 9. Se muestra la alineación de las lecturas que cubren la región (de la posición 15.296 a la 15.610 de la cepa Wuhan-1, número de acceso GenBank: MN908947) que contienen el gen orf1ab o RdRp (posición 266 a 21.544). La figura se generó utilizando la aplicación CAP (programa de ensamblaje de contig) del software Bioedit v. 7

Figura 20. Filogenia de 27 secuencias de RdRp divididas en cuatro géneros y cuatro subgéneros del grupo *Betacoronavirus*. La barra azul detalla el subgénero *Sarbecovirus* donde se halla (en rojo) la secuencia identificada en este estudio.

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Áreas de muestreo de PNH en cautiverio y semi-cautiverio de las regiones de Loreto, Ucayali y Madre de Dios.

RESUMEN

Los coronavirus (CoV) son un grupo de virus de genoma ARN de sentido positivo con gran capacidad de mutación y salto de barreras entre especies, incluso con potencial zoonótico. Un ejemplo de ello es el Síndrome Respiratorio Agudo Severo del Coronavirus tipo II (SARS-CoV-2) que provocó la pandemia de COVID-19. Sin embargo, la vigilancia epidemiológica de coronavirus en animales silvestres de la Amazonía es escasa, sobre todo en nuestro medio. El objetivo de este estudio fue detectar CoV en primates no humanos (PNH) mediante detección por PCR usando primers genéricos para todos los virus de la familia *Coronaviridae* y posterior secuenciación, en muestras fecales recolectadas de 76 PNH mantenidos en condiciones de cautiverio y semicautiverio procedentes de los departamentos de Ucayali, Madre de Dios y Loreto durante agosto de 2022 y febrero de 2023. Todas las muestras de heces resultaron negativas a la detección de coronavirus por PCR. Sin embargo, se detectó un segmento del gen del ARN polimerasa dependiente (RdRp) del SARS-CoV-2 mediante secuenciación metagenómica en un *pool* de heces de monos machines blancos (*Cebus unicolor*) en cautiverio de un centro de rescate en Bello Horizonte, Ucayali. El análisis filogenético confirmó que la secuencia parcial recuperada del gen RdRp coincidía con el genoma del SARS-CoV-2. Se concluye de este estudio que los monos capuchinos blancos (*C. unicolor*) de esta región estaban infectados con SARS-CoV-2, siendo probablemente el contacto con trabajadores del centro la principal vía de transmisión. Ello enfatiza la importancia en la vigilancia continua para la detección temprana de nuevas variantes del SARS-CoV-2 en animales silvestres de la Amazonía Peruana.

Palabras clave: coronavirus, SARS-CoV-2, mamíferos silvestres, Amazonía Peruana, metagenómica.

ABSTRACT

Coronaviruses (CoV) are a group of RNA-positive viral agents that have four genera with great capacity for mutation and jumping barriers between species, such as alpha and betacoronaviruses that have zoonotic potential. An example of this is the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus type II (SARS-CoV-2) that caused the COVID-19 pandemic. However, epidemiological surveillance of coronaviruses in wild animals in the Amazon is scarce, especially in our environment. The objective of this study was to detect CoV in non-human primates (NHP) using a PCR technique and viral RNA sequencing in fecal samples collected from 76 captive and semi-captive NHP from Loreto, Ucayali and Madre de Dios during August 2022. and February 2023. The samples were preserved in transport boxes with cooling gels at 4°C and transported to the Laboratory of Biology and Molecular Genetics of the Faculty of Veterinary Medicine of the UNMSM where they were processed. All PCRs were negative. However, a segment of the SARS-CoV-2 dependent RNA polymerase (RdRp) gene was detected by metagenomic sequencing in a *pool* of feces from white machine monkeys (*Cebus unicolor*) in captivity from a rescue center in Bello Horizonte, Ucayali. Phylogenetic analysis confirmed that the recovered partial sequence of the RdRp gene matched the SARS-CoV-2 genome. It is concluded from this study that white capuchin monkeys (*C. unicolor*) from this region were infected with SARS-CoV-2, with contact with workers at the center probably being the main route of transmission. This emphasizes the importance of continuous surveillance for the early detection of new variants of SARS-CoV-2 in wild animals of the Peruvian Amazon.

Key Words: coronavirus, SARS-CoV-2, wild mammals, Peruvian Amazon, metagenomics

I. INTRODUCCIÓN

Los coronavirus (CoV) son una amplia familia de virus que se dividen en subfamilias separadas en base a la especie animal que afectan, como son la subfamilia Orthocoronavirinae, reportada en mamíferos y aves, los Lethovirinae de los anfibios y los Pitonavirinae de los peces (ICTV, 2022) y que ocasionan enfermedades de curso respiratorio y digestivo de fácil propagación a través de las secreciones de contacto directo o indirecto por su alta capacidad de mutación al albergar en su genoma múltiples eventos de recombinación que provienen de muchas especies y regiones geográficas (Sing & Yi, 2021) Esta interacción incrementa la probabilidad de transmisión de microorganismos zoonóticos, los cuales pueden causar enfermedades infecciosas emergentes con potencial epidémico o pandémico como los coronavirus Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARS-CoV2) y Síndrome Respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV) (Pujol, 2006; Wachtman y Mansfield, 2012; OIE, 2021).

Durante la pandemia de la enfermedad por coronavirus - 2019(COVID-19) se identificó que el agente causal fue el SARS-CoV.2, un CoV perteneciente a la subfamilia Orthocoronavirinae y género *Betacoronavirus*, que se originó en los animales para luego ser transmitido a los humanos (y viceversa) a través de hospedadores intermediarios (Murphy y Ly, 2021). lo que resulta más relevante en zonas con pobre saneamiento público como la Amazonía peruana, donde los establecimientos de salud son escasos y limitados en infraestructura, no hay suficiente personal médico, el agua potable es escasa y la disposición de fecas y aguas residuales es inadecuada (Vilcanqui *et al*., 2022) por lo que en estas condiciones el contacto con mamíferos silvestres es poco regulado en un área aproximada de 782880.55 Km^2 y que comprende mayormente los departamentos de Amazonas, Loreto, Madre de Dios y Ucayali (Mora, 1991).

En estas tierras existe una amplia diversidad de mamíferos silvestres, que incluye especies como los primates *Ateles* spp., *Saimiri* spp., y *Aotus* spp.; venados como *Mazama americana* y *Subulo gouazoubira*; grandes felinos como *Panthera onca* y *Puma concolor concolor*, y caninos salvajes como el zorro de montaña *Lycalopex culpaeus*, entre otros (Allgas *et al*., 2017). Muchos de estos mamíferos enfrentan amenazas graves debido al tráfico ilegal de fauna silvestre, una práctica que, además de ser muy lucrativa, se ha convertido en una actividad común en muchas regiones (Shanee *et al*., 2017). Este comercio ilícito implica la extracción de animales de sus hábitats naturales para venderlos como mascotas exóticas, trofeos, medicinas tradicionales o incluso como fuente de alimento (Norconk *et al*., 2020). El tráfico de fauna no solo pone en peligro la supervivencia de estas especies, sino que también genera riesgos significativos para la salud humana al trasladar a estos animales fuera de su entorno natural y mantenerlos en condiciones inadecuadas, fomentándose contacto estrecho con los humanos, ya sea a través del manejo directo, el contacto con sus tejidos, secreciones, fluidos corporales o heces (Shanee *et al*., 2017).

En transcurso de la pandemia, Perú fue una de las naciones más afectadas, sobre todo en la segunda y tercera ola (2020-2022) al acumular tasas de 4.5 millones de contagiados y 220 mil fallecidos, debido a la propagación temprana del virus y la transmisión comunitaria (MINSA, 2024), siendo la selva una de las regiones más golpeadas con hasta un 70% de seroprevalencia (Vargas *et al*., 2022). Otras investigaciones reportan que los PNH son más susceptibles que otros mamíferos al contagio de SARS-CoV2 por las similitudes con los humanos en los receptores celulares (Melin *et al*., 2020) habiendo casos de *Macaca mulata* como posible modelo experimental (Munster *et al*., 2020) o de infecciones naturales en *Gorilla* spp. (Gibbons, 2021) y *Mico melanurus* (Pereira *et al*., 2022). En Perú los reportes de infecciones naturales en fauna silvestre son escasos, recientemente, un estudio en nuestro medio pudo identificar el género *Alfacoronavirus* en PNH sugiriendo que estos pueden actuar como portadores y diseminadores de la enfermedad hacia otros mamíferos (Sánchez, 2023).

Debido a ello es que esta investigación tuvo como finalidad analizar 76 muestras fecales de PNH mantenidos en cautiverio y semicautiverio en tres regiones de la Amazonía peruana para buscar la presencia de CoV e identificar el género, así como su relación filogenética con otros CoV, mediante una técnica de PCR y secuenciación metagenómica del ARN a través de la plataforma, con la finalidad de conocer el impacto de los CoV y de las interacciones entre humanos y fauna silvestre en la Amazonía Peruana.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

II.1. Agente causal

Los CoV son una amplia familia de virus ARN envueltos, monocatenarios de aproximadamente 80 a 160 nm de diámetro y un genoma lineal cuya longitud varía entre 26 y 32 kb de polaridad positiva (ARNss+) el cual codifica las proteínas espiga (S), envoltura (E), membrana (M) y nucleocápside (N) (ICTV. 2024). Su estructura con proyecciones se debe a la proteína S, que le confiere una apariencia similar a una corona. La E facilita el ensamblaje y los cambios estructurales del virus, permite la liberación de los viriones y se ha identificado como un factor de virulencia. La M refuerza y mantiene la forma del virión, también influye en la capacidad mutagénica y la N es una fosfoproteína de unión al ARN que permite la encapsidación del genoma, mostrando actividad de chaperona del ARN y actúa como antagonista del interferón tipo I (ICTV. 2024).

Estos CoV tienen la capacidad de causar una amplia gama de enfermedades respiratorias, entéricas o sistémicas en diversos mamíferos, incluidas especies domésticas, silvestres y humanas. Estos virus son responsables de enfermedades de incidencia epidémica, frecuentemente asociadas con complejos respiratorios y/o digestivos (Master y Perlman, 2013) aunque muchos años atrás no se les consideraba tan patógenos ni letales hasta la aparición de los brotes de infecciones en humanos, como el SARS-CoV, el MERS-CoV y el SARS-CoV-2 (Cui *et al*., 2019). En algunos animales, los CoV también presentan características únicas que pueden aumentar su patogenicidad como el virus de la Peritonitis Infecciosa Felina (FIPV) en los gatos, que surge a partir de mutaciones *in vivo* del coronavirus entérico felino (FECV), un *Alphacoronavirus*, que muta dentro de los macrófagos, ocasionando una enfermedad sistémica grave y generalmente mortal (Kennedy, 2020).

II.2. Taxonomía y clasificación

Los CoV según la clasificación más reciente del Comité Internacional de Taxonomía de Virus - ICTV (2024) pertenecen al orden *Nidovirales*, Suborden *Cornidovirinae*, familia *Coronaviridae*, subfamilia *Orthocoronavirinae* y dentro de esta los géneros *Alphacoronavirus, Betacoronavirus, Gammacoronavirus* y *Deltacoronavirus* (Cuadro 1), clasificados principalmente en función de sus estructuras genómicas y patrones evolutivos. Todos estos agentes son capaces de infectar individuos de sangre caliente, como mamíferos y aves (Haake *et al*., 2020) siendo los mamíferos afectados única y exclusivamente por los géneros *Alphacoronavirus* y *Betacoronavirus* (Geldenhuys *et al.*, 2021) mientras que los *Gammacoronavirus* y *Deltacoronavirus* atacan principalmente a las aves (Woo *et al*., 2012).

Se han reconocido hasta quince subgéneros dentro del género *Alfacoronavirus*, siendo seis de ellos (*Decacovirus, Minunacovirus, Myotacovirus, Nyctacovirus, Rhinacovirus* y *Colacovirus*) hallados exclusivamente en quirópteros (Zhou *et al.*, 2017). Dos subgéneros comprenden virus que infectan humanos, *Duvinacovirus* (HCoV 229E y virus similares hallados en murciélagos y en camélidos) y *Setracovirus* (HCoV NL63 y virus similares de murciélagos) (Farsani *et al*., 2012). En el restante de subgéneros, es posible hallar virus de mamíferos domésticos ampliamente conocidos, como el Virus de la Diarrea Epidémica Porcina - PEDV (*Pedacovirus*), el Coronavirus Canino (CCoV) y Felino (FCoV) (*Tegacovirus*), el coronavirus del Visón o Mink CoV (*Minacovirus*) y otros subgéneros que comprenden especies hallados en roedores (*Luchacovirus*) y musarañas (*Soracovirus* y *Sunacovirus*) (Woo *et al*., 2012; Haake *et al*., 2020).

En el género *Betacoronavirus*, se han identificado hasta el momento cinco subgéneros, de los cuales dos de ellos comprenden virus netamente de los quirópteros (*Hibecovirus* y *Nobecovirus*). En los tres subgéneros restantes se han identificado varias especies, el subgénero *Sarbecovirus* y el *Merbecovirus* siendo dos los CoV epidémicos que han surgido en humanos en las últimas décadas, el SARS-CoV y el MERS-CoV descubiertos en 2003 y 2012, respectivamente (Zaki *et al*., 2012) junto con otras especies como el coronavirus del erizo (Coronavirus Eritrocítico) y coronavirus identificados en murciélagos (Pi-BatCoV_HKU5); y el subgénero *Embecovirus*, que comprende especies de virus humanos, de rumiantes y de roedores (Woo *et al.*, 2012; Cui *et al.*, 2019).

Dentro de los *Gammacoronavirus*, se distinguen tres subgéneros: *Brangacovirus*, *Cegacovirus* e *Igacovirus*, los cuales abarcan cinco especies de coronavirus (ICTV, 2024). Entre

estos, el más representativo es el virus de la bronquitis infecciosa aviar (IBV), conocido por su capacidad de infectar múltiples tejidos y sistemas en aves, incluyendo el tracto respiratorio, el intestino, los riñones y el sistema reproductivo. El IBV no solo genera un impacto negativo en la salud de las aves, sino que también representa una amenaza económica significativa para la industria avícola debido a las pérdidas en producción y calidad de los productos avícolas, como carne y huevos. Además, su alta tasa de mutación y recombinación complica la efectividad de las vacunas disponibles, lo que refuerza la necesidad de una vigilancia epidemiológica constante (Acevedo, 2017).

En el caso de los *Deltacoronavirus*, se han identificado tres subgéneros: *Andecovirus*, *Buldecovirus* y *Herdecovirus*, que comprenden siete especies diferentes (ICTV, 2024). Entre estas, destaca el coronavirus porcino (HKU15), conocido por su capacidad de infectar tanto a aves como a mamíferos. Este virus ha cobrado relevancia no solo por su naturaleza no exclusivamente aviar, sino también por haber sido detectado en aislados humanos asociados con síntomas respiratorios y digestivos. Esta capacidad zoonótica llevó a que se propusiera el término Covid-19_HKU15 para los casos relacionados con infecciones humanas (Lednicky *et al*., 2021). Aunque la evidencia actual sobre su impacto en humanos es limitada, el hallazgo resalta la necesidad de monitorear activamente a los *Deltacoronavirus* debido a su potencial para cruzar barreras de especie y generar nuevos desafíos en salud pública.

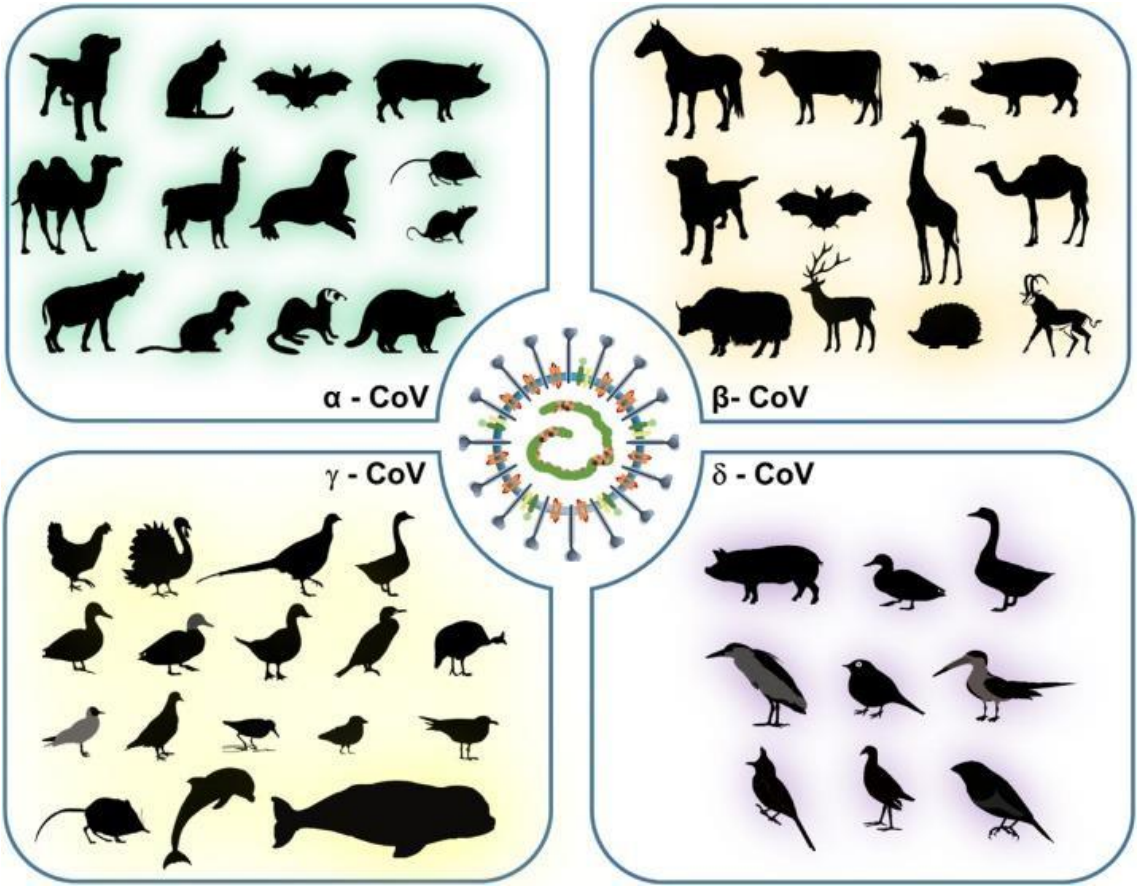


Figura 1: Diversidad de especies animales en las que se han identificado coronavirus (Tomado de Colina *et al.*, 2021).

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de los coronavirus - CoV (ICTV, 2024).

Clasificación	Nomenclatura
Reino	*Orthornavirae*
Phylum	*Pisuviricota*
Clase	*Pisoniviricetes*
Orden	*Nidovirales*
Suborden	*Cornidovirineae*
Familia	*Coronaviridae*
Subfamilia	*Orthocoronavirinae*
Género	*Alphacoronavirus*
	Betacoronavirus
	Deltacoronavirus
	Gammacoronavirus

II.3. Morfología y estructura viral

Los coronavirus se organizan en cadenas de ARN de una sola hebra, de polaridad positiva (5' - 3') y con un tamaño de 27 - 32 kb que da cadenas largas y enrolladas en el centro de la partícula, siendo envueltas de forma esférica por una cápside protectora de 100 - 160 nm de diámetro (Cui *et al*., 2019) incluso son considerados los virus ARN con el genoma más largo y la organización de las glicoproteínas estructurales va en sentido 5'leader UTR - espiga (S), envoltura (E), membrana (M), nucleocápside (N) – 3' UTR poly. La proteína S (~150 kDa) media la unión del virus a los receptores de la superficie de la célula huésped resultando en fusión y posterior entrada viral; la proteína E (~8–12 kDa) es la más pequeña, cuenta con actividad de canal iónico y participa en el ensamblaje viral y la gemación; la proteína M (~25–30 kDa) es la más abundante proteína estructural que define la forma del virus y la proteína N es la única que se une al genoma de ARN, participando también en el ensamblaje viral y la gemación y dando como resultado la formación completa del virión (Malik, 2020).

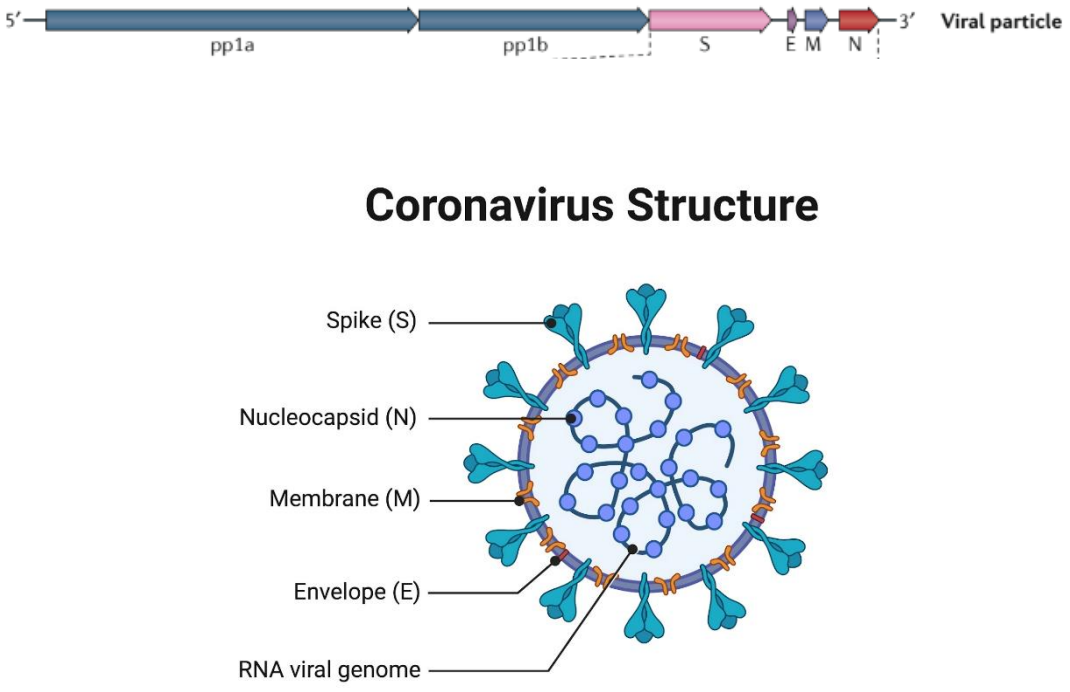


Figura 2. Dibujo a escala estructural de un coronavirus y representación de cadena de ARN + y proteínas estructurales codificadas (Cui *et al*., 2019; Biophysical society, 2022).

II.4. Ciclo de replicación

El ciclo inicia con el ingreso del virión mediante la proteína S y los receptores de la célula huésped para fusionar las membranas a través de las proteasas y permitir el ingreso del CoV por endocitosis o fusión directa (Lam *et al*., 2021). Dicha interacción es influida por las especies huésped: por ejemplo, en el caso de los *Betacoronavirus* como el SARS-CoV2, se usa como receptor a la enzima convertidora de angiotensina II (ACE-2) que interactúa primero con la proteína S, quien sufre cambios morfológicos asociados a las catepsinas (TMPRSS2) dando a la subunidad S_1 que permite la interacción con el receptor ACE-2 y que luego, mediante la S_2, se facilita la fusión de la membrana viral con la membrana celular pudiendo ingresar por endocitosis o directamente la fusión de la membrana plasmática y el ingreso del material genético dentro de la célula huésped (Li *et al*., 2003)

En ingreso por endocitosis, el ambiente ácido permite que las catepsinas fusionen la membrana viral con la del endosoma, o en caso se fusionen las membranas, esto siempre va a ser a través de un poro de entrada. En ambos casos se libera el ARN(+) en el citoplasma en condición de ARN mensajero (ARNm) que se traduce por los ribosomas para formar dos poliproteínas principales: pp1a y pp1ab (poliproteínas no estructurales). Estas poliproteínas son procesadas por proteasas virales para generar múltiples proteínas no estructurales (nsp 1-16), luego las nsp (nsp12, nsp7 y nsp8) forman el Complejo Replicasa-Transcriptasa (CRT) donde las otras nsp cumplirán funciones como la nsp12 (ARN polimerasa dependiente de ARN) que cataliza la síntesis de ARN viral, la nsp13 o helicasa que desenrolla el ARN viral para facilitar su replicación y transcripción y las nsp14 - nsp10 que corrigen errores. Es así que el CRT usa el ARN(+) viral original como molde para producir múltiples copias completas del genoma y sintetizan nuevas moléculas de ARN genómico (5'-3') y ARN subgenómicos que funcionan como ARNm para la síntesis de las proteínas estructurales y accesorias del virus, como la Spike (S), la membrana (M), la envoltura (E) y la nucleocápside (N), por lo que posteriormente estas proteínas estructurales se transportan al retículo endoplásmico y al aparato de Golgi, donde se ensamblan en vesículas las nuevas partículas virales y el ARN genómico recién sintetizado se empaqueta en las nucleocápsides para posteriormente todo ser liberado por exocitosis o bunding, destruyendo a la célula huésped durante todo este proceso, como se puede ver en la figura 3 (Lam *et al*., 2021).

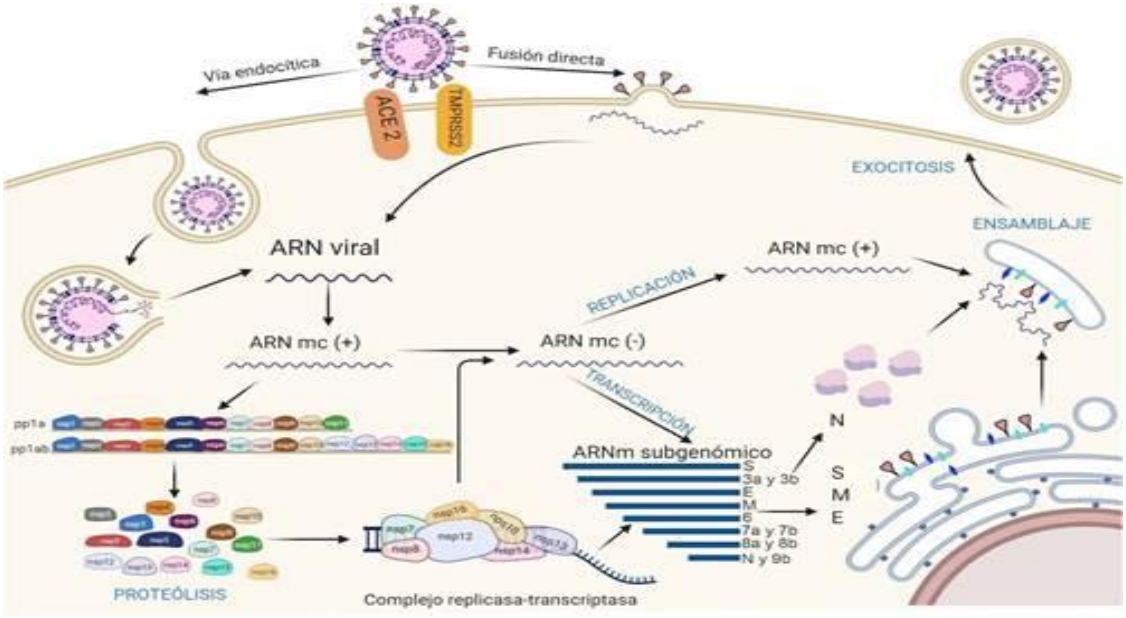


Figura 3. Mecanismo de ingreso y replicación del SARS-CoV-2. Tomado de Lam *et al*., 2021.

II.5. Huésped

II.5.1. Factores del huésped

Anteriormente se consideraban tres como las razones por las que había una variada diversidad dentro de una sola especie de CoV. En primer lugar, gracias a la plasticidad de su genoma pues puede cambiar. En segundo lugar, debido a las tasas altas de recombinación de ácido ribonucleico homólogo debido a su mecanismo único de cambio aleatorio de plantilla durante la replicación de ARN. Y, en tercer lugar, porque los CoV pueden incorporar más fácilmente nuevos genes respecto a otros ARN, por sus genomas relativamente grandes (que pesan entre 26 - 32 kb). Así es como se obtienen nuevas variantes (Santos & Salas, 2020).

Actualmente el origen de la diversidad radica en la recombinación constante y se asocian como factores predisponentes la baja fidelidad de la ARN polimerasa de los CoV, lo que hace que sus tasas de mutación sean 10^{-6}-10^{-4} por ciclo replicativo. (Pérez & Sanz, 2021). Se cree que poseen un mecanismo de Copy-Choice o "elección de copia'' (Chrisman *et al*., 2021) lo que les permite acomodar y modificar genes, generando una diversidad de cepas y genotipos de una especie de coronavirus y dando nuevas variantes capaces de adaptarse a un huésped distinto y posibles brotes zoonóticos endémicos con consecuencias desastrosas (Woo *et al*., 2006). Por ejemplo, el genoma del SARS-CoV-2 muestra un 89% de similitud con el Bat-CoV (Benvenuto

et al., 2020), lo que sugiere que los murciélagos podrían ser el origen del virus que afectó a los humanos en el primer brote de Wuhan, o un 91,02% con el Pangolín-CoV del pangolín malayo, sugiriendo que incluso pudo haber huéspedes intermediarios en la transmisión de este virus desde los murciélagos a los humanos (Donnik *et al*., 2021), aunque otros autores respalden más la teoría de la transmisión directa (Giovanetti *et al*., 2020) pero de igual manera ha sido posible predecir que los carnívoros, quirópteros, roedores y ungulados serían las especies animales consideradas como de alto riesgo para la vigilancia del coronavirus (Wardeh *et al*., 2021).

II.5.2. Coronavirus en humanos

En las personas existen agentes que se relacionan con el catarro y los resfriados estacionales y cerca del 10 al 15% de estos son ocasionados por los CoV (Czubak *et al*., 2021) que pertenecen a los *Alfacoronavirus*: HCoV-229E y HCoV-NL63, ambos con un origen en murciélagos, y los *Betacoronavirus*: HCoV-OC43 y HCoV-HKU1 que por su parte provienen de un reservorio de roedores (Corman *et al*., 2018). Años después, continuando entre los *Betacoronavirus*, hubo nuevos brotes de casos donde se identificaron los SARS-CoV que se transmitieron de murciélagos a civetas de palma y luego a humanos, así como el MERS-CoV que por su parte pasaba de murciélagos a dromedarios y finalmente a los humanos (Chafekar *et al*., 2018).

Recientemente, en 2019, se identificó el SARS-CoV-2, cuyo reservorio animal responsable aún no se ha determinado (Basseti *et al*., 2020). Se considera que una persona positiva actúa como reservorio y tiene la capacidad de infectar a 2,5 personas en ausencia de medidas preventivas o protectoras (Anderson *et al*., 2020), lo que ocasionó la pandemia por COVID-19, una enfermedad respiratoria altamente contagiosa causante de 769 millones de casos positivos (Statista, 2025) de los que aproximadamente 6,3 millones evolucionaron a hipoxia severa que requirió hospitalización de cuidados intensivos o ventilación mecánica y terminó en fallecimiento del paciente (Ochani *et al*., 2021).

II.5.3. Coronavirus en los vacunos

Uno de los primeros CoV estudiados y reportados, el coronavirus bovino (BCoV) que pertenece a los *Betacoronavirus*, afecta al ganado vacuno, aunque también se le ha encontrado en pequeños rumiantes como caprinos y ovinos que están en muy cercano contacto con los bovinos (Amer *et al*., 2019). Este virus es causante del 30% de casos de diarreas en terneros recién nacidos (Alfieri *et al*., 2018) que se traducen en alta morbilidad y mortalidad en estos (Gómez y Weese, 2017). Y, aunque generalmente ocasionan signos digestivos y deshidratación debido a ellos, también son reportadas las afecciones respiratorias que empeoran al asociarse con otros patógenos oportunistas que forman parte del complejo respiratorio bovino o fiebre del embarque (Saif, 2010). Finalmente podemos ver infecciones neumo entéricas (Betancourt *et al*., 2006) y la prevención del BCoV se basa en vacunación pre-puerperal e intranasal con virus atenuados o virus muertos frente a las diarreas y procesos respiratorios (Richeson *et a*l., 2019).

II.5.4. Coronavirus en dromedarios y camélidos

Los dromedarios se ubican principalmente en países del Medio Oriente y se ha detectado molecularmente en cerca del 80% de ellos el virus del Síndrome Respiratorio del Oriente Medio (MERS-CoV) (Kandeil *et al*., 2019) que les ocasiona neumonía intersticial más daño renal (Alnaeem *et al.*, 2020). Este MERS-CoV se transmite a los humanos a través del contacto continuo con secreciones nasales, gotas de saliva y consumo de carne y leche (Hemida *et al.*, 2021) predisponiendo a la transmisión zoonótica y antropozoonótica. En los camélidos se encuentra el coronavirus en las alpacas (ACoV) que se asemeja filogenéticamente al coronavirus humano HCoV-229E y al BCoV (Te *et al*., 2022; Luna *et al,* 2015; Genova *et al*., 2008). Y en estos camélidos los BCoV provocan diarreas en crías no destetadas entre los primeros 7 meses de vida (Luna *et al,* 2015) y signos respiratorios que varían en gravedad desde enfermedad leve de las vías respiratorias superiores hasta dificultad respiratoria grave, fiebre y abortos (Crossley *et al.*, 2012).

II.5.5. Coronavirus en equinos

En los caballos se presenta el Coronavirus Equino (ECoV) que fue identificado por primera vez en Estados Unidos y luego se distribuyó mundialmente. El contagio es por contacto con heces contaminadas, generalmente estos animales son asintomáticos, pero cuando hay sinología clínica se evidencia fiebre, enterocolitis, constipación, severo daño del epitelio intestinal, malabsorción, diarreas (Pustela *et al*., 2018), disbiosis, acumulación de endotoxinas y amonio en sangre que devienen en convulsiones y ataxia en cerca del 3% de los casos, pero no siendo tan mortal en la mayoría de estos (Fielding *et al*., 2015). El ECoV tiene una alta similitud de nucleótidos (92.2%) con el coronavirus humano HCoV-229E lo que sugiere la posibilidad de un evento de transmisión entre caballos y humanos (Haake *et al*., 2020).

II.5.6. Coronavirus en suinos

Los cerdos son la especie animal con mayor variabilidad de especies de coronavirus aisladas, dentro de los *Alfacoronavirus* se encuentran el PEDV o virus de diarrea epidémica porcina, el TGEV o virus de gastroenteritis transmisible, el PRCoV o coronavirus respiratorio porcino y el SADS-CoV o síndrome de diarrea aguda grave, todos ellos reportan vómitos más diarreas profusas y están filogenéticamente relacionados ya que el PRCoV proviene del TEGV (Laude *et al.*, 1993). Por otro lado, en el género *Betacoronavirus* encontramos al PHEV o virus de encefalomielitis hemaglutinante porcina, que puede manejarse bien mediante inmunidad pasiva pero cuya mortalidad alcanza el 100% en lechones de menos de un mes (Mora-Díaz *et al*., 2019) y finalmente en los *Deltacoronavirus* está el PDCoV o deltacoronavirus porcino, cuya virulencia es similar al PEDV, pero no ocasiona pérdidas tan cuantiosas (Wang *et al*., 2019).

II.5.7. Coronavirus en felinos

Los coronavirus felinos (FCoV) se separan en dos biotipos distintos: coronavirus entérico felino (FECoV) y virus de la peritonitis infecciosa felina (FIPV). Los factores asociados con una mayor prevalencia de FCoV son la edad avanzada (mayores a tres años), vivir en áreas industriales o residenciales rurales (Duijvestijn *et al*., 2023) y el sexo (machos) (Bucaramanga, 2018). El FECoV infecta principalmente células intestinales, causando una enfermedad entérica leve o infecciones subclínicas, mientras que el FIPV viene a ser una mutación del FECV que puede conducir a una enfermedad sistémica inmunoinflamatoria letal también denominada Peritonitis Infecciosa Felina (PIF) (Perdersen *et al*., 2008; Haake *et al*., 2020).

Durante la primera ola de pandemia se realizaron estudios que buscaron dilucidar si hay contagio de SARS-CoV-2 entre personas y mascotas domésticas como los gatos, hallándose seroprevalencias bajas, pero concluyentemente positivas en estos (Zhao *et al*., 2021), incluso en Perú se reportó la primera evidencia de la variante Lambda del SARS-CoV-2 presente en gatos domésticos con signología respiratoria dando por hecho que es transmisible (Schiaffino *et al*., 2021).

II.5.8. Coronavirus en caninos

El coronavirus entérico canino (CCoV) es un *Alfacoronavirus* que cuenta con dos serotipos (CCoV I y CCoV II) que se han detectado en cánidos salvajes como zorros, perros mapaches y lobos. El CCoV es un virus común en caninos de todo el mundo que se transmite por vía fecal-oral y es más frecuente en poblaciones densamente pobladas, infecta y se replica en las vellosidades intestinales lo que lleva a la degeneración celular, atrofia de las vellosidades y diarrea (Haake *et al.*, 2020).

Por su parte el coronavirus respiratorio canino (CRCoV) es un *Betacoronavirus* que ocasiona cerca del 15% de los cuadros de complejo respiratorio canino (Wille *et al.*, 2020) y se transmite a través de aerosoles, asociándose con signos respiratorios como secreción nasal, estornudos y tos que usualmente ocurren en los meses más fríos y con mayor hacinamiento, dando lugar a infecciones secundarias y enfermedades clínicas más graves como las bronconeumonías (Priestnall *et al.*, 2006). Debido a investigaciones médicas recientes del SARS-CoV-2, este CRCoV se considera un buen modelo de estudio frente a similitudes en la patogenia entre perros y humanos (Priestnall, 2020), teniendo en cuenta que filogenéticamente existe una estrecha relación entre el CRCoV y los coronavirus humanos HCoV-229E y HCoV-NL63, dando más luces sobre el riesgo potencial del coronavirus canino para infectar a los humanos y darse una transmisión entre especies (Shi *et al.*, 2021).

II.5.9. Coronavirus en primates no humanos

Muchas especies de PNH son un valioso modelo para estudiar distintos patógenos, específicamente de cómo se inicia y desarrolla la enfermedad del coronavirus (COVID-19) como el macaco Rhesus (*Macaca mulatta*), el Cynomolgus Macaques (*Macaca fascicularis*), el mono verde africano (*Chlorocebus aethiops*) (Trichel, 2021; Woolsey *et al*., 2020), el tití (*Callithrix jacchus*) y el babuino (*Papio* spp.) puesto que otras especies animales no permiten que se replique todo el espectro de morbilidad y mortalidad al simular solo una infección leve (Singh *et al.*, 2020).

Investigaciones recientes en SARS-CoV-2 han encontrado similitudes entre los receptores de los humanos con los primates catarrinos y los lémures, receptores que permiten el reconocimiento del virus a través de la enzima convertidora de angiotensina-2 (ACE2), mayormente en *Macaca mulata* y *Macaca fascicularis* como se ejemplifica en la Figura 4, donde aquellos PNH resaltados en color rojo son los más susceptibles a padecer la COVID-19 (Melin *et al*., 2020). Es por ello que estos PNH desarrollan signos similares cuando se exponen al virus por lo que son las especies que deben usarse preferentemente al evaluar la eficacia de un tratamiento o vacuna (Lemaitre *et al*., 2021).

Se han emprendido acciones urgentes para limitar la exposición de los grandes simios a los humanos, y pueden ser necesarios esfuerzos similares para muchas otras especies de primates. Se necesita más investigación para comprender la susceptibilidad de diferentes especies de primates a COVID-19 y los riesgos potenciales de transmisión entre humanos y primates

Sin embargo, a pesar de sus ventajas los PNH son escasos y costosos, muchos se encuentran como especies amenazadas y se requiere personal capacitado, así como múltiples permisos que aseguren bienestar animal durante todo el proceso de investigación (Burgeois *et al*., 2021; Trichel, 2021)

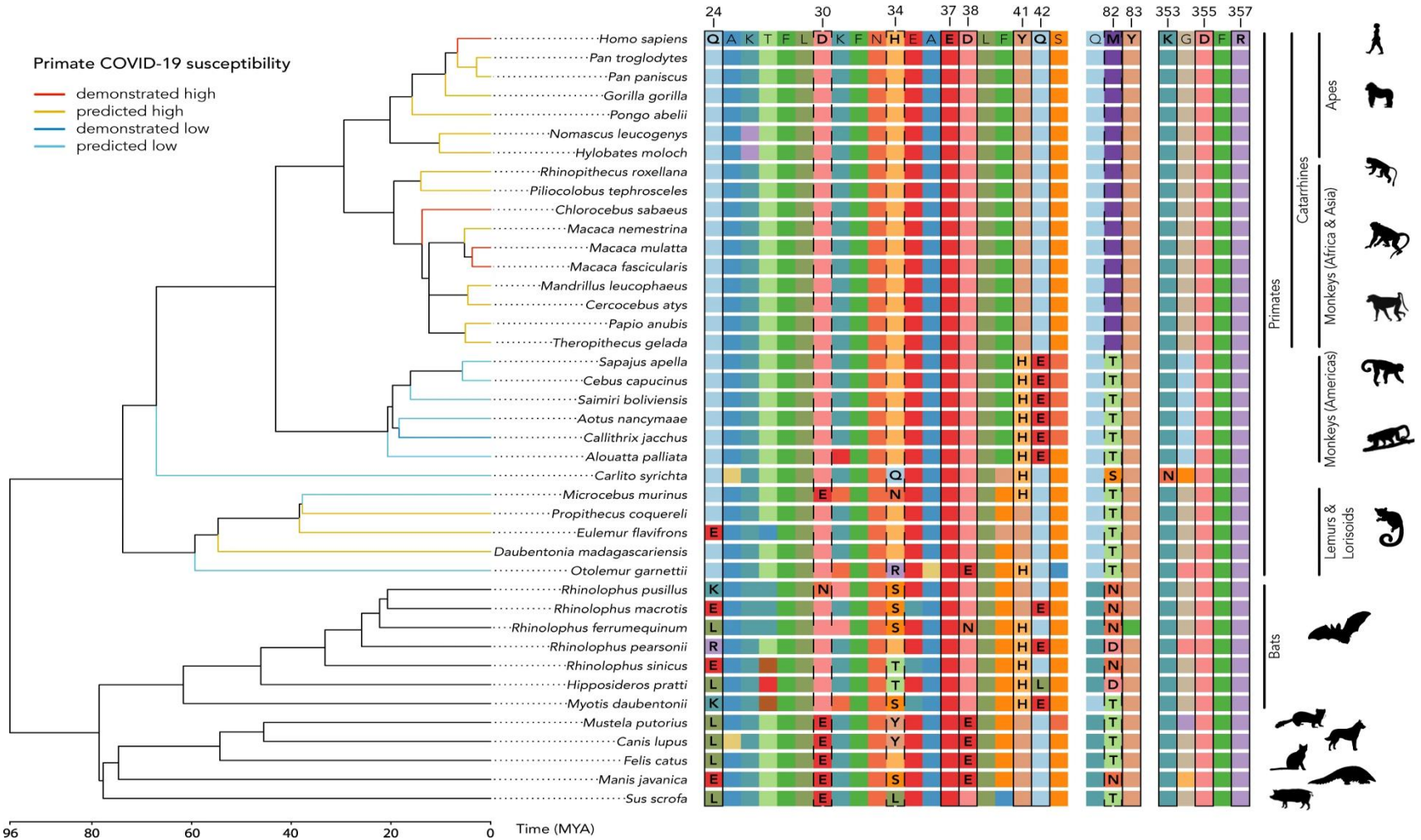


Figura 4. Alineación de la secuencia de proteínas ACE2 y sitios críticos de unión frente al SARS-CoV-2. En rojo los PNH que pueden infectarse exitosamente con COVID-19. Tomado de Melin *et al*., 2020.

II.6. Patogenia

Los CoV se pueden transmitir a través del contacto directo o indirecto con secreciones contaminadas como las heces, la orina, la saliva, aerosoles, etc (Peiris *et al*., 2003; Holshue *et al.,* 2020). El virus en una fase inicial se replica en células epiteliales del tracto entérico y/o respiratorio causando un cuadro clínico local que también puede diseminarse generando un cuadro clínico sistémico agravando la enfermedad (Masters, 2013; Fenners, 2017). Si la sinología y la cepa es de tipo digestiva, veremos patogenias similares entre los coronavirus entéricos donde infecta por transmisión oro-fecal, atraviesa esófago y estómago llegando a los intestinos donde inicia una replicación en los enterocitos maduros apicales y laterales, causando degeneración y necrosis celular, pérdida del borde en cepillo y desprendimiento de células muertas hacia la luz intestinal, traduciéndose en mala digestión, malabsorción y diarrea.

Todo esto conlleva a una fuerte respuesta inmune que puede llegar a agotar la capacidad compensatoria de los tejidos linfoides pudiendo llevar a un término de aplasia medular (Licitra *et al*., 2014). En casos de cuadros respiratorios el virus infecta las células del pulmón al acoplarse a la ACE - 2 de la superficie celular, lo que lleva a una masiva infiltración de leucocitos, se genera una hiperactivación de señalización inmunitaria innata con producción aberrante de interferones y citoquinas proinflamatorias (IL-1, IL-6, IL-8, CXCL-10, TNF-alfa) que aumenta la permeabilidad capilar y de las mismas paredes de los alvéolos (Selinger *et al*., 2014), el neumocito tipo II es atrofiado y se disminuye la producción de sustancia surfactante en el pulmón, disminuyendo la capacidad de eliminación de tensión superficial en las secreciones alveolares y ocasionando signos respiratorios como el distress, tos, expectoración, baja saturación y posible edema pulmonar a través de inflamasomas que llevan a la sobreproducción de IL-1beta (Nieto-Torres *et al*., 2015). A mayor inflamación local, mayor secreción de citoquinas y peor síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (Chen *et al*., 2020).

II.7. Signos clínicos

Dependiendo de la especie o cepa de coronavirus podremos ver signos tan variados e inespecíficos como diarrea, vómitos, mala absorción intestinal, pérdida paulatina o abrupta de peso, caquexia, caída de pelo, distrés respiratorio, secreción y congestión nasal, secreción conjuntival, baja saturación, mucosas ligeramente cianóticas o cianóticas e incluso desarrollo de edema pulmonar (Sebastián, 2020).

II.8. Pruebas moleculares para identificación de coronavirus

Se puede considerar el secuenciamiento como un método preciso para identificar y cuantificar un virus, pero la realidad es que resulta bastante costoso y poco práctico para situaciones de identificación de pacientes positivos sobre todo en el marco urgente del desarrollo de las pruebas rápidas (Santos y Salas, 2020). Es por ello por lo que se cuenta con las pruebas serológicas y las moleculares, donde la reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa en tiempo real (RT-PCR) es la prueba molecular más común para detección de este virus por llegar a tener un 100% de sensibilidad y especificidad en las prueba (Rojas *et al*., 2021).

II.8.1. PCR

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una técnica importante de la biología molecular que permite hacer muchas copias de una porción de ADN mediante amplificación de segmentos. Para ello se colocan en un tubo la Taq polimerasa, los cebadores, el ADN de muestra y los nucleótidos, para luego realizar ciclos repetidos de calentamiento y enfriamiento en fases denominadas: desnaturalización, alineación y elongación del ADN (Figura 5). Finalmente, el resultado es secuenciado o visualizado mediante electroforesis en gel ya que se producen tantas copias que precipitan formando bandas que incluso se pueden diferenciar macroscópicamente (Canene, 2013). Comparado con otras pruebas, la PCR busca amplificar y replicar el ADN de un agente a evaluar, sin embargo, si el agente es un virus ARN como en el caso del coronavirus, es necesaria otro tipo de prueba para lograr el hallazgo.

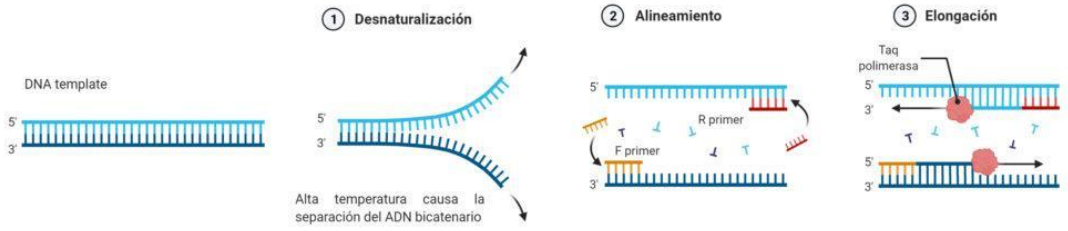


Figura 5. Modelo de proceso PCR donde se desnaturaliza el ADN bicatenario por calor, los primers se alinean con las hebras individuales de ADN y luego estos mismos primers se extienden con la ADN polimerasa, dando la elongación y obteniendo dos copias de la hebra de ADN original (Labbox, 2021).

II.8.2. RT-PCR

También llamada Reacción en Cadena de la Polimerasa con Transcriptasa Inversa, es una variante altamente sensible del PCR que trabaja con muestras que poseen poca cantidad de ARN mensajero (ARNm) y que busca amplificarlas en ADN complementario (ADNc) mediante la transcriptasa reversa, para luego replicarlas con la ADN polimerasa mediante un proceso normal de PCR (Bachman, 2013). De esta manera se determina si hay fragmentos del material genético del virus en distintos tipos de muestras como esputo, sangre, heces, orina por lo que esta prueba actualmente se considera como gold standart frente al diagnóstico de coronavirus (SARS-CoV) por su sensibilidad (Yunita *et al*., 2023) y rentabilidad (Burrel *et al*., 2017) contando con niveles de sensibilidad de 70 -100% y especificidad de 95-100% (Munne *et al*., 2021; Rojas *et al*., 2021) (Figura 6).

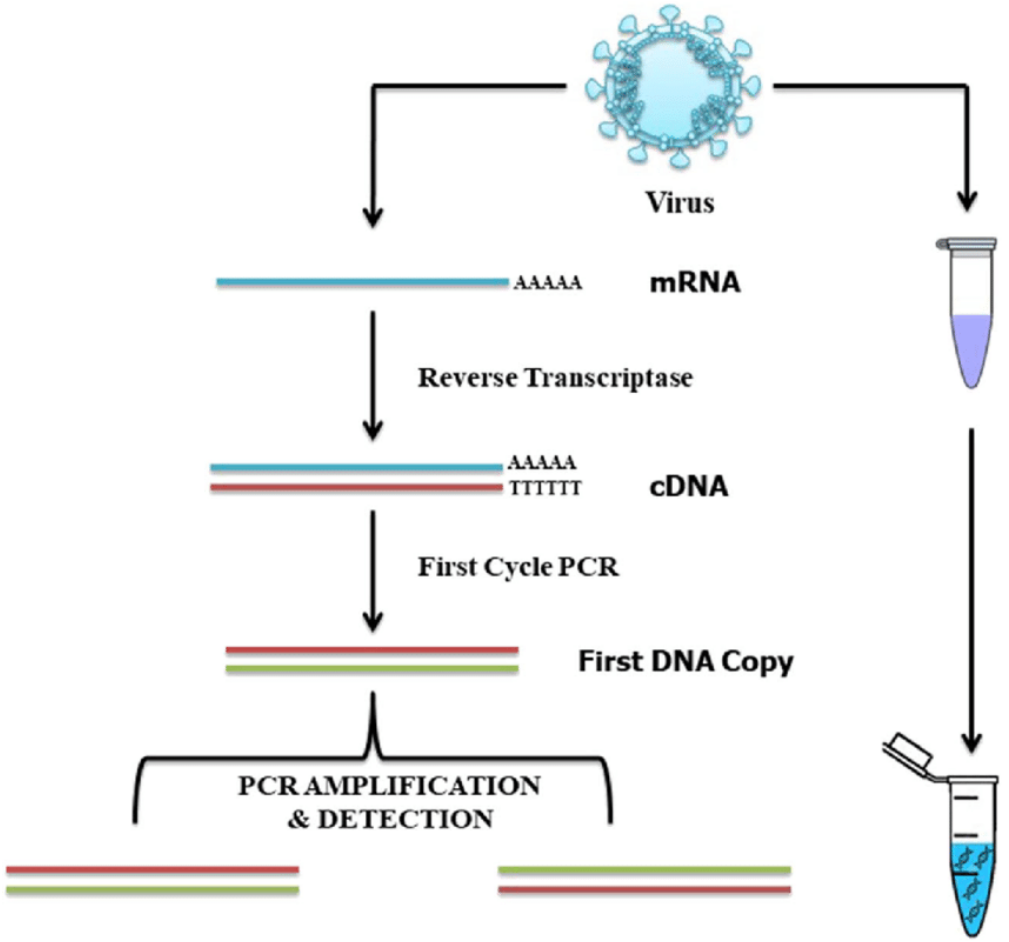


Figura 6. La RTPCR inicia con una cadena ARN, mediante el uso de la trascriptasa inversa se forma el ADNcomplementario y se obtiene la copia final de ADN que luego pasará a un proceso de PCR convencional (Jamshaid *et al.,* 2020).

II.8.3. PCR NESTED

O también llamada prueba PCR anidada, es una prueba que busca aumentar la sensibilidad y especificidad de la prueba al realizar dos reacciones de amplificaciones secuenciales con cebadores diferentes, pero con conocimiento previo de la secuencia del objetivo, siendo el primer gen amplificado un molde para la segunda PCR (Green *et al*., 2019), siendo que la alta sensibilidad se obtiene por la gran cantidad de ciclos repetidos, y la especificidad radica en que los cebadores solo se unen en un sitio específico dentro del amplicón obtenido de la primera ronda (Pacheco *et al*., 2013).

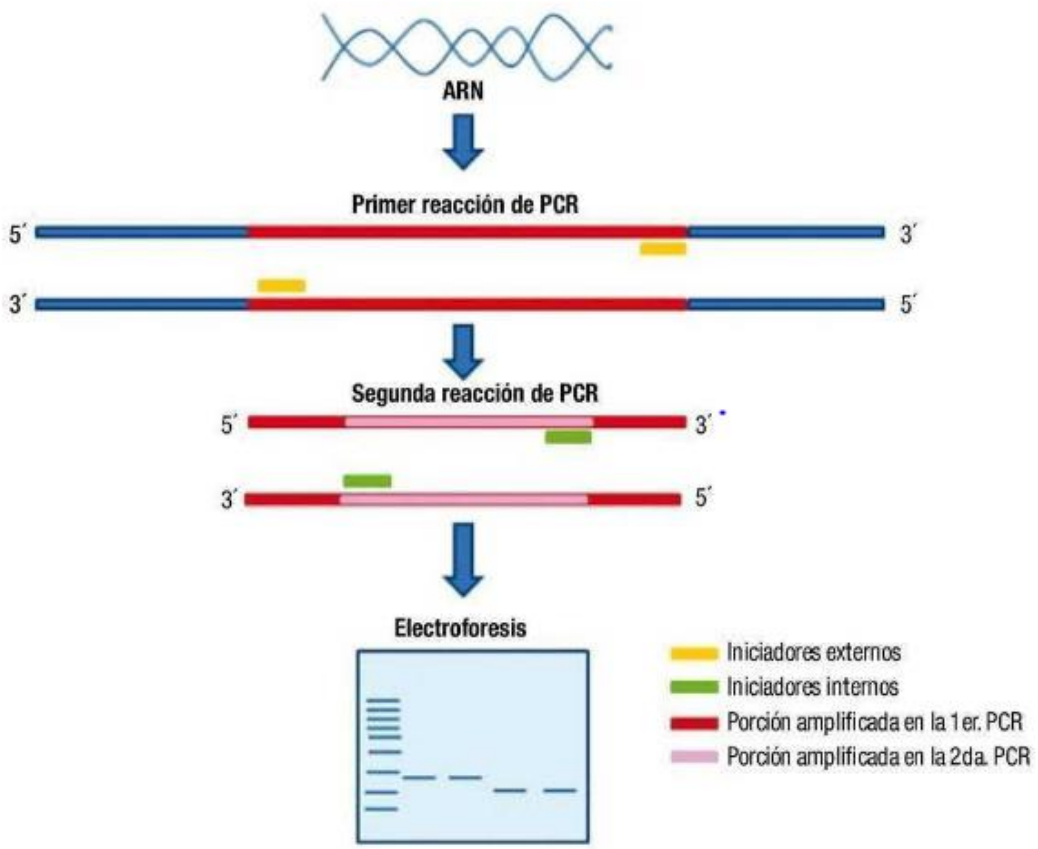


Figura 7. Modelo en diagrama de una PCR NESTED (Tomado de Pacheco *et al*., 2013)

II.8.4. Metagenómica viral

Procedimiento que estudia el material genético de comunidades microbianas completas, después de la extracción y secuenciación del ADN, incluso en aquellas especies no cultivables. Esto permite conocer información de su diversidad, funciones metabólicas y dinámicas ecológicas (Carbo, 2020). Se manejan dos tipos de pruebas metagenómicas, las que trabajan con genes marcadores que buscan secuenciar regiones específicas principalmente en bacterias, y las de genoma completo o *shotgun* que analizan toda la carga genética, dando información de taxonomía y potenciales metabólicos (Carbo, 2020).

II.9. Perú

País sudamericano y megadiverso (Pacheco *et al*., 2021) que posee 27 de los 32 tipos de clima registrados mundialmente (MINAM, 2016); está dividido en 24 departamentos, 196 provincias y 1874 distritos (PCM, 2018) y posee 11 ecorregiones naturales (Brack-Egg, 1986). La Amazonía o Selva Peruana es un ecosistema vital que abarca cerca del 60% del país, secundando en extensión a la Selva Brasileña. En ella se encuentra el hogar de numerosas comunidades indígenas que trabajan la tierra para su subsistencia, lo que también ha llevado a la pérdida de 1 890 213 hectáreas de bosque húmedo amazónico entre el 2001 y 2005 (MINAM, 2018) en territorios como Ucayali y Madre de Dios, donde mayormente hay minería informal que lleva a contaminación de ríos, deforestación, tráfico de fauna silvestre, trata de personas, etc (MINAM, 2016).

Perú cuenta con una extensión territorial de 1 285 216 Km^2 (MINAM, 2016) donde se distribuyen 31,2 millones de habitantes, población que ha aumentado en 1% anual desde el 2007 y donde la mayoría (50.8%) son mujeres (INEI, 2018a). La diversidad de mamíferos en Perú es de 13 órdenes, 51 familias, 223 géneros y 573 especies. Estos incluyen 87 especies únicamente vistas aquí (endémicas) y 42 ejemplares diferentes de PNH (Pacheco *et al*., 2021) dispersos entre las tierras amazónicas orientales, los bosques andinos nubosos, los valles interandinos del norte y los bosques costeros (Mittermeier *et al.*, 2013). Lastimosamente existe un comercio interno e ilegal de estos primates como animales de compañía y como carne de consumo, pero a pesar de los esfuerzos de las autoridades gubernamentales esta actividad alcanza los cientos de miles de ejemplares traficados anualmente (Shanee *et al*., 2016).

II.9.1. Especies de primates en la selva peruana

En el mundo la cantidad de especies de primates no está definida pues se descubren nuevas conforme se realizan investigaciones de campo, sin embargo, se estima un aproximado de 500 especies de las cuales la mitad se encuentran en amenaza o peligro de extinción (Estrada *et al.,* 2017). Estos primates se clasifican en dos subórdenes: los Strepsirrhinos que abarcan a los prosimios y los Haplorhinos donde encontraremos a: los Catarhinos, que vienen a ser los simios del viejo mundo como los macacos que están distribuidos por Asia y África, (Orkin *et al*., 2021) y los Platirhinos o monos del nuevo mundo que se encuentran entre América Central y América del Sur siendo los países con más especies presentes: Brasil, Indonesia, Madagascar y la República Democrática del Congo (Estrada *et al.,* 2017).

Desde el descubrimiento del río Amazonas y de la Amazonía en 1542 se desencadenó una fuerte corriente migratoria y aproximadamente desde 1960 se generó un intenso comercio depredador, indiscriminado e ilegal de fauna silvestre a través de Iquitos. Como medida preventiva se declaró una veda indefinida a la caza y/o captura de estos animales y nació el Proyecto Peruano de Primatología (PPP), con la participación del Ministerio de Agricultura, Ministerio de Salud, la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y la Organización Panamericana de la Salud, buscándose conservar y manejar a los PNH del Perú. La sede del PPP está en Iquitos, en la margen izquierda del Río Amazonas, y desde aquí se comenzaron las expediciones de censos y evaluaciones físicas-sociales-alimenticias de PNH en los bosques adyacentes a los ríos (Encarnación *et al*., 2000).

Todavía no hay un consenso entre los investigadores del Perú respecto a la cantidad de familias que conforman a los Platirhinos en nuestro país, algunos consideran cinco (Orkin *et al*., 2021; Lynch, 2017) mientras que otros solo a *Atelidae, Cebidae y Pitheciidae* (Pacheco *et al*., 2021). Dentro de estas familias vamos a tener las diferentes especies de primates distribuidas en nuestro territorio peruano (Figura 8) y en sumatoria se estima que en Perú hay un total de 42 especies distintas de primates no humanos, siendo 11 ó 9 de ellas endémicas en este país (Aquino *et al*., 2016b; Pacheco *et al*., 2021).

Entre estas especies de PNH hay algunas que se encuentran afectadas por motivos de deforestación, tráfico ilegal y cambio climático, dando 15 especies amenazadas (Decreto Supremo N° 004-2014-MINAGRI), que se subdividen en categorías de Peligro Crítico (CR), En Peligro (EN) y Vulnerables (VU) (Cuadro 2). Esto también está incluido en la Lista Roja de la

UICN, donde 11 especies tienen un tendencia poblacional es disminución, sin embargo, este es un indicador que va cambiando anualmente por lo que siempre requiere de actualización continua de los PNH presentes en nuestro país (MINAGRI, 2020).

Dentro de las características taxonómicas y físicas fundamentales que tienen los PNH encontramos cambios que permiten la prensión como son falanges largas de pies y manos, pulgares oponibles y presencia de uñas planas; cambios en los miembros posteriores más largos para permitir actividades como el salto; sofisticación de la capacidad visual al modificar paulatinamente las cavidades orbitarias y fosas óseas temporales, permitiendo la frontalización de los ojos así como la presencia de la bulla auditiva, además de la formación más diferenciación de piezas dentales con coronas y cúspides más pequeñas, asociadas a una dieta más rica en vegetales (Kowalewski *et al.*, 2016).

La importancia de estos PNH radica en que son recursos naturales renovables, forman parte de una identidad de población, crean fuentes de trabajo como el ecoturismo de conservación, sirven de alimento proteico aquellos de mediano y gran tamaño para las comunidades rurales, participan de la polinización y propagación de semillas, ayudan a mantener el equilibrio y complejidad del bosque tropical, son de importancia científica por sus similitudes anatómicas y funcionales con el hombre por lo que también se han usado como modelos animales experimentales en campos de medicina, farmacología y psiquiatría. Precisamente, debido a estas similitudes algunos PNH actúan como potenciales reservorios de enfermedades zoonóticas como la malaria y la fiebre amarilla (Encarnación *et al*., 2000).

Los investigadores han desarrollado distintas formas de atraparlos en base a su aspectos ecológicos (comportamiento, época de parición, distribución geográfica) para poder usarlos como ejemplares de investigación o de repoblación de ciertas islas y que hasta ahora se mantienen vigentes con ciertas modificaciones. Técnicas como el aislamiento colectivo, la manipulación con guantes de los PNH, el uso de horarios específicos de alimentación para atrapamiento grupal, la persecución hasta el cansancio de los PNH, la persecución y aislamiento grupal o individual de PNH, el uso de trampas automáticas individuales (ya que al ser aislados en grupo puede haber peleas debido a agresividad incontrolada), el uso de dardos o cerbatanas con tranquilizantes y el uso de cebos frutales como plátanos, uvillas, guavas o choclos (Tapia *et al*., 1990)

Cuadro 2. Lista de PNH amenazados según la categorización de especies amenazadas aprobada mediante Decreto Supremo N°004-2014-MINAGRI (Tomado de MINAGRI, 2020)

Categoría de Amenaza	Nombre Científico	Nombre Común
En Peligro Crítico	*Plecturocebus oenanthe (Callicebus oenanthe)*	Mono tocón de San Martín
	Lagothrix flavicauda (Oreonax flavicauda)	Mono choro cola amarilla
En Peligro	*Alouatta palliata aequatorialis*	Mono coto negro, mono coto de Tumbes
	Ateles belzebuth	Mono araña de vientre amarillo
	Ateles chamek	Mono araña negro, maquisapa
	Lagothrix lagothricha tschudii (Lagothrix cana)	Mono lanudo gris
	Lagothrix lagothricha lagotricha (Lagothrix lagothricha)	Mono choro común
	Saguinus labiatus labiatus (Saguinus labiatus)	Pichico de barriga anarajada
Vulnerable	*Alouatta seniculus6*	Mono aullador rojo, mono coto
	Aotus miconax	Mono nocturno andino, musmuqui
	Cacajao calvus	Huapo colorado
	Callicebus torquatus (Callicebus lucifer)	Tocón de collar
	Callimico goeldii	Pichico falso de Goeldi
	Lagothrix lagothricha poeppigii (Lagothrix poeppigii)	Mono lanudo de Poeppigi
	Leontocebus tripartitus (Saguinus tripartitus)	Pichico de manto dorado

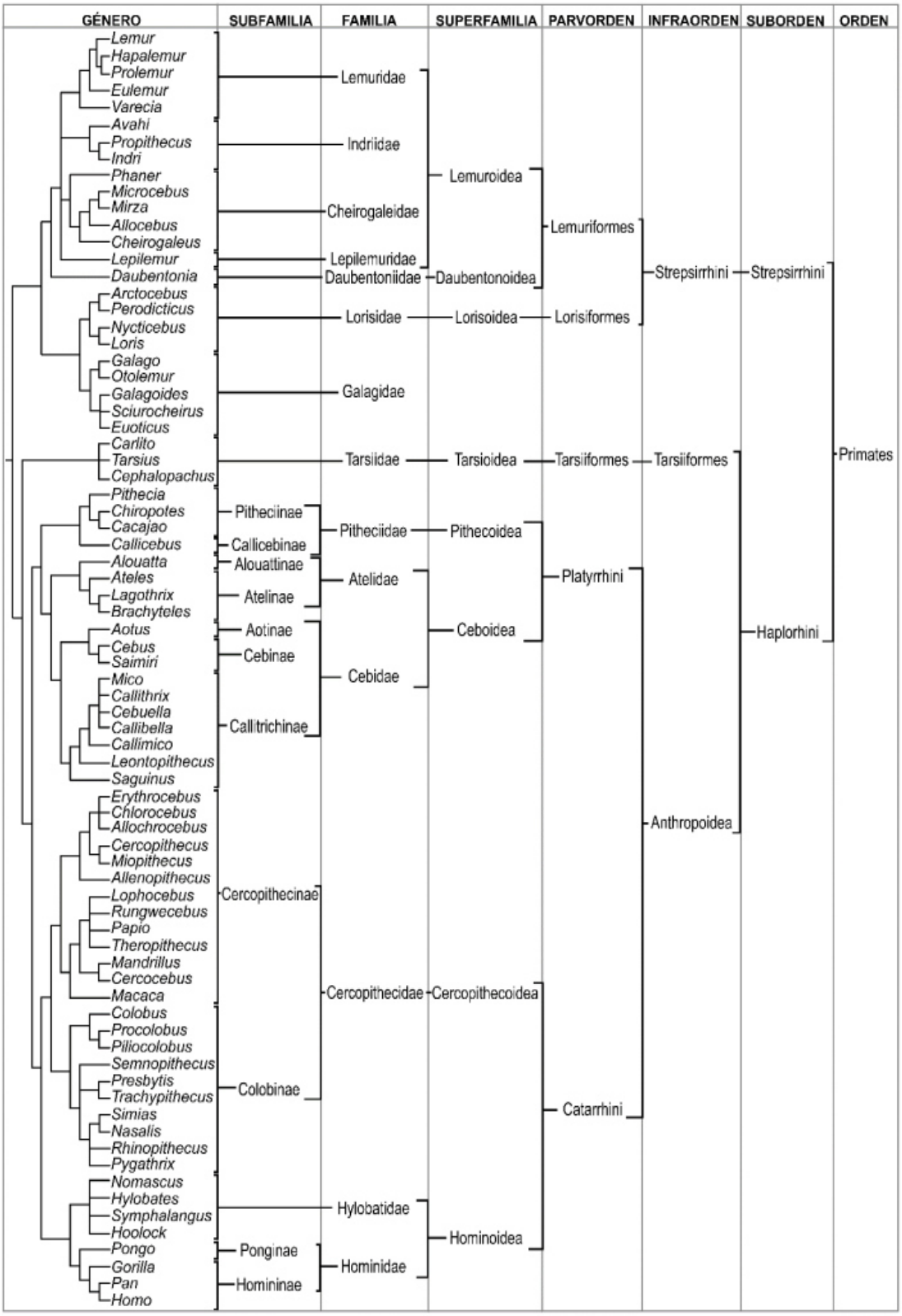


Figura 8: Árbol filogenético de los primates (Tomado de Kowalewski *et al.*, 2016).

II.9.1.1. *Platirrinos*

II.9.1.1.1. Atelidae

Estos primates de gran tamaño corporal se encuentran en Latinoamérica, desde Argentina hasta México, e incluyen los géneros de monos de cola prensil: *Alouatta* sp. o monos aulladores, *Ateles* sp. o monos araña, *Brachyteles* sp. o muriquis y *Lagothrix* sp. o monos lanudos. En cuanto a diferencias físicas, dentro de los *Alouatta* sp., los machos pueden pesar hasta un 25% más que las hembras, mostrando dimorfismo sexual, similar a los *Lagothrix* sp.; en cambio, *Ateles* sp. y *Brachyteles* sp. no presentan esta diferencia de tamaño entre sexos. Incluso en los *Brachyteles* sp. las hembras pueden presentar un clítoris prominente que a veces se confunde con un pene (Kowalewski *et al.*, 2016).

En base a su alimentación, *Alouatta* sp. dedica gran parte de su tiempo a consumir hojas, aunque todos los géneros tienen una dieta variada que incluye frutas y flores, especialmente en ciertas épocas del año. Los muriquis también incorporan hojas en su dieta y tienen adaptaciones para procesarlas. Los monos lanudos han sido observados consumiendo insectos en algunas épocas, lo cual es sorprendente debido a su tamaño (Fleagle, 2013).

Respecto a la locomoción, los muriquis y los monos araña tienen extremidades largas y se movilizan por el bosque mediante braquiación, a diferencia de los monos aulladores y lanudos. Estos presentan diferentes sistemas de organización social, incluyendo parejas, harén y grupos multimacho-multihembra (Kowalewski *et al.*, 2016). Los monos araña, en particular, emplean un sistema de fisión-fusión similar al de los chimpancés, en el cual grupos grandes se dividen en unidades de forrajeo más pequeñas que mantienen contacto auditivo. Los monos aulladores forman grupos cohesivos que se separan brevemente al alimentarse (Kowalewski *et al.*, 2016).

En Perú, específicamente, podemos encontrar las especies *Alouatta palliata* o Mono aullador de manto negro*, Alouatta sara* o Mono aullador rojo boliviano*, Alouatta seniculus* o Mono coto*, Ateles belzebuth* o Maquisapa de frente amarilla*, Ateles chamek* o Mono araña negro*, Lagothrix flavicauda* o Mono choro de cola amarilla *y Lagothrix lagotricha* o Mono choro común (Pacheco *et al*., 2021) (Figura 9).

II.9.1.1.1.1. Alouatta seniculus

Los monos aulladores se consideran como una especie de menor preocupación, pero con población decreciente pues son cazados como alimento (UICN, 2017) que destacan por su cráneo y mandíbula prominentes, una cola prensil del largo de su cuerpo ausente de pelo en la punta que les permite usarla como una quinta extremidad durante la locomoción y alimentación en los árboles. El hueso hioideo, especialmente grande en los machos, está adaptado para sus fuertes vocalizaciones territoriales (Arguello *et al*., 2010) caracterizados por una dieta principalmente folívora y una estrategia de conservación de energía (Aquino *et al*, 2016a).

II.9.1.1.1.2. Ateles chamek

Los monos araña se consideran como una especie en peligro de extinción y con población en franco decrecimiento contando con 31 individuos/km^2 en Perú pues son cazados como alimento, pierden territorio habitable por aumento de terrenos de cultivo y campos de minería (UICN, 2017). Tienen un cuerpo delgado, extremidades largas y delgadas, lo que les facilita desplazarse ágilmente en la copa de los árboles por lo que generalmente viven en ellos. Su manto es negro y su rostro oscuro no tiene pelo. Poseen una cola prensil y larga que funciona como una quinta extremidad para ayudar en la locomoción, así como un pulgar reducido que mejora su habilidad motriz. Su dieta se basa en frutas maduras. Estos monos muestran comportamientos sociales complejos y adaptaciones que les permiten vivir en grandes grupos y cruzar ríos en busca de recursos o para integrarse a nuevos grupos (Giraud *et al*., 2023).

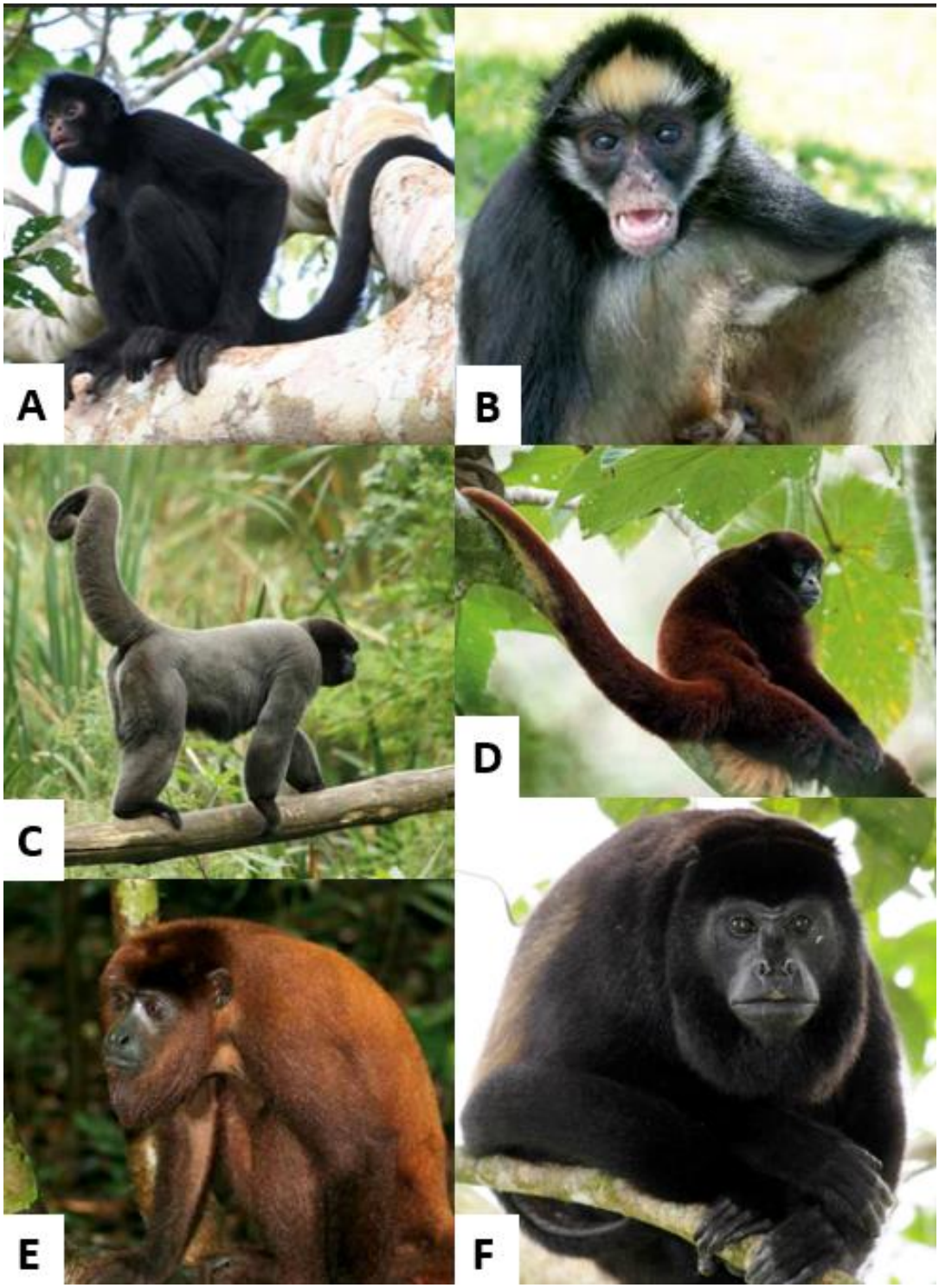


Figura 9. Algunos ejemplares de las distintas especies pertenecientes a la familia Atelidae. **A.** *Ateles chamek*, **B.** *Ateles belzebuth*, **C.** *Lagothrix lagotricha*, **D.** *Lagothrix flavicauda*, **E.** *Alouatta seniculus*, **F.** *Alouatta palliata* (Tomado de Allgas *et al*, 2017).

II.9.1.1.2. Cebidae

Este grupo incluye a los capuchinos (*Cebus* sp. y *Sapajus* sp.), los monos ardilla (*Saimiri* sp.) y los monos nocturnos (*Aotus* sp.). Los capuchinos son primates de tamaño mediano (hasta 3.5 kg), con alta relación cerebro-cuerpo, pulgares semi oponibles, dimorfismo sexual. Tienen amplia distribución en América Latina, son los segundos en extensión territorial, después de los monos aulladores (Kowalewski *et al.*, 2016).

Los monos ardilla son pequeños (menos de 1 kg), tienen una dieta variada que incluye insectos y frutas, y son comunes en bosques tropicales de baja altitud y secundarios. Forman grandes grupos multihembra-multimacho de hasta 300 individuos, aunque muchas veces estas agrupaciones son temporales. Su reproducción es estacional, con machos que experimentan un aumento temporal de tamaño y peso (20-25%) previo al apareamiento, asociado a mayores niveles de testosterona y atracción hacia las hembras. Este incremento puede facilitarles la competencia con otros machos, aunque implica costos fisiológicos (Alfaro *et al*., 2012).

Los monos nocturnos son los únicos primates con actividades nocturnas del mundo. Son de tamaño mediano, sin dimorfismo sexual, con adaptaciones como largas piernas, colas, almohadillas en manos y pies, pulgares apenas oponibles, y uñas de acicalamiento tipo garra. Su dieta incluye principalmente frutos, además de hojas, flores e insectos. Viven en pequeños grupos y son monógamos sociales, con machos que participan activamente en el cuidado de las crías. Se distribuyen desde Panamá hasta Argentina (IUCN, 2017).

En Perú, específicamente, podemos encontrar las especies *Callimico goeldi, Cebuella niveiventris, Cebuella pygmaea, Saginus fuscicollis, Saginus lagonotis, Saginus leucogenys, Saginus nigricollis, Saginus nigrifrons, Saginus tripartitus, Saginus weddelli, Saginus imperator, Saginus labiatus, Saginus labiatus, Saginus mystax, Aotus azare, Aotus miconax, Aotus nancymae, Aotus nigriceps, Aotus vociferans, Cebus albiforns, Cebus apella, Saimiri boliviensis, Saimiri sciureus* (Pacheco *et al*., 2021) (Figura 10).

II.9.1.1.2.1. Cebus unicolor

También llamado *Cebus albifrons* o *Cebus albifrons unicolor* (Spix, 1823), su nombre común es Machín blanco o Capuchino de frente blanca. Actualmente es una especie Vulnerable (UICN, 2017). Miden entre 40 y 60 cm y pesan aproximadamente 5 kg. Su pelaje y rostro puede variar de color marrón brillante a marrón amarillento, sin embargo, su pelaje alrededor del cuello, pecho, abomen y cara interna de brazos-piernas son de una tonalidad blanquecina (Allgas *et al*., 2017). Su población tiene una tendencia constante al descenso pues tienen a ser cazados y usados como mascotas o comida por las personas (UICN, 2017).

II.9.1.1.2.2. Saguinus labiatus

También llamado *Tamarindus labiatus*, su nombre común es pichico de pecho anaranjado (UICN, 2017). Especie considerada en preocupación menor (UICN, 2017) aunque otras fuentes dicen que se encuentra En Peligro de Extinción (MINAM, 2018) o En Peligro Crítico (MINAGRI, 2020). Son animales pequeños, ágiles y con pelaje mayormente oscuro, pecho anaranjado y un área blanca en la región de los labios que da la apariencia de un bigote. Sus dedos largos y uñas no retráctiles le permiten una excelente capacidad para trepar y sujetarse (Snowdon y Soini, 1988). Estos tienen una alimentación frutal que representa entre un 20 - 65% de su tiempo, variando entre frutas, insectos, pequeños vertebrados, néctar y exudados de plantas, por lo que funcionan como dispersores de semillas en el bosque tropical (Prescott *et al*., 2005). Su población tiene una tendencia constante al descenso pues se usan como mascota, aunque no son foco directo de caza, además que la tala y pastoreo de bosques destruye su hábitat (UICN, 2017).

II.9.1.1.2.3. Saginus mystax

También llamado pichico barba blanca. Es pequeño, de pelaje negro, bigotes largos y curveados con pelos blanquecinos y cola no prensil. Habita bosques de altura primarios en colinas, pero también usa eventualmente los bosques secundarios e inundables o en regeneración. De actividades diurnas y comportamiento gregario, aunque muchas veces se le ha visto junto a *S. fuscicollis* casi en el 82% de su período de actividad principalmente buscando protección mutua frente a predadores (Heymann, 1990). Son PNH monógamos y polígamos, generalmente tienen pariciones dos veces al año siendo el pico más alto entre los meses de diciembre - febrero, y cada gestación, mayormente, es de gemelos, aunque usualmente una sola hembra del grupo se

reproduce por estación. Su alimentación se compone en su mayoría de frutos, insectos, larvas de insectos, arácnidos y pequeños vertebrados (anfibios y saurios) (Fang, 1987).



Figura 10. Algunos ejemplares de las distintas especies pertenecientes a la familia *Cebidae*. **A.** *Cebus apella*, **B.** *Cebus unicolor*, **C.** *Saimiri sciureus*, **D.** *Aotus nigriceps*, **E.** *Saimiri boliviensis*, **F.** *Aotus nancymae* (Tomado de Allgas *et al*, 2017).

II.9.1.1.3. Pitheciidae

Los pitéciidos siempre han sido un grupo algo enigmático de primates. Abarcan los géneros *Cacajao* sp., *Chiropotes* sp., *Pithecia* sp. y *Callicebus* sp., se caracterizan por rápida velocidad de movimiento, uso de copas altas de los árboles, tamaño reducido de grupos y estilo de vida discreto, por ello siempre representaron un desafío difícil para los primeros primatólogos, siendo sus descripciones físicas basadas en descripciones inexactas, por lo que se llegó a un consenso de que los pitéciidos eran "los menos conocidos de todos los primates neotropicales" (Mittermeier, 2013).

Estos monos son pequeños, de alrededor de 3 kg y poseen una dentición adaptada para procesar frutas y semillas duras, lo que les diferencia de otros primates (Barnet *et al*. 2015). Su socialización es altamente diversa y adaptativa pues en sus distintos géneros muestran una gama de sistemas sociales: *Callicebus* sp. es generalmente monógamo, viviendo en grupos familiares de una pareja y sus crías, mientras que *Chiropotes* sp. y *Cacajao* sp. forman grandes grupos de hasta 200 machos y hembras. En estos géneros, se observan comportamientos cooperativos y tolerancia entre machos, incluyendo la formación de alianzas, lo cual podría reducir la competencia y fortalecer el acceso a recursos y parejas (Barnett *et al*., 2015).

En Perú, específicamente, podemos encontrar las *especies Callicebus cupreus, Callicebus discolor, Callicebus lucifer, Callicebus oenanthe, Callicebus toppini, Callicebus urubambensis, Cacajao calvus, Pithecia aequatorialis, Pithecia irrorata, Pithecia isabela, Pithecia monachus, Pithecia napensis* (Pacheco *et al*., 2021) (Figura 11).

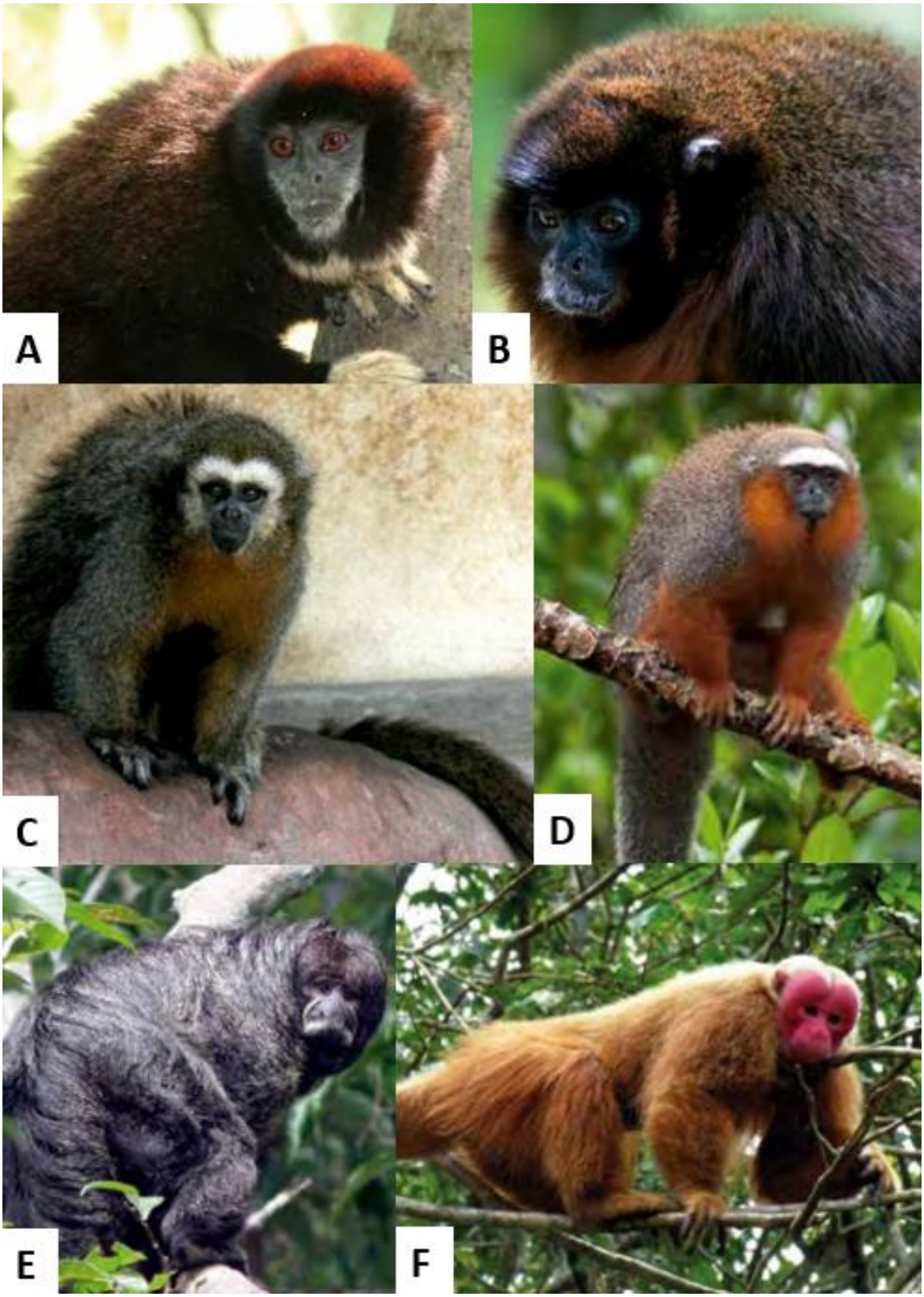


Figura 11. Algunos ejemplares de las distintas especies pertenecientes a la familia Pithecidae. **A.** *Callicebus lucifer*, **B.** *Callicebus cupreus*, **C.** *Callicebus oenanthe*, **D.** *Callicebus discolor*, **E.** *Pithecia monachus*, **F.** *Cacajo calvus* (Tomado de Allgas *et al*, 2017).

II.9.2. La pandemia del COVID – 19 en Perú

El sistema de salud enfrentó muchos casos durante la pandemia del COVID-19 a pesar de que se implementó la cuarentena y confinamiento para intentar contener al virus. Reportes nacionales recientes indican una totalidad de 4 519 976 peruanos contagiados y cerca de 222 161 pacientes fallecidos (MINSA, 2023) siendo una tasa aproximada de 1200 fallecidos por cada millón de habitantes (Schwalb y Mares, 2021).

El sector salud peruano recibe una pequeña parte del presupuesto interno anual (5%), concentrándose la mayor proporción de este en la capital por lo que departamentos más alejados, donde solo se puede acceder por río o avioneta como Loreto y Ucayali, se volvieron imposibles de suministrar y sus cifras oficiales de muertos mantenían recuentos erróneos (Fraser, 2020).

Los mensajes del gobierno y medios periodísticos no transmitían la realidad y gravedad de la enfermedad, se generó confusión pues muchos peruanos habitan en vecindarios multi poblados y viven de los ingresos diarios en empleos informales lo que llevaba a necesidad de trabajar, escasez de recursos y un mal distanciamiento social, hubo mucha desigualdad y dificultad en acceso a la atención médica, escándalos de corrupción en la inoculación de vacunas, hospitales pobremente equipados mayormente en áreas rurales o lejanas a la capital, demanda diaria de tanques de oxígeno y aumento exorbitante de los precios, no se contó con suficientes pruebas PCR y sus resultados salían con retraso, dificultando la identificación y el aislamiento de los casos positivos por lo que no se hizo un adecuado rastreo de contagiados (Herrera *et al*., 2021) ni registro total fidedigno de cantidad de personas fallecidas (Fraser, 2020).

Perú atravesó cinco olas muy definidas durante la pandemia COVID-19 entre los años 2020-2023 (Figura 12), considerando que un año posee 52 semanas epidemiológicas (SE), las olas estuvieron separadas como: la primera ola entre la SE 10-2020 a la SE 44-2020, la segunda ola entre la SE 45-2020 a la SE 42-2021, la tercera ola entre la SE 43- 2021 hasta la SE 17-2022, la cuarta ola durante la SE 18-2022 a la SE 41-2022 y finalmente la quinta ola que inició en la SE 42-2022 a la SE 04-2023 (MINSA, 2023). La mayor cantidad de brotes, contagios y defunciones fueron durante la segunda y tercera ola, siendo los departamentos de Lima, Tumbes, Amazonas, Madre de Dios y Moquegua los más afectados durante el periodo 2020 y 2022, mientras que en el 2021 se sumó Ancash y Arequipa (MINSA, 2023) (Figura 13).

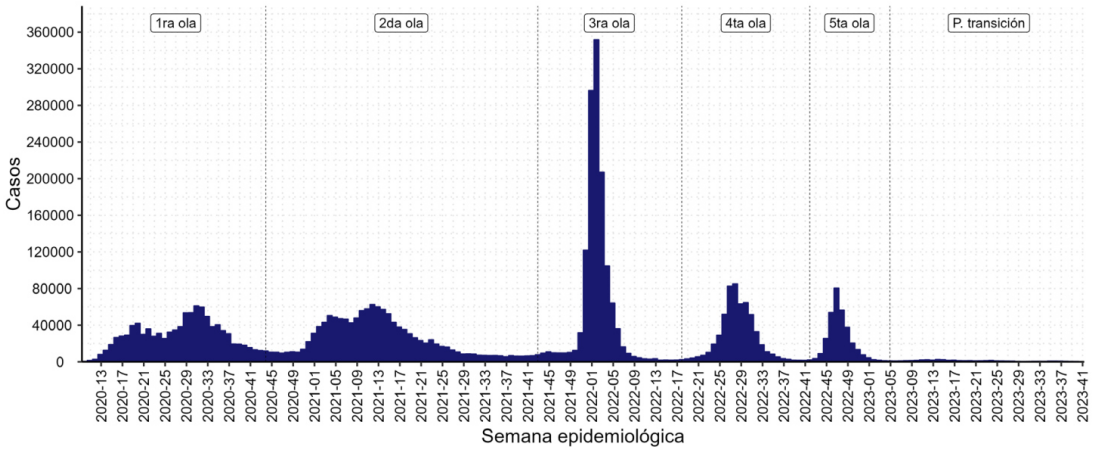


Figura 12. Gráfico demostrativo de las cinco olas de casos SARS-CoV-II registrados durante los 3 años de pandemia. (Tomado del Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades-MINSA, 2023).

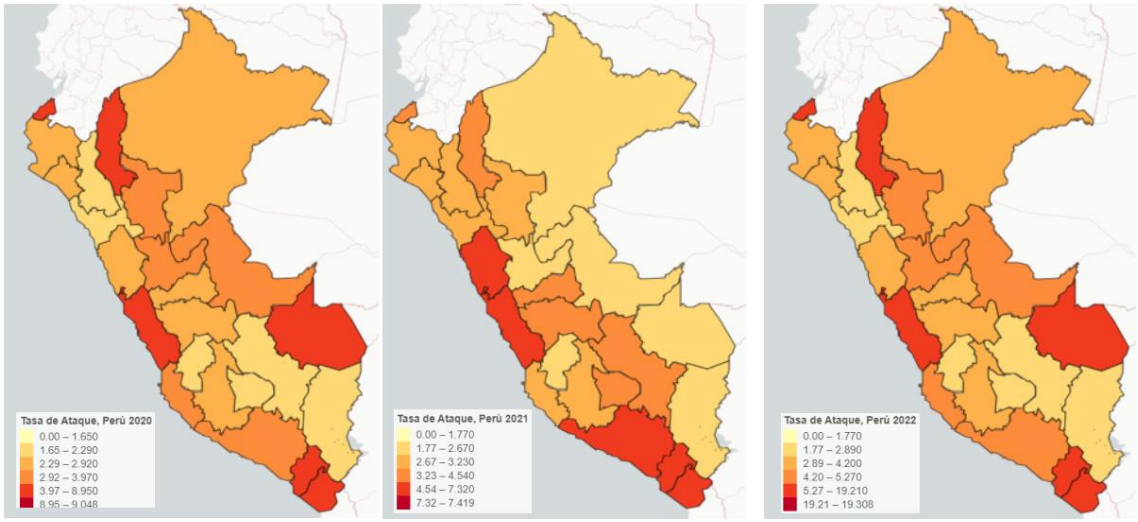


Figura 13. Mapas demostrativos de los departamentos más afectados durante los primeros dos años de pandemia. (Tomado del Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades-MINSA, 2023).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

III.1.1. Lugar de ejecución y periodo de duración

La investigación abarcó los departamentos de Loreto, Ucayali y Madre de Dios:

III.1.1.1. Loreto

Loreto es el departamento ubicado en la selva nororiental del Perú, cuya capital es Iquitos. Viene a ser el departamento más grande de este país con una extensión territorial de 5.932,25 Km^2 y 261 648 habitantes aproximadamente. La capital solo cuenta como único modo de acceso a las vías fluviales o aéreas. La altitud del territorio está entre los 57 msnm y los 2216 msnm. Cuenta con 8 provincias y 53 distritos (INEI, 2018b).

III.1.1.1.1. Isla Padre

Isla del río Amazonas que se encuentra entre las coordenadas 03º 44'S y 73º 14' O, a 8.5 Km al noreste de la ciudad de Iquitos, en el distrito de Belén, provincia de Maynas. Forma parte del Bosque Húmedo Tropical considerada como Bosque Aluvial Tipo III (Figura 14). Cuenta con una superficie total de 14.6 Km^2 y está atravesada por numerosos cuerpos de agua estancada conocidos como "cochas" que, durante el período de incremento del caudal, denominado "creciente", se transforman y actúan como cuerpos de agua de corriente continua. Presenta dos caseríos: Dos de Mayo y Padre Isla (Soini, 1975) y con respecto a su clima, la temperatura media es 26°C, la humedad relativa promedio anual es de 78% y la precipitación anual estimada es de 3132 mm (Gazzo, 1985). Isla Padre está considerada como una Estación Biológica del Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (IVITA- FMV 1 UNMSM).

En esta isla se encuentran especímenes de pichico barba blanca (*Saguinus mystax*) en condiciones de semicautiverio, que fueron introducidos entre 1977 y 1980 (Ique y Aquino, 2015) y lograron acomodarse a las condiciones geográficas para su reproducción.

III.1.1.1.2. Isla Muyuy

Isla del río Amazonas que se ubica a 18 km al suroeste de la ciudad de Iquitos, en el distrito de Fernando Lores, provincia de Maynas, con una superficie aproximada de 44.7km^2. Estas áreas se caracterizan por encontrarse seccionada por cuerpos de lagos meándricos o "cochas", además de tener un clima de Bosque Húmedo Tropical, conformado por un bosque de tipo inundable estacional que presenta ocho caseríos: Nueva Amazonía, Pihuicho Isla, Palestina, Timareo, Timareo 1ra. Zona, Timareo 2da. Zona, Timareo 3ra. Zona y Santa Ana de Muyuy, con una temperatura promedio anual de 26°C, oscilando entre 34°- 18°C y una precipitación pluvial total anual entre 2,000 a 3,000 mm^3 (Puertas e Ique, 1996; Municipalidad Maynas, 2021) (Figura 14). En esta isla se encuentran especímenes de pichico pecho anaranjado (*Saguinus labiatus*), en condiciones de semicautiverio, que fueron introducidos en 1988 (UNMSM, 1996).

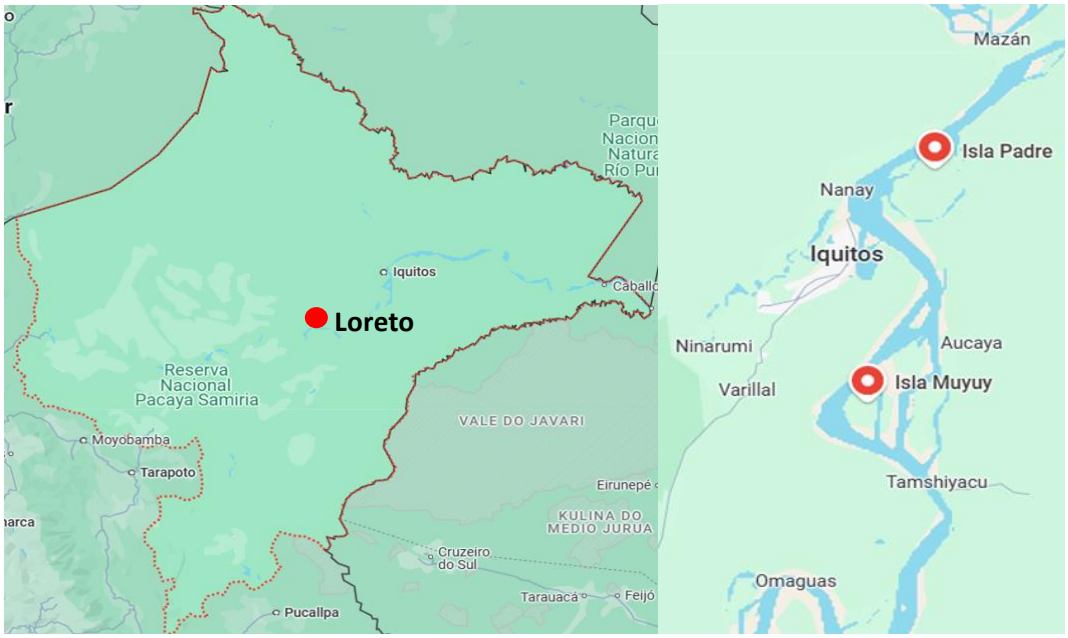


Figura 14. Localización de las Islas Padre y Muyuy en Loreto (Google Maps, 2024).

III.1.1.2. Ucayali

Ucayali es el departamento ubicado en la parte centro oriental del Perú, en la zona de selva, su capital es Pucallpa y abarca una superficie de 105 097 km^2 y 615 024 habitantes, aproximadamente (Figura 15). Bello Horizonte es un pueblo ubicado en la provincia de Padre Abad, en el distrito de Curimaná, donde el clima es cálido, húmedo entre 19° y 30.6°C además de una precipitación media anual de 2 000 mm^3 (BCR, 2023). En esta región se muestrearon PNH mantenidos en cautiverio en un centro de rescate.

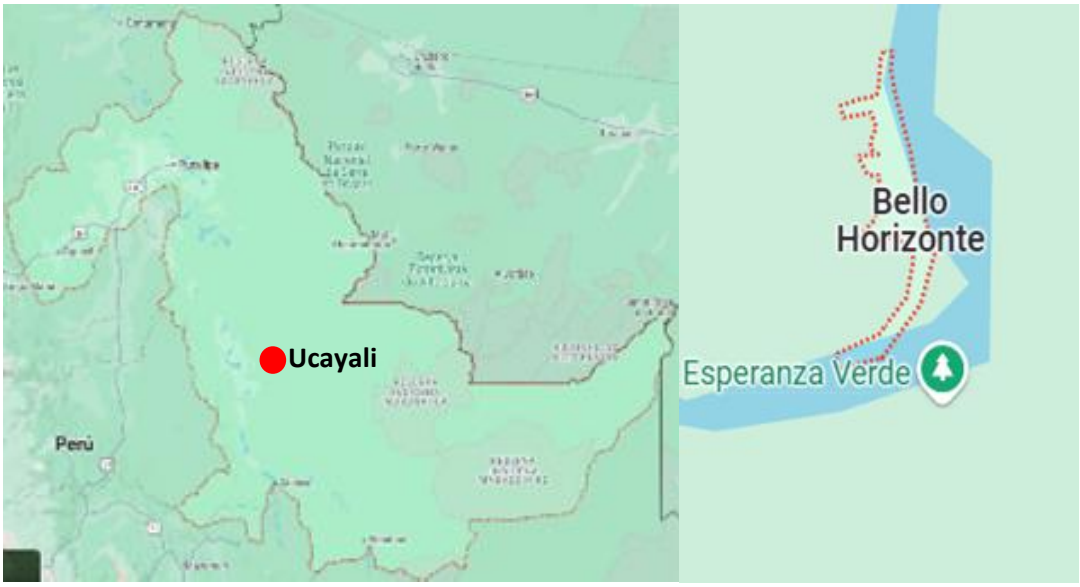


Figura 15. Localización del centro poblado Bello Horizonte en Ucayali (Google Maps, 2024).

III.1.1.3. Madre de Dios

Madre de Dios se encuentra en la región suroriental del Perú, su capital es Puerto Maldonado y abarca una superficie aproximada de 85 300 km^2. Cuenta con un clima tropical cálido y húmedo, una temperatura media anual de 26 °C, oscilante entre 38 ° y 5°C. con precipitaciones anuales que superan los 1000 mm^3. En esta región se muestrearon animales de dos centros de rescate (Figura 16).

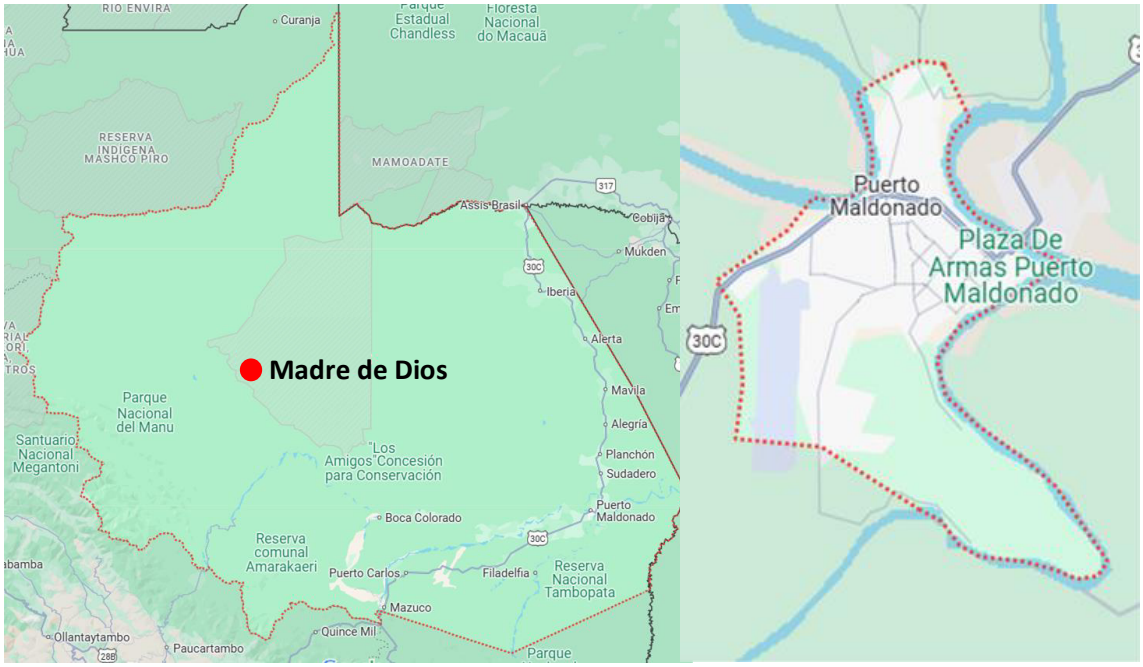


Figura 16. Localización del centro Puerto Maldonado en Madre de Dios (Google Maps, 2024).

Las muestras de heces fueron recolectadas durante los meses de agosto del 2022 y febrero del 2023, tomándose un total de 76 muestras fecales.

III.1.2. Consideraciones Éticas

El presente estudio contó con la autorización para investigación científica de fauna silvestre fuera de áreas naturales protegidas otorgada por el SERFOR, mediante RD N° D000031-2022-MIDAGRI-SERFOR-DGGSPFFS-DGSPFS, y con la aprobación del Comité de Ética y Bienestar Animal de la FMV-UNMSM, mediante Constancia de Autorización Ética Nº 2022-10.

III.1.3. Animales de estudio

Primates No Humanos pertenecientes a las familias *Atelidae* y *Cebidae*.

III.1.4. Atelidae

III.1.4.1. *Alouatta seniculus*

Estos monos aulladores se encontraban en condiciones de cautiverio, en dos centros de rescate de Madre de Dios, en su mayoría provenientes de operaciones de rescate de actividades ilegales de tráfico de fauna silvestre y de venta para consumo de su carne. En el centro de rescate ubicado al noreste de la ciudad de Puerto Maldonado se obtuvieron cinco muestras de una jaula, mientras que del centro ubicado al sur de la ciudad se obtuvieron 13 muestras de dos jaulas (Cuadro 3).

III.1.4.2. *Ateles chamek*

Estos monos araña negros se encontraban en condiciones de cautiverio, en una jaula con aproximadamente siete individuos de su misma especie por jaula en un centro de rescate de Madre de Dios y una jaula de 11 individuos en un centro de rescate de Ucayali, en su mayoría provenientes de operaciones de rescate de actividades ilegales de tráfico de fauna silvestre.

III.1.5. Cebidae

III.1.5.1. *Cebus unicolor*

Estos capuchinos de frente blanca se encontraban en condiciones de cautiverio, en una jaula con seis individuos de su misma especie en un centro de rescate de Madre de Dios y una jaula de nueve individuos en el centro de rescate de Ucayali, en su mayoría provenientes de operaciones de rescate de caza para consumo alimenticio o de uso como mascotas.

III.1.5.2. *Saguinus labiatus*

Estos PNH se encontraban en condiciones de semicautiverio siendo *S. labiatus* prácticamente la única especie de primate en la Isla Muyuy, habitando ese lugar aproximadamente desde 1980 y no pudiendo desplazarse a otras áreas por el aislamiento del río Amazonas. Tiene una población total de 386 individuos agrupados en 35 grupos sociales y con una densidad poblacional cercana a 16.5 individuos/km^2. El contacto con los humanos es bastante esporádico

ya que si bien hay colonias pequeñas de pobladores que no tienen contacto directo, cada cierto tiempo se realizan muestreos o cosechas para la captura de ejemplares con fines de investigación.

III.1.5.3. *Saginus mystax*

Estos PNH se encontraban en condiciones de semicautiverio siendo *S. mystax* prácticamente la única especie de primate en la Isla Padre, habitando ese lugar aproximadamente desde 1980 y no pudiendo desplazarse a otras áreas por el aislamiento del río Amazonas. Tiene una población total de 583 individuos agrupados en 45 grupos sociales y con una densidad poblacional cercana a 71.3 individuos/km^2. El contacto con los humanos es bastante esporádico ya que si bien hay colonias pequeñas de pobladores que no tienen contacto directo, cada cierto tiempo se realizan muestreos o cosechas para la captura de ejemplares con fines de investigación.

III.1.6. Toma de muestra

Para el método de muestreo se trabajó en dos escenarios: el de una población en semicautiverio de las Islas y el de una población en cautiverio dentro de jaulas en los centros de rescate. Para el primer escenario se utilizó el protocolo de toma de muestra no invasivo (Rolland *et al*., 1985) donde el personal del IVITA-Iquitos, previamente capacitado y con equipo de protección personal (EPP), siguió a PNH clínicamente sanos a lo largo de los bosques durante tempranas horas de la mañana (7-9 am), visualizando el momento en el que defecaban y acercándose a recolectar las heces que tuvieran consistencia formada y firme (score de heces 2-3) (Moxham, 2001). En el segundo escenario, el personal de cada centro de rescate, previamente capacitado y con EPP, ubicó las jaulas de los PNH en estos centros y trabajó en base a las especies disponibles siendo que en cada jaula había un aproximado de 5 ejemplares (todos de la misma especie) y verificando que tuvieran un aspecto clínicamente sano mediante evaluación visual. De igual forma, esperaron a que defecaran casi todos los PNH de cada jaula y luego utilizaron un cebo que los atrajo a otra jaula de retención temporal para que así el personal pudiera ingresar, sin riesgo de ataques o mordeduras, a colectar las heces. Una vez muestreada una jaula, esta ya no volvió a ser tomada en cuenta en otro muestreo de este estudio.

En ambos escenarios se utilizó cucharas de plástico descartables previamente desinfectadas con etanol al 70% (Hersil, Perú) y se tomó un gramo de heces frescas con score de 2 -3, teniendo cuidado de no colectar la parte que hizo contacto directo con el suelo u otras superficies, con el fin de minimizar una contaminación cruzada de la muestra. Inmediatamente cada muestra fue colocada en tubos de 2 mL previamente llenados con 1 mL ARN later y se rotuló con la especie de PNH, su código asignado, la fecha de muestreo y el lugar de procedencia, almacenándose en un "cooler" (Basa, Perú) con geles refrigerantes en su interior (Gelpack Tippic, Perú) a temperatura de refrigeración controlada (4°C) y posteriormente se embalaron siguiendo el sistema de triple empaque para el traslado de muestras biológicas potencialmente peligrosas (OMSA, 2018). Todas las muestras se enviaron dentro de las primeras 24 horas post recolección por vía aérea al Laboratorio de Biología y Genética Molecular de la FMV-UNMSM para ser almacenadas a -20°C hasta su procesamiento. Luego, las muestras se organizaron en grupos de acuerdo con las especies y las áreas de muestreo (Cuadro 3) y se prepararon para el análisis molecular.

III.1.7. Análisis molecular

III.1.8. Enriquecimiento Viral

Se diluyó aproximadamente 1 g de heces en Solución Buffer Fosfato (PBS) 1:2000 en tubos de 2 mL, una vez homogenizada se procedió a centrifugar a 14 000 rpm por 10 minutos a 4°C. Se recuperó 200 µl de sobrenadante de cada muestra y se agruparon en pooles tal como se especifica en el cuadro 2 (Hardmeier *et al*., 2021; Yang *et al*., 2022). Los pooles fueron filtrados a través de un filtro de columna de jeringa de 0,22 µm (Millipore, Burlington, MA, USA) y se recuperó 500 µL de cada *pool* de filtrado fecal, para ser tratadas con la mezcla de nucleasas compuesta por: 3,74 µl de nucleasa micrococica (2×10^6 gel U/ml; New England Biolabs), 52,36 µl de buffer (10x) de nucleasa micrococica y 3,74 µl de ribonucleasa A (30mg/ml; Sigma-Aldrich). Posteriormente las reacciones se incubaron por 15 minutos a 45°C y durante 1 hora a 37°C. Después de ello se extrajo 250 µl de muestra para luego hacer la extracción con el kit Quick-RNA Zymo (Zymo Research, USA).

Cuadro 3. Lista de grupos de muestras de heces PNH clasificadas según especie, condición social y área de muestreo (N=76).

Pools	Muestras de heces	Especie de PNH	Condición	Área de muestreo	Región
1	7	*Alouatta seniculus*	Cautiverio	Sur de Puerto Maldonado	Madre de Dios
2	6	*Alouatta seniculus*	Cautiverio	Sur de Puerto Maldonado	Madre de Dios
3	5	*Alouatta seniculus*	Cautiverio	Noreste de Puerto Maldonado	Madre de Dios
4	7	*Cebus unicolor*	Cautiverio	Sur de Puerto Maldonado	Madre de Dios
5	7	*Ateles chamek*	Cautiverio	Noreste de Puerto Maldonado	Madre de Dios
6	7	*Ateles chamek*	Cautiverio	Noreste de Puerto Maldonado	Madre de Dios
7	11	*Ateles chamek*	Cautiverio	Bello Horizonte	Ucayali
8	9	*Cebus unicolor*	Cautiverio	Bello Horizonte	Ucayali
9	9	*Saguinus labiatus*	Semicautiverio	Muyuy	Loreto
10	8	*Saguinus mystax*	Semicautiverio	Padre Isla	Loreto

III.1.9. Extracción de ARN viral

Manteniéndose una cadena de frío a 4°C, el protocolo de extracción fue:

1. Se homogenizó los 250 µL de cada pool con 250 µL de ARN Shield (2x concentrado) y luego añadió 1000 µL de Buffer Viral de ARN.
2. Se transfirió la muestra a una columna Zymo-Spin en un tubo de colección y se centrifugó por dos minutos. La columna se transfirió a un nuevo tubo de colección.
3. Se agregó 500 µL de Buffer de Lavado Viral a la columna y se centrifugó por 30 segundos, desechando el sobrenadante. Este último paso se repitió por segunda vez.
4. Se mezcló el remanente con 500 µL de etanol (95-100%) dentro de la columna y se centrifugó por un minuto, para asegurar la completa eliminación del buffer de lavado, teniendo cuidado de transferir la columna dentro de un tubo libre de nucleasas.
5. Finalmente se adicionó 15 µL de Agua Libre de Nucleasas directamente en la columna matriz y se centrifugó por 30 segundos, obteniéndose el ARN

III.1.10. Síntesis de ADN complementario (ADNc)

Con el kit SupertScriptTM IV First-Strand Synthesis System se sintetizó el ADNc a partir de las moléculas de ARN.

1. Para la desnaturalización del ARN y el alineamiento de los primers se agregaron en un tubo de PCR 1 µL de hexámeros aleatorios de 6 bases (50 ng/ µL), 1 µL de mezcla 10 mM dNTP y 11 µL de RNA muestra. Esta mezcla se homogenizó e incubó a 65°C por 5 minutos y luego se puso en frío por 1 minuto.
2. Para preparar la mezcla de reacción RetroTranscripción o la RT-PCR (RT) se añadió los siguientes componentes en el tubo: 4 µL de SSIV Buffer (5×), 1 µL de 100 mM DTT, 1 µL de Inhibidor de Ribonucleasa y 1 µL de SuperScript™ IV Transcriptasa Reversa (200 U/µL). Posteriormente se homogenizó y centrifugó el contenido.
3. Se mezcló el producto del paso 1 con el paso 2.
4. Para incubar la reacción del paso 3 se incubó a 23°C por 10 minutes y luego a 50°C por 10 minutos.
5. Para sintetizar la cadena complementaria del ADNc se añadió 0.8 µL de dNTP, 1 µL de hexámeros aleatorios (50 ng/ µL), 4 µL de Buffer Klenow (10x) y se complementó con agua libre de nucleasas a un volumen final de 39.6 µL.
6. La mezcla se incubó a 95°C por 1 minuto
7. Posteriormente se añadió 0.4 µL de Klenow fragment DNA polimerase
8. Finalmente se incubó a 25°C por 15 minutos, 37°C por 1 hora y 95°C por 1 minuto.
9. Se volvió a añadir 0.2 µL de Klenow (Hardmeier *et al.,* 2021) se incubó a 25°C por 15 minutos, 37°C por 1 hora y 95°C por 1 minuto.

Posteriormente el ADN doble cadena sintetizado se sometió a una reacción de PCR anidada usando cebadores pan-coronavirus dirigidos a la ARN Polimerasa dependiente de ARN – ARN Replicasa (siglas en inglés: RdRp) (gen ORF1ab) (Chu *et al*., 2011).

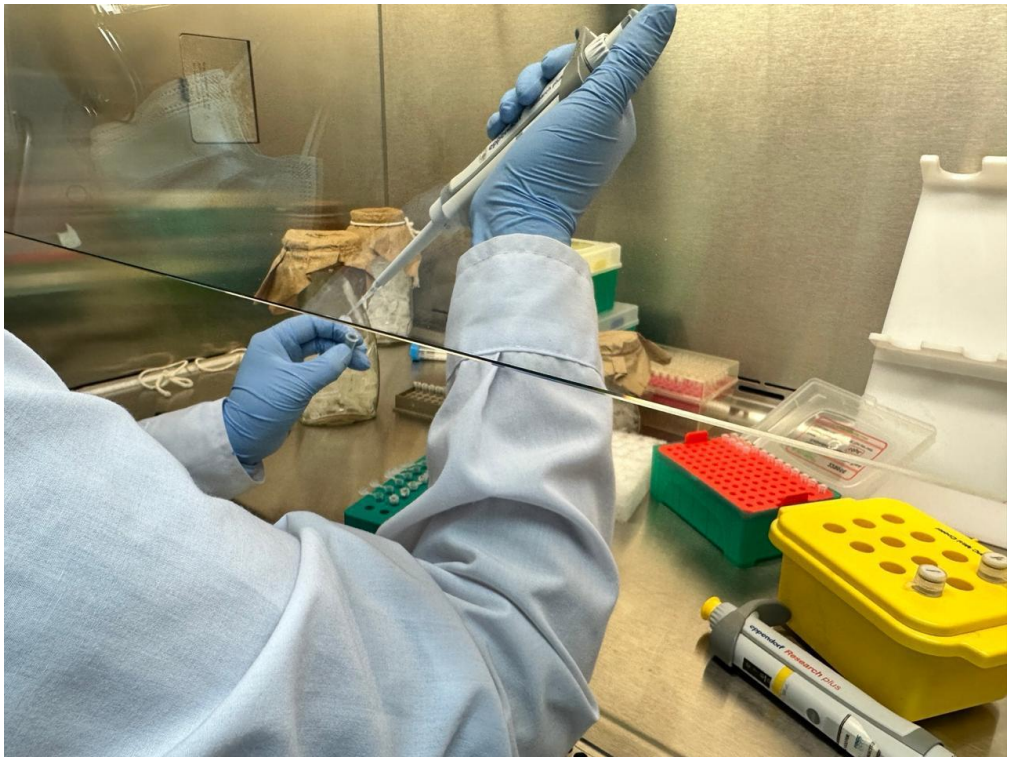


Figura 17. Procesamiento de muestras en cámara de flujo.

III.1.11. Amplificación por PCR Nested

Para la primera ronda de PCR, fue realizada una mezcla donde se añadieron 5 µL del ADNc obtenido, 0,2 µM de cada uno de los primers externos (5'-GGKTGGGAYTAYCCKAARTG-3' y 5'-TGYTGTSWRCARAAYTCRTG-3', Buffer (1x) PCR, 0,2 mM de dNTPs, 1 U de *Taq* polimerasa y agua libre de nucleasas hasta completar un volumen final de 25 µL, obteniendo un fragmento de aproximadamente 600 pb. Posteriormente, 1 µL del producto de la PCR se colocó a una mezcla que contenía 0,2 µM de cada uno de los primers internos (5'-GGTTGGGACTATCCTAAGTGTGA-3' y 5'-CCATCATCAGATAGAATCATCAT-3') y las mismas concentraciones de reactivos utilizadas en la reacción anterior. La primera y segunda ronda de PCR se realizaron a: 94 °C durante 5 min seguidas de 40 ciclos de 94 °C durante 40 s, 48 °C durante 1 min y 72 °C durante 1 min. La reacción concluyó con un paso final de extensión a 72 °C durante 10 min. Se incluyó controles positivos y negativos (cepa de la vacuna canina CoV NL-18-Laboratorio ZOETIS- y agua libre de nucleasas, respectivamente) que fueron extraídos con el mismo protocolo de las muestras de heces. Los productos de PCR Nested se analizaron en gel de agarosa al 2% teñido con SYBR™ Safe DNA Gel Stain (Invitrogen, Eugene, OR, USA) durante 1 hora con una corriente de 100 A

y 100 V. La presencia de un producto de aproximadamente 440 bp habría sido indicativo de la amplificación de ácidos nucleicos de coronavirus.

III.1.12. Detección de secuencias de coronavirus mediante secuenciación metagenómica

La secuenciación metagenómica fue mediante el uso de bibliotecas con el ADNc obtenido de los *pools* fecales usando el kit de preparación Nextera XT Library, y la secuenciación se realizó en la plataforma MiSeq (Illumina, San Diego, CA, EE. UU.) con 600 ciclos por par de lectura de secuenciación (2 × 250 pb). Los *reads* obtenidos fueron procesados mediante programas bioinformaticos, para ello, las secuencias de mala calidad se eliminaron usando Trimmomatic (Bolger *et al.*, 2014) con los parámetros LEADING:3 TRAILING:3 SLIDINGWINDOW:4:20 MINLEN:50. La calidad de los datos fue evaluada con el programa FastQC v0.11.5; (http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/; consultado el 12 de julio de 2023). Para el ensamblaje *de novo* de los datos de secuencia recortados se usó el programa Megahit v 1.2.9 (Li *et al*., 2015). Mediante BLASTX (Diamond v 0.9.24) (Buchfink *et al.*, 2015) se buscó identificar las secuencias de coronavirus frente a la base de datos de proteínas del coronavirus de RefSeq (O'Leary *et al.*, 2016). Para evaluar que la secuencia emparejada no fuera un producto erróneo del ensamblaje, se mapearon las lecturas con el genoma de referencia del SARS-CoV-2 Wuhan-1 (MN908947.3) con el programa Bowtie2 v 2.5.1 (Langmead y Salzberg, 2012).

III.1.13. Análisis filogenético

Las secuencias homólogas a las identificadas en el análisis se recuperaron de la base de datos del NCBI (Agarwala *et al.,* 2018) (Cuadro 4) y se utilizaron para realizar los análisis filogenéticos. Se generaron alineaciones múltiples utilizando el programa Aliview (Larson, 2014). Para la construcción del árbol filogenético, se empleó el servidor en línea IQ-TREE (Trifinopoulus *et al*., 2016), que recomedó el uso del método de máxima verosimilitud y el modelo de sustitución de nucleótidos GTR + F + I + G4 con 1000 réplicas de *Bootstrap*, el resto de los parámetros se mantuvieron. Para la edición y visualización del árbol filogenético se utilizó el programa iTOL v5 (Letunic y Bork., 2021).

IV. RESULTADOS

El fragmento esperado de la banda fue alrededor de 440 pb, sin embargo, nuestros controles positivos (CP) dieron como resultado una banda de alrededor de 500 pb, similar al genoma de Wuhan. También se corrieron todos los *pooles* de las muestras analizadas mediante la prueba PCR Nested, sin embargo, en ninguna se llegó a amplificar (Figura 18).

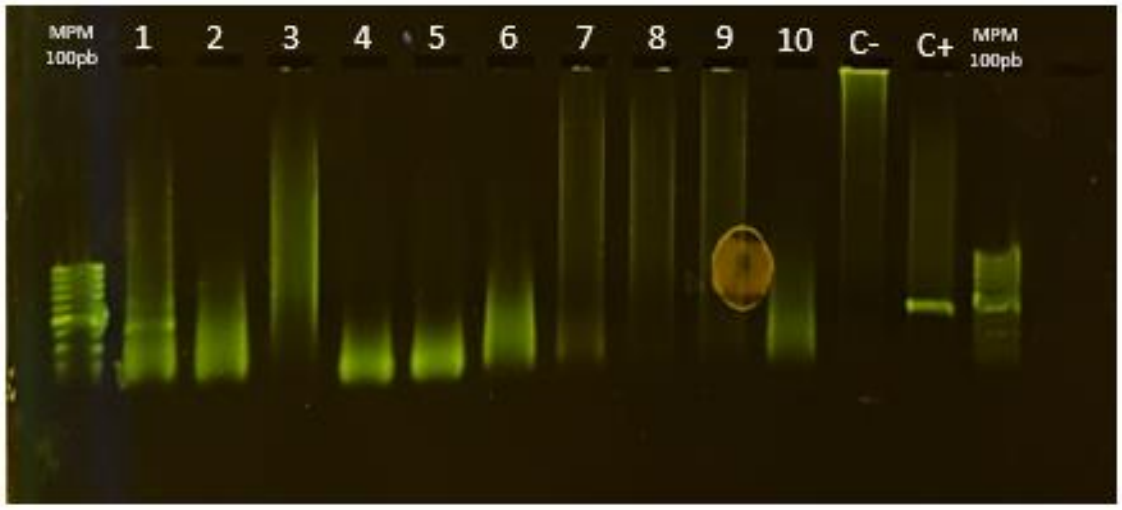


Figura 18. Electroforesis en gel de agarosa, donde se identifica el Ladder de 100pb ubicado a los extremos del gel, seguido de los *pooles* 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10, el Control Positivo (C+) que fue una vacuna de coronavirus inactivado (CPV-CV VANGUARD PLUS, Zoetis) ubicado aproximadamente a nivel de 500 pb y el Control Negativo (C-) que fue agua libre de nucleasas.

Mediante secuenciamiento metagenómico de todos los *pools* de muestras, se generaron 106’082,436 reads, que después de remover los reads de baja calidad disminuyeron a 36’196,466 reads. La filtración de estos contigs con la base de datos de RefSeq reveló la presencia de contigs compatibles con secuencias de coronavirus del subgénero *Sarbecovirus*. Para confirmar el hallazgo, todos los contigs fueron alineados con la cepa Wuhan-1 de SARS-CoV-2 (MN908947.3), esto con el fin de confirmar el hallazgo previo. Finalmente fue posible la identificación de 1 contig de 315 bp en el *pool* 8 de las muestras fecales de *Cebus unicolor* procedente de Bello Horizonte, Ucayali.

La secuencia obtenida de 315 bp compatible con *Sarbecovirus* tuvo un soporte de 8 reads, de 250, 201, 201, 175, 175, 66, 66 y 195 nucleótidos de longitud (Figura 19) y correspondió a un fragmento del gen *orf1ab*, codificante del RdRp. Para la realización del análisis filogenético de esta secuencia se descargaron secuencias representativas de los géneros *Alphacoronavirus, Betacoronavirus, Gammacoronaius* y *Deltacoronavirus* de la subfamilia *Orthocoronavirinae* (Cuadro 3). El árbol filogenético mostró un agrupamiento de la secuencia obtenida con secuencias de la especie *Betacoronavirus pandemicum*, del subgénero *Sarbecovirus* (Figura 20). La secuencia obtenida fue depositada en la base de datos del Genbank bajo el código de acceso OR418346.

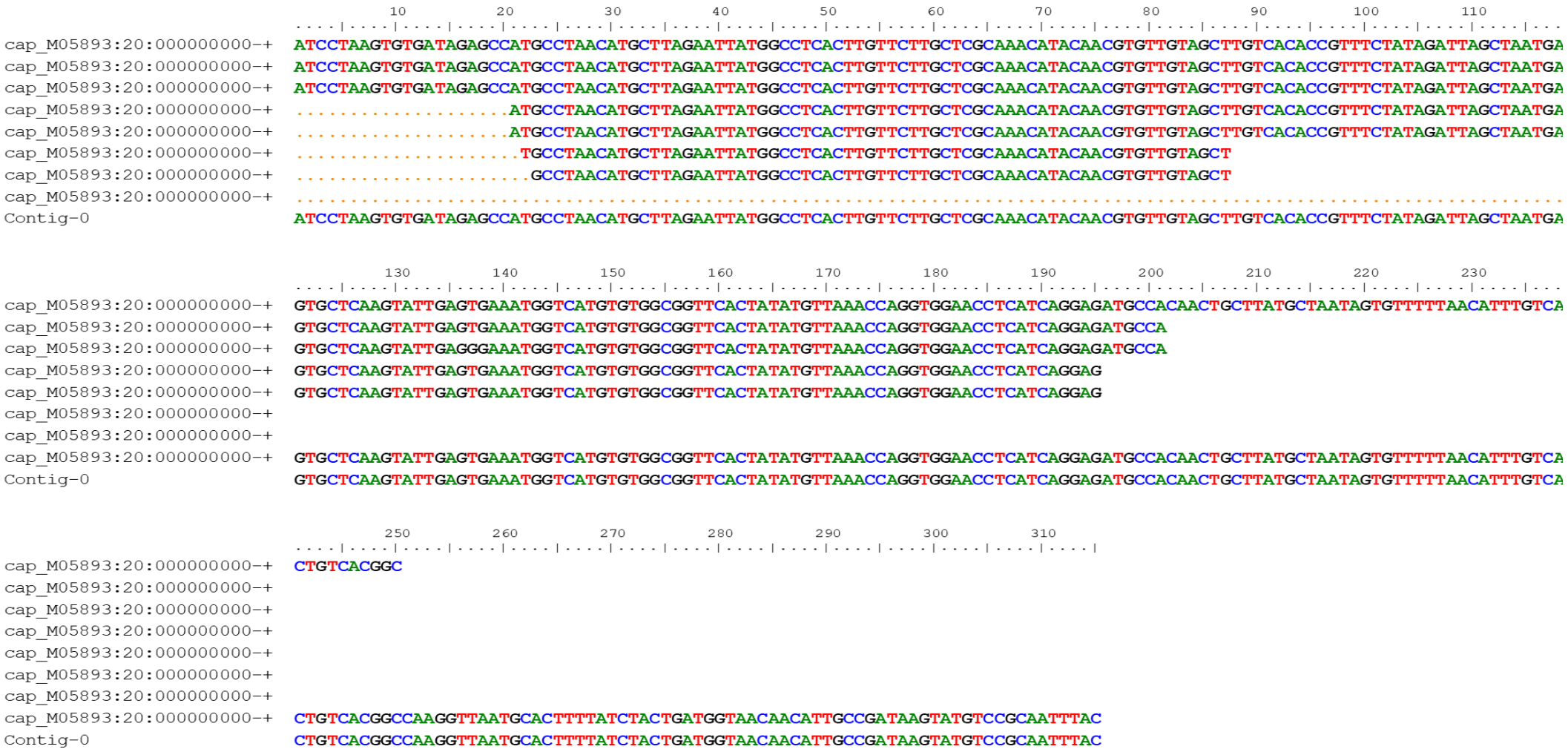


Figura 19: Alineamiento de los reads que cubren la región (de la posición 15.296 a la 15.610 de la cepa Wuhan-1, número de acceso GenBank: MN908947) del gen orf1ab o RdRp (posición 266 a 21.544).

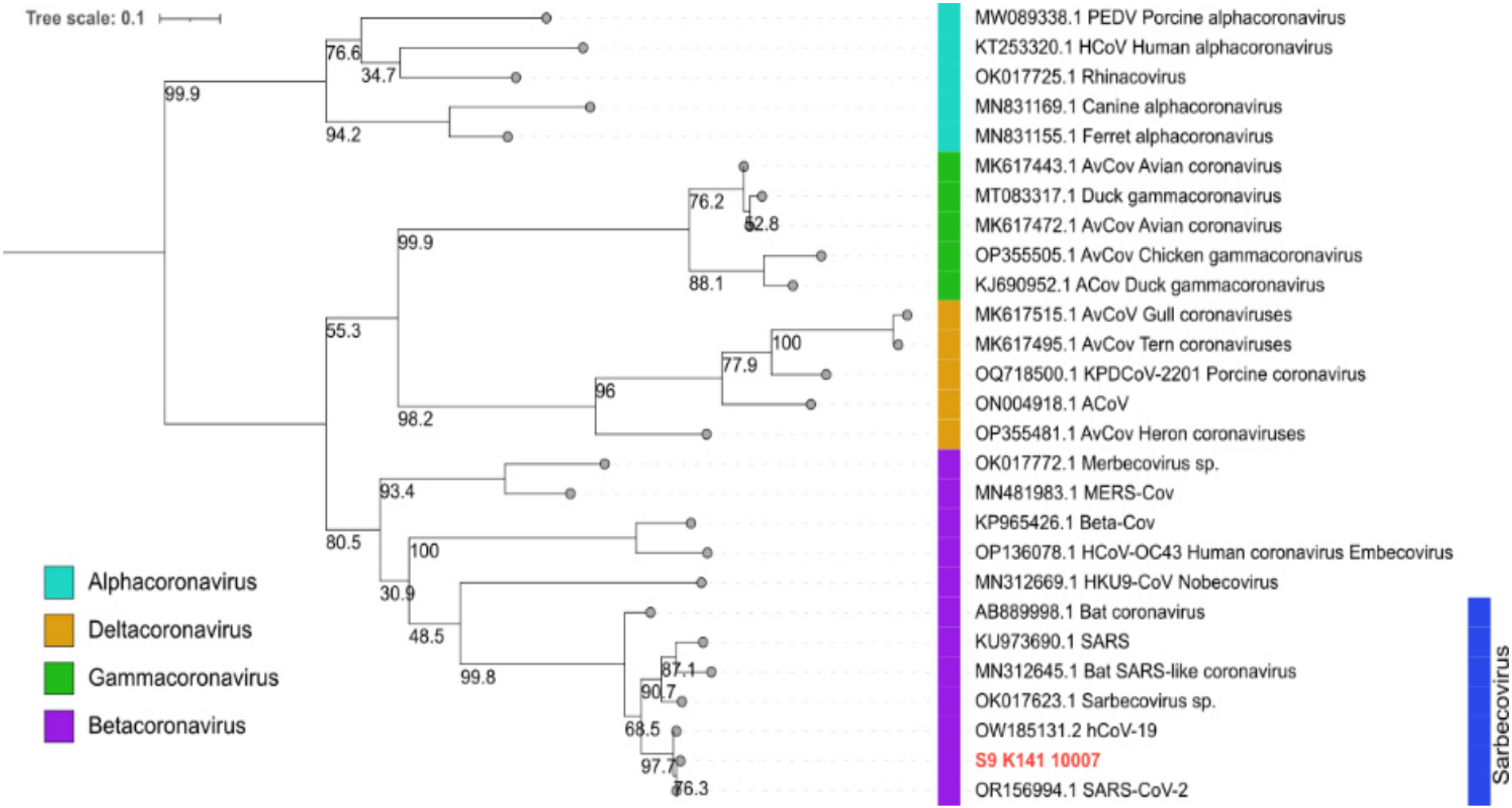


Figura 20. Filogenia de 27 secuencias de RdRp divididas en cuatro géneros y cuatro subgéneros del grupo *Betacoronavirus*. La barra azul detalla el subgénero *Sarbecovirus* donde se halla (en rojo) la secuencia identificada en este estudio

V. DISCUSIÓN

Dentro de los CoV, los *Betacoronavirus* son los que afectan exclusivamente a los mamíferos (Geldenhuys *et al.*, 2021) ocasionando brotes de enfermedades respiratorias y digestivas en animales domésticos, silvestres y seres humanos (Tang *et al*., 2020). Sin embargo, su impacto en especies de PNH no ha sido investigado profundamente, por lo que este estudio buscó dilucidar la presencia de coronavirus en PNH, identificando a los *Betacoronavirus* en heces de mono machín blanco o capuchino blanco (*Cebus unicolor*) como parte de la vigilancia epidemiológica frente al SARS-CoV-2 en la Amazonía peruana.

Es importante resaltar que, en nuestro estudio, se obtuvo una muestra positiva de un PNH asintomático; mientras que, en Ecuador, se logró identificar estas en mono araña (*Ateles fusciceps*) y mono lanudo (*Lagothrix lagothricha*), tanto asintomáticos como con diarreas (Carvajal *et al*., 2024; Díaz *et al.*, 2024). Esta variación ha sido reportada anteriormente por Malik (2020), donde indicó que incluso los pacientes asintomáticos actúan como portadores, siendo, entonces, de interés para el control epidemiológico.

En el presente estudio, las 76 muestras fueron agrupadas en *pools* en base a la especie y el lugar de procedencia con la finalidad de concentrar la mayor carga viral por muestra de heces, ya que, se considera un importante indicador cuantificable de monitoreo vigilante, como lo fue durante la pandemia del SARS-CoV-2 (Bibby *et al*., 2019). Esto permitió identificar coronavirus en un Cébido mediante análisis filogenético, mas no en RT-PCR, pues, aunque la prevalencia de los *Betacoronavirus* se estima era baja, al juntarse varios ejemplares con cargas virales pequeñas se logra una sumatoria que llega a un umbral mínimo de detección (Rao *et al.,* 2020). La cantidad y calidad de ARN presente en las muestras pudo verse afectado por factores como: tipo de muestra y método de recolección, condiciones de almacenamiento y transporte (Yang *et al*., 2020), presencia de enzimas degradadoras de ARN (Joshi *et al*., 2022; Natarajan *et al*., 2022), los métodos de pruebas diagnósticas realizadas (Zang, 2016), el sistema inmune del huésped, la etapa de infección y la alteración del microbioma intestinal (Wu *et al.,* 2020, Zhang *et al.*, 2020).

Se han descrito distintos métodos de recolección de muestras en base al tipo de secreción y sus ventajas entre cada una de ellas (Cheng, 2004). En el caso de las heces, son mejores con respecto a la sangre, la orina o el esputo porque permiten una recolección con menor riesgo de exposición a los PNH, otorgan condiciones de transporte más sencillas y habilitan el estudio de animales que no necesariamente tienen apariencia de enfermos, pues ya se ha reportado que las muestras analizadas entre 2 a 3 semanas posteriores a la recuperación resultan positivas (Hung *et*

al., 2004; Walsh *et al.*, 2020; Yang *et al*., 2020). El almacenamiento de las heces y las condiciones a seguir para su transporte se realizó con ARN later y geles refrigerantes (Perchetti *et al*., 2020, Li *et al*., 2021) pues, durante la pandemia, se pudo llegar a estandarizar protocolos que permiten tener un medio de transporte viable durante horas posteriores a la recolección (Radbel *et al*., 2020).

El problema con las muestras fecales es que son mucho más contaminadas e impuras, lo que hizo necesario un pretratamiento antes de aislar el material genético, por lo que en este estudio se utilizó el ARN later como medio de trasporte y a la inhibidora de Ribonucleasa A, que en suma retrasaron la degradación en las muestras y las estabilizó, pues las enzimas degradadoras o ARNasas se vuelven un problema al ser bastante complejas de controlar ya que son ubicuas, resistentes a condiciones de inactivación y de alta capacidad de regeneración (Nicholson, 2014); así que, dependiendo del inhibidor que se utilice pueden haber pequeñas variaciones que no son significativas, tal como lo mencionó Cao *et al*., (2021) al encontrar un 4% más de detección usando el reactivo Trizol.

Existen diferentes pruebas diagnósticas disponibles para la identificación de coronavirus, se dispone de una variedad de estudios en ensayos ELISA, cultivos virales, la inmunofluorescencia o la microscopía electrónica (Zang, 2016); no obstante, la reacción en cadena de la polimerasa con retrotranscriptasa inversa o RT-PCR fue la técnica elegida para este estudio, ya que posee una sensibilidad del 100% (Rojas *et al*., 2021), disminuyendo así la probabilidad de falsos positivos, lo que permite trabajar con distintos tipos de muestras como esputo, hisopados naso-orofaríngeos o rectales, sangre, heces u orina (Cheng, 2004). Incluso hay estudios que avalan que la PCR viene a ser la prueba ideal siendo las otras consideradas como pruebas complementarias (Fagre *et al*., 2022).

Por otro lado, la secuenciación metagenómica a partir de muestras fecales para la detección de genes virales cumplió un papel vital en identificar los nucleótidos del material genético encontrado. Sabiendo que la carga viral era baja, las principales ventajas del secuenciamiento son su sensibilidad y precisión en reconocer diversas variantes de coronavirus, brindando un panorama más completo de la diversidad de agentes presentes en las heces de la población de primates, detectando tanto virus conocidos como emergentes. Esto se considera útil porque, a futuro, permite estudiar la evolución del virus y su transmisión entre especies e incluso identificar co-infecciones con múltiples agentes en una misma muestra, algo que es común en las heces donde puede haber presencia simultánea de varios agentes patógenos (Fitzpatrick *et al.*, 2021).

La secuencia parcial del gen detectado en *Cebus unicolor* (OR418346.1) no proporciona información completa sobre todo el gen, pero sí demuestra la similitud que tiene con la cepa Wuhan-1 (MN908947) en los puntos de lecturas 250, 201, 201, 175, 175, 66, 66 y 195 al alinearlas, siendo así una herramienta fundamental para identificar variantes y relaciones evolutivas, pues los PNH han sido tan estudiados que algunas investigaciones han encontrado que *Macaca mulata* podría ser considerado como un posible reservorio natural, al haber identificado SARS-CoV2 en infecciones experimentales dentro de laboratorios (Salguero *et al*., 2021; Trichel, 2021).

En el árbol filogenético (Figura 20) se pueden identificar los cuatro géneros de los coronavirus de acuerdo con sus aspectos evolutivos, dando nociones sobre ancestros comunes entre los virus (Kumar *et al.*, 2018), y dentro de los *Betacoronavirus* encontraremos los subgéneros como los *Sarbecovirus*, que se caracterizan por ser agentes similares al SARS-CoV en sus variantes respiratorias y contagiosos entre distintas especies animales (Schäfer *et al*., 2022). En este subgénero se ubica la secuencia S9k14110007, identificada en este estudio, lo que indicaría que a través de la filogenia se puede rastrear relaciones evolutivas y mutaciones adaptativas cuando un virus pasa de humanos a PNH, siendo una antropozoonosis (da Silva *et al*., 2020) la cual es crucial identificar, porque los virus se encuentran en los humanos y luego de varias mutaciones se vuelven más resistentes y saltan a los animales (Mathavarajah *et al*., 2022).

A diferencia de este estudio, Sánchez (2023) trabajó en su investigación con PNH que se mantenían en total cautiverio luego de su rescate en Lima para poder identificar si en sus secreciones había la presencia del CoV, siendo *Alfacoronavirus* mayor en los hisopados traqueales (11%) respecto a los rectales (0%) de *Cebus* sp., *Saimiri scireus* y *Aotus* sp. En nuestro medio, el secuenciamiento identificó que correspondía al género *Betacoronavirus*, al que de por sí pertenecen aquellos usualmente aislados en murciélagos y mamíferos (Woo *et al*., 2012). Posiblemente la diferencia, con respecto a la presente investigación, radica en el lugar de procedencia de las muestras ya que en la Amazonía peruana el contacto directo con los PNH es mucho más cercano y es más deficiente tratamiento de las aguas residuales por lo que la exposición es mayor con respecto a Lima. De igual manera, a pesar de sus metodologías distintas, ambas investigaciones buscan dilucidar los riesgos de transmisión en PNH cautivos del Amazonas en miras a prevenir brotes zoonóticos del SARS-CoV2.

El periodo de muestreo también pudo influir en los resultados obtenidos, ya que esta investigación se ubicó dentro de las semanas epidemiológicas (SE) 29 a 52 – 2022 y SE 1 a 8 –

2023, épocas en las que el Perú atravesaba la cuarta y quinta ola de COVID-19, en la cuales la tasa de contagio había disminuido notablemente a la mitad frente a las olas previas. Desde la semana 13 – 2020 hasta la semana 9 – 2022, Loreto sufrió la mayor cantidad de tasas de contagio y defunción de la pandemia (64707 – 1.4%), mientras que en 2020 similar situación ocurrió en Ucayali (45825 – 1%) (MINSA, 2022). En estos departamentos las variantes Gamma, Lambda y Omicrom fueron las más identificadas en los boletines epidemiológicos (Vargas *et al.*, 2022) sin embargo no se logró reconocer coronavirus en muestras de PNH de Madre de Dios y Loreto, posiblemente porque en ambos las muestras fueron durante las SE 5 a 8-2023 cuando los reportes de contagio y defunción en personas habían llegado a su punto más bajo (0.27% y 0.54%, respectivamente) (MINSA, 2023).

En el caso de Loreto, pudo afectar que las muestras fueran de PNH semicautivos de islas alejadas de la ciudad que no tienen contacto tan directo y constante entre primates/personas a pesar de que el periodo de muestreo fue en las SE 29 a 30-2022 durante el repunte de la cuarta ola de casos SARS-CoV-2 en Perú (MINSA, 2022). Ciertamente distinta era la situación en Ucayali durante la SE 31-2022, que también abarcó la cuarta ola y el muestreo fecal de monos cautivos en un centro de rescate en Bello Horizonte donde los animales sí tenían contacto con los cuidadores y aguas residuales, pues en investigaciones previas ya se ha sugerido que en centros zoológicos los animales salvajes cautivos llegan a presentar antígenos de coronavirus en sus secreciones (Grome *et al*., 2020) así como que las aguas residuales funcionan como medio de transporte y contagio (Valdivia *et al*., 2023; Tran *et al.*, 2020)

Son parte de posibles factores de exposición el contacto directo entre personas y PNH, el alcantarillado, aguas residuales y/o el agua de bebida (Valdivia *et al*., 2023). Bonilla-Aldana *et al*., (2021) sugieren que, mientras mayor la población de humanos, se incrementa la probabilidad de contagiar a los animales que se encuentran a su cuidado y por eso los mamíferos silvestres sí llegan a evidenciar carga viral de coronavirus en sus secreciones como se pudo evidenciar en los resultados de este estudio así como en otras investigaciones como un zoológicos de Norteamérica donde se sugiere que trabajadores asintomáticos pudieron contagiar a felinos silvestres (Grome *et al.*, 2022) y gorilas (Gibbons, 2021), o en mercados populares donde pangolines y mapaches rescatados de tráfico ilegal de fauna en China también (Lam *et al*., 2020; Shi *et al*., 2022, Guang *et al*., 2003).

Los CoV coexisten en sus reservorios naturales durante largos periodos y su propagación hacia los animales y personas es generalmente ocasionado por mecanismos evolutivos como el intercambio viral, la recombinación genética o la especiación conjunta (Jones *et al*., 2008). La

presente investigación apunta a que sí hubo un contagio posiblemente por contacto directo o indirecto entre los trabajadores del centro de rescate y *Cebus unicolor*, sin embargo, no se realizó pruebas serológicas o moleculares en las personas para poder cotejar esta teoría. Se piensa que luego del contagio se genera una replicación viral en el hospedero en un lapso de 15 días que pudo o no tener signología clínica y por ende se pudo eliminar a través de las heces, pues se sabe que es la secreción con mayores tasas de eliminación e identificación posterior a un cuadro clínico - subclínico (Yang *et al*., 2020). Por ende, la mejor manera de evitar la zoonosis viral y el salto entre especies es, precisamente, manteniendo barreras de protección tan sencillas como el distanciamiento y lavado de manos (Anthony *et al.*, 2017; Cui *et al*., 2019).

En Perú, país megadiverso (Noss, 1990), se han identificado 47 especies de PNH distribuidos mayormente en los departamentos de Loreto, Ucayali y Madre de Dios (SERFOR, 2020). En este estudio las especies *Alouatta seniculus* y *Ateles chamek* con *Saginus labiatus* son las que menor número de población poseen al encontrarse Vulnerables y En Peligro, respectivamente, (SERFOR, 2020), mientras que *Cebus unicolor* está más distribuida al no encontrarse amenazada, de momento, así que al haber más ejemplares se puede tener un mayor contacto entre personas y animales, explicando por qué esta especie fue la única en la que se pudo detectar el CoV.

Y aunque hay un cierto avance en los métodos de diagnóstico y la vigilancia epidemiológica, se sabe que la peligrosa combinación de una alta densidad poblacional, una pobre supervisión/control sanitario y el contacto incipiente entre humanos – animales silvestres o cautivos, van a formar un fácil brote y propagación de enfermedades, sin embargo los hallazgos de este estudio no son suficientes para evidenciar que haya relación entre la susceptibilidad de *Cebus unicolor* a la infección por el virus SARS-CoV-2 por lo que todavía resulta difícil la comprensión de cómo se genera la interacción virus-huésped. No obstante, esto resalta la importancia crítica de implementar medidas que busquen prevenir la transmisión del virus de humanos a animales silvestres cautivos en riesgo por su proximidad.

Finalmente se recomienda que, en un país como Perú, donde la áreas naturales protegidas albergan especies susceptibles como los monos, donde el turismo e investigación los expone a una interacción humana que podría representar un riesgo de transmisión directa por contacto e indirecta incluso en aguas residuales y donde se rescatan gran cantidad de ejemplares producto del tráfico ilegal (Mathavarajah *et al.*, 2022). Se debe dar prioridad al monitoreo y vigilancia de comunidades, se debe reportar a tiempo aquellos primates enfermos, muertos o con signos respiratorios a organizaciones como SERFOR y SERNANP. Se debe mantener registros básicos

como la fecha, ubicación, grupo de animales afectados y fotos a distancia para implementación de medidas sanitarias preventivas en condiciones de cautiverio como el distanciamiento entre áreas comunes de humanos y animales silvestres, el uso de equipo de protección personal para los trabajadores, el monitoreo regular y aislamiento de animales infectados, mantener protocolos de desinfección de las áreas y equipos usados en el manejo de animales así como la vacunación preventiva en mamíferos silvestres animales y de monitoreo frente al contacto con cualquier especie de mamífero silvestre (Cao *et al*., 2021, Rivera *et al*., 2021), dentro de ellos los PNH, para disminuir el riesgo de transmisión antrópica del SARS-CoV-2 y su posible mutación, debido a potenciales consecuencias futuras a la salud pública. Sin embargo, las investigaciones en humanos definen que es sencillo y posible el contagio de persona a persona y de persona a animal a través de heces con cepas de SARS-CoV-2 (Frazzini *et al*., 2022; Moura *et al*., 2022) ya sea por contacto directo o con aguas residuales contaminadas (Christoph *et al.,* 2021), poniéndolo como potencial vía de dispersión.

VI. CONCLUSIONES

- El coronavirus detectado pertenece al subgénero *Sarbecovirus*, del género *Betacoronavirus.*
- Los primates no humanos, de la región Ucayali de la Amazonía peruana, son posibles portadores de coronavirus en sus heces.

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. ***Acevedo A. 2017.*** Virus de la bronquitis infecciosa: un desafío para la avicultura. Revista de Salud Animal, 39(3), 00.
2. ***Agarwala R, Barrett T, Beck J, Benson D, Bollin C, Bolton E, Bourexis D, Brister J, Bryant S. 2018.*** Database Resources of the National Center for Biotechnology Information. Nucleic Acids Res, 46, D8–D13.
3. ***Alfaro J, Matthews L, Boyette A, Macfarlan S, Phillips K, Falótico T, Ottoni E, Verderane M, Izar P, Schulte M, Melin A, Fedigan L, Janson C, Alfaro M. 2012.*** Anointing variation across wild capuchin populations: a review of material preferences, bout frequency and anointing sociality in Cebus and Sapajus. Am J Primatol. 74(4):299-314. doi: 10.1002/ajp.20971.
4. ***Alfieri A, Ribeiro J, de Carvalho Balbo L, Lorenzetti E, Alfieri A. 2018.*** Dairy calf rearing unit and infectious diseases: Diarrhea outbreak by bovine coronavirus as a model for the dispersion of pathogenic microorganisms. Tropical Animal Health and Production, 50(8), 1937–1940. doi: 10.1007/s11250-018-1592-9
5. ***Allgas N, Alarcón A, Shanee N, Shanee S, Monteferri B, Zari L. 2017.*** Guía de identificación de fauna silvestre, para las autoridades ambientales de Amazonas, San Martín, Loreto y Ucayali. Sociedad Peruana de Derecho Ambiental, Neotropical Primate Conservation Perú. Lima. 128 p.
6. ***Alnaeem A, Kasem S, Qasim I, Al-Doweriej A, Al-Houfufi A, Alwazan A, Albadrani A, Alshaammari K, Refaat M, Al-Shabebi A, Hemida MG. 2020.*** Some pathological observations on the naturally infected dromedary camels (Camelus dromedarius) with the Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) in Saudi Arabia 2018-2019. Vet Q. 40(1):190-197. doi: 10.1080/01652176.2020.1781350.
7. ***Altschul S, Madden T, Schäffer A, Zhang J, Zhang Z, Miller W, Lipman D. 1997.*** Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. Nucleic Acids Res 1;25(17):3389-402. doi: 10.1093/nar/25.17.3389.
8. ***Amer H. 2019.*** Bovine-like coronaviruses in domestic and wild ruminants. Animal Health Research Reviews, (Cd), doi:10.1017/ S1466252318000117
9. ***Anand K, Karade S, Sen S, Gupta R. 2020.*** SARS-CoV-2: Camazotz's Curse. Med J Armed Forces India. 6(2):136-141. doi: 10.1016/j.mjafi.2020.04.008.
10. ***Anderson R, Heesterbeek H, Klinkenberg D, Hollingsworth T. 2020.*** How will country-based mitigation measures influence the course of the COVID-19 epidemic? Lancet 21;395(10228):931-934. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30567-5.

11. ***Anthony S, Johnson C, Greig D, Kramer S, Che X, Wells H, Hicks A, Joly D, Wolfe N, Daszak P, Karesh W, Lipkin W, Morse S. 2017.*** Global patterns in coronavirus diversity. Virus Evol. 12;3(1):vex012 doi: 10.1093/ve/vex012.
12. ***Aquino R, López L, García G, Charpentier E, Arévalo I. 2016a.*** Conservation Status and Threats to Atelid in the Northeastern Peruvian Amazon. Primate Conservation 30:21-29.
13. ***Aquino R, López L, Arévalo I, Daza J. 2016b***. Diversidad y Abundancia de Primates y sus amenazas en el interfluvio de los ríos Napo y Putumayo, Amazonía Peruana. Revista Peruana de Biología 23 (3), 243 -52. doi: 10.15381/rpb.v23i3.12859.
14. ***Arguello L, Serio J, Pozo G. 2010.*** Comportamiento de los monos aulladores negros en un hábitat fragmentado de Balacán, Tabasco. Herreriana. 6(2): 1-3.
15. ***Bachman J. 2013.*** Methods in Enzymology. Laboratory Methods in Enzymology: RNA Volume 530 || Reverse-Transcription PCR (RT-PCR). 67–74. doi:10.1016/B978-0-12-420037-1.00002-6
16. ***Barnett A, Boyle S, Thompson C. 2015.*** La investigación sobre los pitécidos alcanza la madurez: enigmas del pasado, progreso actual y prioridades futuras. American Journal of Primatology, 78(5), 487–492. doi:10.1002/ajp.22491
17. ***Bassetti M, Vena A, Giacobbe D. 2020.*** The novel Chinese coronavirus (2019-nCoV) infections: Challenges for fighting the storm. *Eur J Clin Invest* 50: 1– 4. 10.1111/eci.13209.
18. ***Benson D, Cavanaugh M, Clark K, Karsch-Mizrachi I, Ostell J, Pruitt K, Sayers E. 2018.*** GenBank. Nucleic Acids Res 4;46(D1):D41-D47. doi: 10.1093/nar/gkx1094.
19. ***Benvenuto D, Giovanetti M, Ciccozzi M, Spoto S, Angeletti S, Ciccozzi M. 2020.*** La nueva epidemia de coronavirus de 2019: evidencia de la evolución del virus. J. Med. Virol. 9(4):455–459. doi: 10.1002/jmv.25688.
20. ***Betancourt A, Rodríguez E, Barrera M. 2006.*** Coronavirus bovino: Infecciones neumoentéricas. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria [en linea]. VII(12), 1-28[fecha de Consulta 9 de Junio de 2023]. ISSN: . Disponible en: https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63612664008
21. ***Bibby K, Crank K, Greaves J. 2019.*** Metagenómica y el desarrollo de herramientas de calidad del agua viral. npj Clean Water **2** , 9 doi:10.1038/s41545-019-0032-3
22. ***Bolger A, Lohse M, Usadel B. 2014.*** Trimmomatic: A Flexible Trimmer for Illumina Sequence Data. Bioinformatics 30, 2114–2120
23. ***Bourgeois-Gironde S, Addessi E, Boraud T.*** **2021.** Economic behaviours among non-human primates. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 376(1819):20190676. doi: 10.1098/rstb.2019.0676..

24. ***Brack-Egg E. 1986.*** Las ecorregiones del Perú. Boletín de Lima 44: 57-70.
25. ***Buchfink B, Xie C, Huson D. 2015.*** Fast and Sensitive Protein Alignment Using DIAMOND. Nat. Methods 12, 59–60.
26. ***Canene-Adams K. 2013.*** PCR general. Métodos: Enzimol., 529:291-8. Doi: 10.1016/B978-0-12-418687-3.00024-0
27. ***Cao R, Bao L, Pan M, Zhang C, Liao H, Liu L, Li Y, Li M. 2021.*** Detection of SARS-CoV-2 in fecal samples with different pretreatment methods and PCR kits. BMC Microbiol. 19;21(1):56. doi: 10.1186/s12866-021-02118-0.
28. ***Carvajal M, Saenz C, Fuentes N, Guevara R, Muñoz E, Prado B, Diaz E, Alfonso F, Coloma J, Grunauer M, Rojas P, Cardenas P, Barragan V. 2024.*** SARS-CoV-2 infection in brown-headed spider monkeys (*Ateles fusciceps*) at a wildlife rescue center on the coast of Ecuador-South America. Microbiol Spectr. 2;12(4):e0274123. doi: 10.1128/spectrum.02741-23.
29. ***Carbo E, Sidorov I, Zevenhoven J, Snijder E, Claas E, Laros J, Kroes A, de Vries J. 2020.*** Coronavirus discovery by metagenomic sequencing: a tool for pandemic preparedness. J Clin Virol. 131:104594. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104594.
30. ***CDC (EE. UU). 2020***. Pautas provisionales para recolectar, manipular y analizar muestras clínicas de personas bajo investigación (PUI) para la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19).
31. ***Chafekar A, Fielding B. 2018.*** MERS-CoV: Understanding the latest human coronavirus threat. *Viruses* 10: 1– 22. doi: 10.3390/v10020093.
32. ***Chan O, Bradley K, Grioni A, Lau S, Li W, Magouras I, Naing T, Padula A, To E, Tun H, Tutt C, Woo P, Bloch R, Mauroo N. 2021.*** Veterinary Experiences can Inform One Health Strategies for Animal Coronaviruses. Ecohealth 18(3):301-314. doi: 10.1007/s10393-021-01545-9
33. ***Chen H, Chen Z, Shen H. 2020.*** Structure of SARS-CoV-2 and treatment of COVID-19. 25;72(5):617-630. PMID: 33106832.
34. ***Chen L, Liu B, Yang J, Jin Q. 2014.*** DBatVir: the database of bat-associated viruses. *Database* 1–7 doi: 10.1093/database/bau021.
35. ***Cheng P, Wong D, Tong L, Ip S, Lo A, Lau C, Yeung E, Lim W. 2004.*** Viral shedding patterns of coronavirus in patients with probable severe acute respiratory syndrome. Lancet. 363(9422):1699-700. doi: 10.1016/S0140-6736(04)16255-7.
36. ***Chrisman B, Paskov K, Stockham N, Tabatabaei K, Jung J, Washington P, Varma M, Sun M, Maleki S, Wall D. 2021.*** Indels in SARS-CoV-2 occur at template-switching hotspots. *BioData Mining* **14**, 20. doi: 10.1186/s13040-021-00251-0

37. ***Chu D, Leung C, Gilbert M, Joyner P, Ng E, Tse T, Guan Y, Peiris J, Poon L. 2011.*** Avian coronavirus in wild aquatic birds. J. Virol. 85, 12815–12820. doi:10.1128/JVI.05838-11
38. ***Colina S, Serena M, Echeverría M, Metz G. 2021.*** Clinical and molecular aspects of veterinary coronaviruses. Virus Res. 297:198382. doi: 10.1016/j.virusres.2021.198382.
39. ***Corman V, Ithete N, Richards L, Schoeman M, Preiser W, Drosten C, Drexler J. 2014.*** Rooting the phylogenetic tree of middle East respiratory syndrome coronavirus by characterization of a conspecific virus from an African bat. *J Virol* 88: 11297– 11303. 10.1128/JVI.01498-14.
40. ***Crits-Christoph A, Kantor R, Olm M, Whitney O, Al-Shayeb B, Lou Y, Flamholz A, Kennedy L, Greenwald H, Hinkle A, Hetzel J, Spitzer S, Koble J, Tan A, Hyde F, Schroth G, Kuersten S, Banfield J, Nelson K. 2021.*** Genome Sequencing of Sewage Detects Regionally Prevalent SARS-CoV-2 Variants. mBio. 19;12(1):e02703-20. doi: 10.1128/mBio.02703-20.
41. ***Crossley B, Mock R, Callison S. 2012.*** Identification and characterization of a novel alpaca respiratory coronavirus most closely related to the human coronavirus 229E. Viruses. 4:3689–700.
42. ***Cui J, Li F, Shi Z. 2019.*** Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. Nat Rev Microbiol. 17(3):181-192. doi:10.1038/s41579-018-0118-9
43. ***Czubak J, Stolarczyk K, Orzeł A, Frączek M, Zatoński T. 2021.*** Comparison of the clinical differences between COVID-19, SARS, influenza, and the common cold: A systematic literature review. Adv Clin Exp Med 30(1):109-114. doi: 10.17219/acem/129573.
44. ***da Silva P, Mesquita J, de São José Nascimento M, Ferreira V. 2020.*** Viral, host and environmental factors that favor anthropozoonotic spillover of coronaviruses: An opinionated review, focusing on SARS-CoV, MERS-CoV and SARS-CoV-2. 750:141483. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.141483.
45. ***Daniel W. 2007.*** Bioestadística. Base para el análisis de las Ciencias de la Salud. 4a ed. México: LIMUSA S.A. 924 p.
46. ***Dhar D, Mohanty A. 2020.*** Gut microbiota and Covid-19- possible link and implications. Virus Res. 285:198018. doi: 10.1016/j.virusres.2020.198018.
47. ***Diaz E, Sáenz C, Cabrera F, Rodríguez J, Carvajal M, Barragán V. 2024.*** COVID-19 in a common woolly monkey (*Lagothrix lagothricha)*: First evidence of fatal outcome in a nonhuman primate after natural SARS-CoV-2 infection. Am J Primatol. 86(8):e23654. doi: 10.1002/ajp.23654.

48. ***do Vale B, Lopes A, Fontes M, Silvestre M, Cardoso L, Coelho A. 2021.*** Bats, pangolins, minks and other animals - villains or victims of SARS-CoV-2? Vet Res Commun 45(1):1-19. doi: 10.1007/s11259-021-09787-2.
49. ***Dong B, Liu W, Fan X, Vijaykrishna D, Tang X, Gao F, Li L, Li G, Zhang J, Yang L, Poon L, Zhang S, Peiris J, Smith G, Chen H, Guan Y. 2007.*** Detection of a novel and highly divergent coronavirus from asian leopard cats and Chinese ferret badgers in Southern China. J Virol.; 81(13):6920-6. doi: 10.1128/JVI.00299-07.
50. ***Donnik I, Popov I, Sereda S. 2021.*** Infecciones por coronavirus en animales: riesgos futuros para los humanos. *Biol Bull Russ Acad Sci* **48** , 26–37 doi: 10.1134/S1062359021010052.
51. ***Duijvestijn M, Schuurman N, Vernooij J, van Leeuwen M, Bosch B, van den Brand J, Wagenaar J, van Kuppeveld F, Egberink H, Verhagen J. 2023.*** Serological Survey of Retrovirus and Coronavirus Infections, including SARS-CoV-2, in Rural Stray Cats in The Netherlands, 2020-2022. Viruses. 12;15(7):1531. doi: 10.3390/v15071531.
52. ***Estrada A, Garber P, Rylands A, Roos C, Fernandez-Duque E, Di Fiore A, Nekaris K, Nijman V, Heymann E, Lambert J, Rovero F, Barelli C, Setchell J, Gillespie T, Mittermeier R, Arregoitia L, de Guinea M, Gouveia S, Dobrovolski R, Shanee S, Shanee N, Boyle S, Fuentes A, MacKinnon K, Amato K, Meyer A, Wich S, Sussman R, Pan R, Kone I, Li B. 2017.*** Impending extinction crisis of the world's primates: Why primates matter. Sci Adv. 18;3(1):e1600946. doi: 10.1126/sciadv.1600946.
53. ***Encarnación F, Moya L, Moro J, Málaga C. 2000***. Proyecto peruano de primatología "Manuel Moro Sommo" 1ª ed. Iquitos: UNMSM. 602 p.
54. ***Fagre A, Cohen L, Eskew E, Farrell M, Glennon E, Joseph M, Frank H, Ryan S, Carlson C, Albery G. 2022.*** Assessing the risk of human-to-wildlife pathogen transmission for conservation and public health. 25:6 (1534-1549). doi: 10.1111/ele.14003
55. ***Fang T. 1990***. La importancia de los frutos en la dieta de *Saguinus mystax* y *Saguinus fuscicollis* (Primates, Callitrichidae) en el río Tahuayo, Departamento de Loreto, Perú. En: Castro, eds. La Primatología en el Perú. Investigaciones Primatológicas (1973-1985). Imprenta Propaceb, Lima, pp. 342-358. La Primatología en el Perú, Volumen 1. Proyecto Peruano de Primatología. Lima. 342-358.
56. ***Farsani S, Dijkman R, Jebbink M, Goossens H, Ieven M, Deijs M, Molenkamp R, van der Hoek L. 2012.*** The first complete genome sequences of clinical isolates of human coronavirus 229E. Virus Genes 45(3):433-9. doi: 10.1007/s11262-012-0807-9.
57. ***Bibliografía***

58. ***Figueiroa T, Galvão Bueno M, Bento Moura PE, de Oliveira MB, Passos Cordeiro JL, Santos-Cavalcante N, Camacho Antevere Mazzarotto GA, Wallau GL, Corrêa da Silva Junior L, Resende PC, Siqueira MMM, Ogrzewalska M. 2025.*** Alpha and Betacoronavirus detection in neotropical bats from northeast Brazil suggests wide geographical distribution and persistence in natural populations. Animals: An Open Access Journal From MDPI, 15(3), 332. https://doi.org/10.3390/ani15030332
59. ***Fitzpatrick A, Rupnik A, O'Shea H, Crispie F, Keaveney S, Cotter P. 2021.*** High Throughput Sequencing for the Detection and Characterization of RNA Viruses. Front Microbiol. 12:621719. doi: 10.3389/fmicb.2021.621719.
60. ***Fleagle J. 2013.*** Fossil Platyrrhines. En: Fleagle J ed. Primate Adaptation and Evolution 3ra ed. USA: Academic Press. p 291-309.
61. ***Fraser B. 2020.*** COVID-19 strains remote regions of Peru. Lancet. 30;395(10238):1684. doi: 10.1016/S0140-6736(20)31236-8.
62. ***Frazzini S, Amadori M, Turin L, Riva F 2022.*** SARS CoV-2 infections in animals, two years into the pandemic. Arch Virol. 167(12):2503-2517. doi: 10.1007/s00705-022-05609-1.
63. ***Gazzo C. 1985.*** Estudios bioecologicos de tres grupos del pichico barba blanca (*Saguinus mystax* spix 1823) en Padre Isla (Iquitos). [Internet], [15 enero 2025]. Disponible en: http://www.iiap.org.pe/upload/publicacion/cdinvestigacion/unmsm/unmsm-i3/htm/unmsm-i3c-12.htm#TopOfPage
64. ***Geldenhuys M, Mortlock M, Epstein J, Pawęska J, Weyer J, Markotter W. 2021.*** Overview of Bat and Wildlife Coronavirus Surveillance in Africa: A Framework for Global Investigations. Viruses 13(5):936. doi:10.3390/v13050936
65. ***Genova S, Streeter R, Simpson K, Kapil S. 2008.*** Detection of an antigenic group 2 coronavirus in an adult alpaca with enteritis. Clin Vaccine Immunol. 15(10):1629-32. doi: 10.1128/CVI.00232-08.
66. ***Gibbons A. 2021.*** Captive gorillas test positive for coronavirus. Science. doi: 10.1126/science.abg5458.
67. ***Giovanetti M, Benedetti F, Campisi G, Ciccozzi A, Fabris S, Ceccarelli G, Tambone V, Caruso A, Angeletti S, Zella D, Ciccozzi M. 2020.*** Evolution patterns of SARS-CoV-2: Snapshot on its genome variants. Biochem Biophys Res Commun. 2021 Jan 29;538:88-91. doi: 10.1016/j.bbrc.2020.10.102.
68. ***Giraud P, Quispe-Saenz C, Bello R. 2023.*** Comportamiento terrestre de una hembra solitaria de mono araña (*Ateles chamek*) en una playa del Parque Nacional del Manu, Perú. Neotropical Primates , 29 (2). doi: 10.62015/np.2023.v29.795

69. ***Gomez D, Weese J. 2017.*** Viral enteritis in calves. The Canadian Veterinary Journal = La Revue Veterinaire Canadienne, 58(12), 1267–1274.
70. ***Green M, Sambrook J. 2019.*** Reacción en cadena de la polimerasa anidada (PCR). Cold Spring Harb Protoc. Doi: 10.1101/pdb.prot095182.
71. ***Haake C, Cook S, Pusterla N, Murphy B. 2020.*** Coronavirus Infections in Companion Animals: Virology, Epidemiology, Clinical and Pathologic Features. Viruses 13;12(9):1023. doi: 10.3390/v12091023.
72. ***Hardmeier I, Aeberhard N, Qi W, Schoenbaechler K, Kraettli H, Hatt J, Fraefel C, Kubacki J. 2021.*** Metagenomic analysis of fecal and tissue samples from 18 endemic bat species in Switzerland revealed a diverse virus composition including potentially zoonotic viruses. PLoS One, 16(6), e0252534. doi: 10.1371/journal.pone.0252534
73. ***Helmy Y, Fawzy M, Elaswad A, Sobieh A, Kenney S, Shehata A. 2020.*** The COVID-19 pandemic: a comprehensive review of taxonomy, genetics, epidemiology, diagnosis, treatment, and control. J Clin Med 9:1225. doi: 10.3390/jcm9041225
74. ***Hemida M, Ali A, Alnaeem A. 2021.*** The Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) nucleic acids detected in the saliva and conjunctiva of some naturally infected dromedary camels in Saudi Arabia -2019. Zoonoses Public Health. 68(4):353-357. doi: 10.1111/zph.12816.
75. ***Herrera P, Uyen A, Mezones E, Taype A, Mayta P, Malaga G, Hernandez A. 2021.*** Some lessons that Peru did not learn before the second wave of COVID-19. Int J Health Plann Manage. 36(3):995-998. doi: 10.1002/hpm.3135.
76. ***Heymann E. 1990.*** Interspecific relations in a mixed-species troop of moustached tamarins, *Saguinus mystax*, and saddle-back tamarins, *Saguinus fuscicollis* (Platyrrhini:Callitrichidae), at the Río Blanco, Peruvian Amazonia. Am J Primatol. 21(2):115-127. doi: 10.1002/ajp.1350210205.
77. ***Holshue M, DeBolt C, Lindquist S, Lofy K, Wiesman J, Bruce H, Spitters C, Ericson K, Wilkerson S, Tural A, Diaz G, Cohn A, Fox L, Patel A, Gerber S, Kim L, Tong S, Lu X, Lindstrom S, Pallansch M, Weldon W, Biggs H, Uyeki T, Pillai S. 2020.*** First Case of 2019 Novel Coronavirus in the United States. N Engl J Med. 5;382(10):929-936. doi: 10.1056/NEJMoa2001191.
78. ***Hung I, Cheng V, Wu A, Tang B, Chan K, Chu C, Wong M, Hui W, Poon L, Tse D, Chan K, Woo P, Lau S, Peiris J, Yuen K. 2004.*** Viral loads in clinical specimens and SARS manifestations. Emerg Infect Dis. (9):1550-7. doi: 10.3201/eid1009.040058.
79. ***ICTV. 2024.*** International Committee on Taxonomy of Viruses. [Internet], [2 mayo 2024]. Disponible en: https://ictv.global/report/chapter/coronaviridae/coronaviridae
80. ***INEI. 2018a.*** Resultados definitivos de los Censos Nacionales 2017. Lima: INEI. 837 p.

81. ***INEI. 2018b.*** Resultados definitivos de Loreto. Lima: INEI. 1087 p.
82. ***International Union for Conservation of Nature. 2017.*** International Union for Conservation of Nature. [Internet], [20 mayo 2024]. Disponible en: http://www.iucnredlist.org
83. ***Jamshaid H, Zahid F, Din I, Zeb A, Choi H, Khan G, Fakhar U. 2020.*** Diagnostic and Treatment Strategies for COVID-19. AAPS PharmSciTech. 21. Doi: 10.1208/s12249-020-01756-3.
84. ***Joffe A, Bara M, Anton N, Nobis N. 2016.*** The ethics of animal research: a survey of the public and scientist in North America. BMC Medical Ethics 17:17 Doi: 10.1186/s12910-016-0100-x
85. ***Jones K, Patel N, Levy M, Storeygard A, Balk D, Gittleman J, Daszak P. 2008.*** Tendencias globales en enfermedades infecciosas emergentes. Naturaleza 451 :990–993. doi: 10.1038/naturaleza06536.
86. ***Joshi M, Mohandas S, Prasad S, Shinde M, Chavan N, Yadav P, Lavania M. 2022.*** Lack of Evidence of Viability and Infectivity of SARS-CoV-2 in the Fecal Specimens of COVID-19 Patients. Front. Public Health doi: 10.3389/fpubh.2022.1030249
87. ***Kennedy M. 2020.*** Feline Infectious Peritonitis: Update on Pathogenesis, Diagnostics, and Treatment. Vet Clin North Am Small Anim Pract 50(5):1001-1011. doi: 10.1016/j.cvsm.2020.05.002.
88. ***Khamassi M, Daaloul M, Bouaicha F, Benzarti M. 2021.*** Coronaviruses in farm animals: Epidemiology and public health implications. Vet Med Sci. Mar;7(2):322-347. doi: 10.1002/vms3.359.
89. ***Kowalewski M, Urbani B, Tejedor M, Oklander L. 2016.*** Explorando al orden primates: la primatología como disciplina bioantropológica. ResearchGate [Internet], [17 de noviembre 2024]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/298785235_CAPITULO_6_EXPLORANDO_AL_ORDEN_PRIMATES_LA_PRIMATOLOGIA_COMO_DISCIPLINA_BIOANTROPOLOGICA
90. ***Kumar K, Kenney S. 2022.*** Animal Models for studying COVID-19 Pathology and Infection. doi: 10.1007/978-1-0716-2091-5-3
91. ***Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. 2018.*** MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. Molecular Biology and Evolution, 35(6), 1547-1549. doi: 10.1093/molbev/msy096. PMID: 29722887
92. ***Lam E, León A, León K, Llamo G, López R, Luzuriaga E, Mendoza A, Huamán J. 2021.*** Bases moleculares de la patogénesis de Covid-19 y estudios *in silico* de posibles

tratamientos farmacológicos. Revista de la Facultad de Medicina Humana, 21(2), 417-432.

93. ***Lam T, Jia N, Zhang Y, Shum M, Jiang J, Zhu H, Tong Y, Shi Y, Ni X, Liao Y, Li W, Jiang B, Wei W, Yuan T, Zheng K, Cui X, Li J, Pei G, Qiang X, Cheung W, Li L, Sun F, Qin S, Huang J, Leung G, Holmes E, Hu Y, Guan Y, Cao W. 2020.*** Identifying SARS-CoV-2-related coronaviruses in Malayan pangolins. Nature. Jul;583(7815):282-285. doi: 10.1038/s41586-020-2169-0.

94. ***Langmead B, Salzberg S. 2012.*** Fast Gapped-Read Alignment with Bowtie 2. Nat. Methods 9, 357–359.

95. ***Larsson A. 2014.*** AliView: A Fast and Lightweight Alignment Viewer and Editor for Large Datasets. Bioinformatics 30, 3276–3278.

96. ***Lednicky J, Tagliamonte M, White S, Elbadry M, Alam M, Stephenson C, Bonny T, Loeb J, Telisma T, Chavannes S, Ostrov D, Mavian C, Beau De Rochars V, Salemi M, Morris J. 2021.*** Independent infections of porcine deltacoronavirus among Haitian children. Nature. 600(7887):133-137. doi: 10.1038/s41586-021-04111-z.

97. ***Lemaitre J, Naninck T, Delache B, Creppy J, Huber P, Holzapfel M, Bouillier C, Contreras V, Martinon F, Kahlaoui N, Pascal Q, Tricot S, Ducancel F, Vecellio L, Le Grand R, Maisonnasse P. 2021***. Non-human primate models of human respiratory infections. Mol Immunol. 135:147-164. doi: 10.1016/j.molimm.2021.04.010.

98. ***Letunic I, Bork P. 2021.*** Interactive Tree of Life (iTOL) v5: An Online Tool for Phylogenetic Tree Display and Annotation. Nucleic Acids Res. 49, W293–W296.

99. ***Li C, Yang Y, Ren L. 2020.*** Genetic evolution analysis of 2019 novel coronavirus and coronavirus from other species. Infect Genet Evol: 82:104285. doi: 10.1016/j.meegid.2020.104285.

100. ***Li D, Liu C, Luo R, Sadakane K, Lam T. 2015.*** MEGAHIT: An Ultra-Fast Single-Node Solution for Large and Complex Metagenomics Assembly via Succinct de Bruijn Graph. Bioinformatics 31, 1674–1676

101. ***Li H, Sun K, Persing D, Tang Y, Shen D. 2021.*** Detección en tiempo real de grupos de muestras para la infección por enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) en el aeropuerto de Sanya, isla de Hainan, China. Clin Infect Dis. 73(2):318-320. doi: 10.1093/cid/ciaa1074.

102. ***Li T, Garcia E, Yara D, Scadden J, Davies J, Hutchins C, Aydin A, O'Grady J, Narbad A, Romano S, Sayavedra L. 2021.*** An optimised protocol for detection of SARS-CoV-2 in stool. BMC Microbiol. 6;21(1):242. doi: 10.1186/s12866-021-02297-w.

103. ***Li W, Moore J, Vasilieva N, Sui J, Wong S, Berne M, Somasundaran M, Sullivan J, Luzuriaga K, Greenough T, Choe H, Farzan M. 2003.*** Angiotensin-

converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. Nature 426, 450–454 doi: 10.1038/nature02145

104. ***Licitra B, Duhamel G, Whittaker G. 2014.*** Canine Enteric Coronaviruses: Emerging Viral Pathogens with Distinct Recombinant Spike Proteins. Viruses. 6:3363–3376. doi: 10.3390/v6083363.

105. ***Lin Q, Lu C, Hong Y, Li R, Chen J, Chen W, Chen J. 2022.*** Animal models for studying coronavirus infections and developing antiviral agents and vaccines. Antiviral Res. 203:105345. doi: 10.1016/j.antiviral.2022.105345.

106. ***Lu S, Zhao Y, Yu W, Yang Y, Gao J, Wang J, Kuang D, Yang M, Yang J, Ma C, Xu J, Qian X, Li H, Zhao S, Li J, Wang H, Long H, Zhou J, Luo F, Ding K, Wu D, Zhang Y, Dong Y, Liu Y, Zheng Y, Lin X, Jiao L, Zheng H, Dai Q, Sun Q, Hu Y, Ke C, Liu H, Peng X. 2020.*** Comparison of nonhuman primates identified the suitable model for COVID-19. Signal Transduct Target Ther. 5(1):157. doi: 10.1038/s41392-020-00269-6.

107. ***Luna L, Brandão PE, Maturrano L, Rosadio R, Silva F, Soares R, Gregori F. 2015.*** Betacoronavirus 1 in alpacas (*Vicugna pacos*) in the High Peruvian Andes. Small Rumin Res. 133:7-9. doi: 10.1016/j.smallrumres.2015.10.019.

108. ***Lynch J. 2017.*** The Monkeying of the Americas: Primate Biogeography in the Neotropics. Annual Review of Anthropology, Vol. 46, pp. 317-336, Available at SSRN: https://ssrn.com/abstract=3058751

109. ***Maclachlan N, Dubovi E, Fenner F. 2017.*** Fenner's Veterinary Virology. Fifth ed. Elsevier; Amsterdam, The Netherlands: Coronaviridae; pp. 435–461. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128009468000246

110. ***Malik Y. 2020.*** Properties of Coronavirus and SARS-CoV-2. Malays J Pathol. 42(1):3-11. PMID: 32342926

111. ***Masters P, Perlman S. 201***3. Fields Virology Vol. 2. USA: Lippincott Williams & Wilkins. 858p.

112. ***Mathavarajah S, Melin A, Dellaire G. 2022.*** SARS-CoV-2 and wastewater: What does it mean for non-human primates? Am J Primatol. 84(4-5):e23340. doi: 10.1002/ajp.23340.

113. ***Melin A, Janiak M, Marrone F, Arora P, Higham J. 2020.*** Comparative ACE2 variation and primate COVID-19 risk. bioRxiv [Preprint]. Jul 21:2020.04.09.034967. doi: 10.1101/2020.04.09.034967.

114. ***[MINAGRI] Ministerio de Agricultura y Riego. 2020.*** Plan nacional de conservación de los primates amenazados del Perú, periodo 2019-2029. Lima: MINAGRI. 85 p.

115. ***[MINAM]. Ministerio del Ambiente. 2016.*** Estrategia Nacional sobre Bosques y Cambio Climático. Lima: MINAM. 178p.

116. ***[MINAM]. Ministerio del Ambiente. 2018.*** Lima: Ministerio del Ambiente. [Internet], [14 diciembre 2023]. Disponible en: http://geobosques.minam.gob.pe/geobosque/view/perdida.php

117. ***Ministerio del Ambiente. 2021.*** Lima: Ministerio del Ambiente. [Internet], [14 diciembre 2021]. Disponible en: https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/352228/Gu%C3%ADa_primates_amenazados.pdf

118. ***Ministerio de Salud. 2023.*** Lima: Ministerio de Salud [Internet], [11 diciembre 2024]. Disponible en: https://covid19.minsa.gob.pe/sala_situacional.asp

119. ***Mittermeier R, Rylands A, Wilson D. 2013.*** Primates. En: Handbook of the mammals of the world. Lynx Edicions. 951 p.

120. ***Monchatre-Leroy E, Boué F, Boucher J, Renault C, Moutou F, Ar Gouilh M, Umhang G. 2017.*** Identification of Alpha and Beta Coronavirus in Wildlife Species in France: Bats, Rodents, Rabbits and edgehogs. Viruses; 9(12):364. doi: 10.3390/v9120364.

121. ***Mora C. 1991.*** Expansión de la frontera agrícola en la amazonía peruana. Colonización del Bosque Húmedo Tropical 125 - 146.

122. ***Moura I, Buckley A, Wilcox M. 2022.*** Can SARS-CoV-2 be transmitted via faeces? Curr Opin Gastroenterol. 1;38(1):26-29. doi: 10.1097/MOG.0000000000000794.

123. ***Moxham G. 2001.*** Sistema de puntuación de heces de Waltham: una herramienta para veterinarios y dueños de mascotas: ¿Cómo califica su mascota? Waltham focus , 11 (2), 24-25.

124. ***Munne K, Bhanothu V, Bhor V, Patel V, Mahale S, Pande S. 2021.*** Detection of SARS-CoV-2 infection by RT-PCR test: Factors influencing interpretation of results. Virus disease, 32(2), 187–189. https://doi.org/10.1007/s13337-021-00692-5

125. ***Natarajan A, Zlitni S, Brooks E, Vance S, Dahlen A, Hedlin H, Park R, Han A, Schmidtke D, Verma R, Jacobson K, Parsonnet J, Bonilla H, Singh U, Pinsky B, Andrews J, Jagannathan P, Bhatt A. 2022.*** Gastrointestinal symptoms and fecal shedding of SARS-CoV-2 RNA suggest prolonged gastrointestinal infection. Med 3(6):371-387.e9. doi: 10.1016/j.medj.2022.04.001.

126. ***Norconk M, Atsalis S, Tully G, Santillán A, Waters S, Knott C, Ross S, Shanee S, Stiles D. 2020.*** Reducing the primate pet trade: Actions for primatologists. Am J Primatol. 82(1):e23079. doi: 10.1002/ajp.23079.

127. ***Noss R. 1990.*** Indicators for Monitoring Biodiversity: A Hierarchical Approach. Conservation Biology 4:355–364.

128. ***O'Leary N, Wright M, Brister J, Ciufo S, Haddad D, McVeigh R, Rajput B, Robbertse B, Smith B, Ako D. 2016.*** Database at NCBI: Current Status, Taxonomic Expansion, and Functional Annotation. Reference Sequence (RefSeq) Nucleic Acids Res. 44, D733–D745

129. ***Ochani R, Asad A, Yasmin F, Shaikh S, Khalid H, Batra S, Sohail M, Mahmood S, Ochani R, Hussham Arshad M, Kumar A, Surani S. 2021.*** COVID-19 pandemic: from origins to outcomes. A comprehensive review of viral pathogenesis, clinical manifestations, diagnostic evaluation, and management. Infez Med. 29(1):20-36.

130. ***OIE. 2021.*** Paris: Organización Mundial de Sanidad Animal. [Internet], [20 mayo 2022]. Disponible en: https://www.oie.int/es/que-ofrecemos/emergencia-y-resiliencia/covid-19/

131. ***Olival K, Hosseini P, Zambrana C, Ross N, Bogich T, Daszak P. 2017.*** Host and viral traits predict zoonotic spillover from mammals. Nature 546, 646–650. doi.org/10.1038/nature22975

132. ***[OMSA]. Organización Mundial de Sanidad Animal. 2018.*** Capítulo 1.1.3.: Transporte de material biológico. En: Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres, duodécima edición 2023. Disponible online en: https://www.woah.org/es/que-hacemos/normas/codigosy-manuales/acceso-en-linea-al-manual-terrestre/

133. ***Orkin J, Kuderna L, Marques T. 2021.*** The Diversity of Primates: From Biomedicine to Conservation Genomics. Annu Rev Anim Biosci. 9:103-124. doi: 10.1146/annurev-animal-061220-023138.

134. ***Ortiz G. 2020.*** Pandemias, zoonosis y comercio de animales silvestres. *Revista de Bioética y Derecho*, (50), 19-35.

135. ***Pacheco A, Moreno S, Medina A. 2013.*** Herramientas moleculares y su utilidad en el cáncer pediátrico. Gaceta Mexicana de Oncología, 12(3), 162-173

136. ***Pacheco V, Diaz S, Graham L, Flores M, Calizaya G, Ruelas D, Sánchez P. 2021.*** Lista actualizada de la diversidad de los mamíferos del Perú y una propuesta para su actualización. Revista peruana de biología 28(4): e21019 009 - 038 (Noviembre 2021). doi: 10.15381/rpb.v28i4.21019

137. ***PCM. 2018.*** Secretaría de Demarcación y Organización Territorial. [Internet], [18 noviembre 2024]. Disponible en http://sdot.pcm.gob.pe/index.php/unidades_politico_administrativas/#1471282032520-974c00cf-55b4

138. ***Pedersen N, Allen C, Lyons L. 2008.*** Pathogenesis of feline enteric coronavirus infection. J Feline Med Surg. 10(6):529-41. doi: 10.1016/j.jfms.2008.02.006.

139. ***Peiris J, Chu C, Cheng V, Chan K, Hung I, Poon L, Law K, Tang B, Hon T, Chan C, Chan K, Ng J, Zheng B, Ng W, Lai R, Guan Y, Yuen K. 2003.*** Clinical progression and viral load in a community outbreak of coronavirus-associated SARS pneumonia: a prospective study. Lancet May 24;361(9371):1767-72. doi: 10.1016/s0140-6736(03)13412-5.

140. ***Perchetti G, Huang M, Peddu V, Jerome K, Greninger A. 2020.*** Estabilidad del SARS-CoV-2 en solución salina tamponada con fosfato para la detección molecular. J Clin Microbiol; 58(8):E01094-20. doi: 10.1128/JCM.01094-20.

141. ***Pereira A, Vasconcelos A, Silva V, Nogueira B, Silva A, Pacheco R, Souza M, Colodel E, Ubiali D, Biondo A, Nakazato L, Dutra V. 2022.*** Natural SARS-CoV-2 Infection in a Free-Ranging Black-Tailed Marmoset (*Mico melanurus*) from an Urban Area in Mid-West Brazil. J Comp Pathol. 194:22-27. doi: 10.1016/j.jcpa.2022.03.005.

142. ***Pérez M, Sanz J. 2021.*** SARS-CoV-2 variants, a still unfinished story. Vacunas 22(3):173-179. doi: 10.1016/j.vacun.2021.06.003.

143. ***Prado T, Fumian T, Mannarino C, Resende P, Motta F, Eppinghaus A, Chagas do Vale V, Braz R, de Andrade J, Maranhão A, Miagostovich M. 2021.*** Wastewater-based epidemiology as a useful tool to track SARS-CoV-2 and support public health policies at municipal level in Brazil. Water Res. 1;191:116810. doi: 10.1016/j.watres.2021.116810.

144. ***Priestnall S, Brownlie J, Dubovi E, Erles K. 2006.*** Serological prevalence of canine respiratory coronavirus. Vet Microbiol. 115(1-3):43-53. doi: 10.1016/j.vetmic.2006.02.008.

145. ***Priestnall S. 2020.*** Canine Respiratory Coronavirus: A Naturally Occurring Model of COVID-19? Veterinary Pathology. 57(4):467-471. doi:10.1177/0300985820926485

146. ***[UNMSM], Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 1996***. Evaluación Poblacional de Saguinus labiatus en la Isla de Muyuy,Loreto, Perú. Iquitos: UNMSM. Informe Técnico. 10 p.

147. ***Radbel J, Jagpal S, Roy J, Brooks A, Tischfield J, Sheldon M, Bixby C, Witt D, Gennaro M, Horton D, Barrett E, Carson J, Panettieri R Jr, Blaser M. 2020.*** Detection of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Is Comparable in Clinical Samples Preserved in Saline or Viral Transport Medium. J Mol Diagn. 22(7):871-875. doi: 10.1016/j.jmoldx.2020.04.209.

148. ***Rao S, Manissero D, Steele V, Pareja J. 2020.*** A Systematic Review of the Clinical Utility of Cycle Threshold Values in the Context of COVID-19. Infect Dis Ther. 9(3):573-586. doi: 10.1007/s40121-020-00324-3.

149. ***Richeson J, Hughes H, Broadway P, Carroll J. 2019.*** Vaccination management of beef cattle: delayed vaccination and endotoxin stacking. Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice, 35(3), 575–592. doi: 10.1016/j.cvfa.2019.07.003.

150. ***Rivera O, Galvez C, Castro E, Bonilla C. 2021.*** Factors associated with knowledge, attitudes and preventive practices towards COVID-19 in health care professionals in Lima, Peru. F1000Res. 10:582. doi: 10.12688/f1000research.53689.3.

151. ***Rockx B, Kuiken T, Herfst S, Bestebroer T, Lamers M, Oude B, de Meulder D, van Amerongen G, van den Brand J, Okba N, Schipper D, van Run P, Leijten L, Sikkema R, Verschoor E, Verstrepen B, Bogers W, Langermans J, Drosten C, Fentener van Vlissingen M, Fouchier R, de Swart R, Koopmans M, Haagmans B. 2020.*** Comparative pathogenesis of COVID-19, MERS, and SARS in a nonhuman primate model. Science. 368(6494):1012-1015. doi: 10.1126/science.abb7314.

152. ***Rojas N, Lope P, Huaringa M, Marques P, Palacios R, Balbuena J, Caceres O, Padilla C.*** 2021. Validación y evaluación de una prueba de RT-PCR en tiempo *real in house* para la detección de SARS-CoV-2 usando un gen específico RdRp y control endógeno GAPDH. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica, *38*(4), 595-600. doi: 10.17843/rpmesp.2021.384.7596

153. ***Salguero F, White A, Slack G, Fotheringham S, Bewley K, Gooch E, Longet S, Humphries H, Watson R, Hunter L, Ryan K, Hall Y, Sibley L, Sarfas C, Allen L, Aram M, Brunt E, Brown P, Buttigieg K, Cavell B, Cobb R, Coombes N, Darby A, Daykin-Pont O, Elmore M, Garcia I, Gkolfinos K, Godwin K, Gouriet J, Halkerston R, Harris D, Hender T, Ho C, Kennard C, Knott D, Leung S, Lucas V, Mabbutt A, Morrison A, Nelson C, Ngabo D, Paterson J, Penn J, Pullan S, Taylor I, Tipton T, Thomas S, Tree J, Turner C, Vamos E, Wand N, Wilblin N, Charlton S, Dong X, Hallis B, Pearson G, Rayner E, Nicholson A, Funnell S, Hiscox J, Dennis M, Gleeson F, Sharpe S, Carroll M. 2021.*** Comparación de *Macacos rhesus* y *Cynomolgus* como modelo de infección para COVID-19. Nat Commun 12: 1– 14. 10.1038/s41467-021-21389-9.

154. ***Saif L. 2010.*** Bovine respiratory coronavirus. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, 26(2), 349–364. doi: 10.1016/j.cvfa.2010.04.005.

155. ***Sánchez C. 2023.*** Detección molecular de Coronavirus en primates no humanos incautados y hallados por el Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre (SERFOR)

en Lima, Perú, 2020-2021. Tesis para optar el título de Profesional de Biólogo, Microbióloga, Parasitóloga. Lima: Univ Nacional Mayor de San Marcos. 97 p.

156. ***Santos N, Salas R.*** 2020. Origen, características estructurales, medidas de prevención, diagnóstico y fármacos potenciales para prevenir y controlar COVID-19. Medwave 20(8):e8037. doi: 10.5867/medwave.2020.08.8037

157. ***Schäfer A, Leist S, Gralinski L, Martinez D, Winkler E, Okuda K, Hawkins P, Gully K, Graham R, Scobey D, Bell T, Hock P, Shaw G, Loome J, Madden E, Anderson E, Baxter V, Taft S, Zweigart M, May S, Dong S, Clark M, Miller D, Lynch R, Heise M, Tisch R, Boucher R, Pardo F, Montgomery S, Diamond M, Ferris M, Baric R. 2022.*** A Multitrait Locus Regulates Sarbecovirus Pathogenesis. mBio. 13(4):e0145422. doi: 10.1128/mbio.01454-22.

158. ***Schiaffino F, Ferradas C, Jara L, Salvatierra G, Dávila A, Sánchez C, Ulloa A, Mascaro L, Pajuelo M, Guevara L, Fernandez M, Zimic M. 2021***. First Detection and Genome Sequencing of SARS-CoV-2 Lambda (C.37) Variant in Symptomatic Domestic Cats in Lima, Peru. Front. Vet. Sci. 8:737350. doi: 10.3389/fvets.2021.737350

159. ***Schwalb A, Mares C. 2021.*** La pandemia de COVID-19 en Perú: ¿Qué falló? Am J Trop Med Hyg. 104(4):1176-1178. doi: 10.4269/ajtmh.20-1323.

160. ***Sebastián J. 2020.*** COVID-19 and gastrointestinal tract. Med Clin 155(2):68-69. English, Spanish. doi: 10.1016/j.medcli.2020.03.006.

161. ***Serfor. 2020.*** Plan Nacional de Conservación de los Primates Amenazados del Perú. Lima. Perú. 86 pp.

162. ***Shanee N, Mendoza A, Shanee S. 2016.*** Diagnostic overview of the illegal trade in primates and law enforcement in Peru. American Journal of Primatology, doi:10.1002/ajp.22516

163. ***Shi W, Shi M, Que T, Cui X, Ye R, Xia L, Hou X, Zheng J, Jia N, Xie X, Wu W, He M, Wang H, Wei Y, Wu A, Zhang S, Pan Y, Chen P, Wang Q, Li S, Zhong Y, Li Y, Tan L, Zhao L, Jiang J, Hu Y, Cao W. 2022.*** Trafficked Malayan pangolins contain viral pathogens of humans. Nat Microbiol. 7(8):1259-1269. doi: 10.1038/s41564-022-01181-1.

164. ***Shi Y, Tao J, Li B, Shen X, Cheng J, Liu H. 2021.*** The Gut Viral Metagenome Analysis of Domestic Dogs Captures Snapshot of Viral Diversity and Potential Risk of Coronavirus. Front Vet Sci. 8:695088. doi: 10.3389/fvets.2021.695088.

165. ***Singh A, Singh R, Sarma P, Batra G, Joshi R, Kaur H, Sharma A, Prakash A, Medhi B. 2020.*** A comprehensive review of animal models for coronaviruses: SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV. *Virol Sin* 35: 290– 304. 10.1007/s12250-020-00252-z

166. ***Singh D, Yi SV. 2021.*** On the origin and evolution of SARS-CoV-2. Exp Mol Med. Apr;53(4):537-547. doi: 10.1038/s12276-021-00604-z. Epub 2021 Apr 16. PMID: 33864026; PMCID: PMC8050477.

167. ***Soini P. 1975.*** Resultados de una investigación preliminar de la fauna de la isla de Iquitos e islas adyacentes. [Internet], [15 enero 2025]. Disponible en: http://www.iiap.org.pe/upload/publicacion/cdinvestigacion/unmsm/unmsm-i3/htm/unmsm-i3c-11.htm#TopOfPage

168. ***Snowdon C, Soini P. 1988.*** The tamarins, genus Saguinus. En: Ecology and Behavior of Neotropical Primates, Vol. 2, Mittermeier R, Rylands A, CoimbraFilho A, da Fonseca G. World Wildlife Fund, Washington, DC. pp. 223-298.

169. ***Statista. 2025.*** Hamburgo: Statista. [Internet], [14 enero 2025]. Disponible en: https://es.statista.com/estadisticas/1104227/numero-acumulado-de-casos-de-coronavirus-covid-19-en-el-mundo-enero-marzo/

170. ***Stephenson N, Swift P, Moeller R, Worth S, Foley J. 2013.*** Peritonitis infecciosa felina en un león de montaña (*Puma concolor*), California, EE. UU. *J. Wildl. Dis.* 49 :408–412. doi: 10.7589/2012-08-210.

171. ***Tapia J, Aquino R, Encarnación F, Moya L. 1990.*** Métodos y técnicas de atrapamiento de cébidos (*Saimiri* sp.*, Aotus* sp. *y Cebus* sp.) En: La Primatología en el Perú. Lima: Proyecto Peruano de Primatología.

172. ***Tang X., Wu C, Li X, Song Y, Yao X, Wu X., Duan Y, Zhang H, Wang Y, Qian Z. 2020.*** On the origin and continuing evolution of SARS-CoV-2. Natl. Sci. Rev. doi: 10.1093/nsr/nwaa036.

173. ***Te N, Rodon J, Creve R, Pérez M, Segalés J, Vergara-Alert J, Bensaid A. 2022.*** Evaluation of alpaca tracheal explants as an ex vivo model for the study of Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) infection. Vet Res. 53(1):67. doi: 10.1186/s13567-022-01084-3.

174. ***Terada Y, Matsui N, Noguchi K, Kuwata R, Shimoda H, Soma T, Mochizuki M, Maeda K. 2014.*** Aparición de coronavirus patógenos en gatos por recombinación homóloga entre coronavirus felinos y caninos. *Más uno.* 9 :e106534. doi: 10.1371/journal.pone.0106534.

175. ***Trichel A. 2021. Overview of Nonhuman Primate Models of SARS-CoV-2 Infection. Comp Med.*** 71(5):411-432. doi: 10.30802/AALAS-CM-20-000119.

176. ***Trifinopoulos J, Nguyen L, von Haeseler A, Minh B. 2016.*** W-IQ TREE: A Fast Online Phylogenetic Tool for Maximum Likelihood Analysis. Nucleic Acids Res. 44, W232–W235.

177. ***Tu C, Crameri G, Kong X, Chen J, Sun Y, Yu M, Xiang H, Xia X, Liu S, Ren T, Yu Y, Eaton B, Xuan H, Wang L. 2004.*** Antibodies to SARS coronavirus in civets. Emerg Infect Dis 10(12):2244-8. doi: 10.3201/eid1012.040520

178. ***Tuch K, Witte K, Wüller H. 1974.*** Determinación de peritonitis infecciosa felina (FIP) en gatos domésticos y leopardos en Alemania. Revista Central de Medicina Veterinaria Serie B. 21 :426-441. doi: 10.1111/j.1439-0450.1974.tb00519.x.

179. ***Valdivia C, Ho A, Munguia A, Gonzalez K, Ibacache C, Dinamarca A, Stehlík M, Rusiñol M, Girones R, Lopez M, Basaldua A, Gonzales E. 2023.*** Surveillance of SARS-CoV-2, rotavirus, norovirus genogroup II, and human adenovirus in wastewater as an epidemiological tool to anticipate outbreaks of COVID-19 and acute gastroenteritis in a city without a wastewater treatment plant in the Peruvian Highlands. Sci Total Environ. 905:167161. doi: 10.1016/j.scitotenv.2023.167161.

180. ***Vilcanqui B, Vilcanqui N, Choque G, Vilcanqui Q. 2022.*** Calidad de vida y salud en pueblos indígenas amazónicos durante la pandemia COVID-19. *Vive Revista de Salud*, *5*(14), 325-336. doi: 10.33996/revistavive.v5i14.151

181. ***Wachtman L, Mansfield K. 2012.*** Viral Diseases of Nonhuman Primates. Nonhuman Primates in Biomedical Research. 1-104. doi:10.1016/B978-0-12-381366-4.00001-8

182. ***Walsh K, Jordan K, Clyne B, Rohde D, Drummond L, Byrne P, Ahern S, Carty P, O'Brien K, O'Murchu E, O'Neill M, Smith S, Ryan M, Harrington P. 2020.*** SARS-CoV-2 detection, viral load and infectivity over the course of an infection. J Infect 81(3):357-371. doi: 10.1016/j.jinf.2020.06.067.

183. ***Wang W, Lin X, Guo WP, Zhou R, Wang M, Wang C, Ge S, Mei S, Li M, Shi M, Holmes E, Zhang Y. 2015.*** Discovery, diversity and evolution of novel coronaviruses sampled from rodents in China. Virology; 474:19-27. doi: 10.1016/j.virol.2014.10.017.

184. ***Wardeh M, Baylis M, Blagrove M. 2021.*** Predicting mammalian hosts in which novel coronaviruses can be generated. *Nat Commun* 12:780 doi.org/10.1038/s41467-021-21034-5

185. ***Weber M, Mosena A, da Silva M, Canova R, de Lorenzo C, Olegário J, Budaszewski R, Baumbach L, Soares J, Sonne L, Varela A, Mayer F, de Oliveira L, Canal C. 2020.*** Virome of crab-eating (Cerdocyon thous) and pampas foxes (Lycalopex gymnocercus) from southern Brazil and Uruguay. Infection, Genetics and Evolution, 85, 104421. doi: 10.1016/j.meegid.2020.104421.

186. ***Wille M, Wensman J, Larsson S, van Damme R, Theelke A, Hayer J, Malmberg M. 2020.*** Evolutionary genetics of canine respiratory coronavirus and recent

introduction into Swedish dogs. Infect Genet Evol. 2020 Aug;82:104290. doi: 10.1016/j.meegid.2020.104290.

187. ***Woo P, Lau S, Chu C, Chan K, Tsoi H, Huang Y, Wong B, Poon R, Cai J, Luk W, Poon L, Wong S, Guan Y, Peiris J, Yuen K. 2005.*** Characterization and complete genome sequence of a novel coronavirus, coronavirus HKU1, from patients with pneumonia. J Virol. 79(2):884-95. doi: 10.1128/JVI.79.2.884-895.2005.

188. ***Woo P, Lau S, Huang Y, Yuen K. 2009.*** Coronavirus diversity, phylogeny and interspecies jumping. Exp Biol Med 234(10):1117-27. doi: 10.3181/0903-MR-94.

189. ***Woo P, Lau S, Lam C, Lau C, Tsang A, Lau J, Bai R., Teng J, Tsang C, Wang M. 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. J. Virol. 86:3995–4008. doi: 10.1128/JVI.06540-11.

190. ***Woo P, Lau S, Li K, Poon R, Wong B, Wah Tsoi H, Yip B, Huang Y, Hung Chan K, Yung Yuen K. 2006.*** Molecular diversity of coronaviruses in bats. Virology, 351, 180–187. doi: 10.1016/j.virol.2006.02.041

191. ***Woo P, Lau S, Yuen K. 2006.*** Infectious diseases emerging from Chinese wet-markets: zoonotic origins of severe respiratory viral infections. Curr Opin Infect Dis 19:401–407. doi: 10.1097/01.qco.0000244043.08264.fc

192. ***Woolsey C, Borisevich V, Prasad A, Agans K, Deer D, Dobias N, Heymann J, Foster S, Levine C, Medina L, Melody K, Geisbert J, Fenton K, Geisbert T, Cross R. 2020.*** Establishment of an African green monkey model for COVID-19 and protection against re-infection. *Nat Immunol* 22: 86– 98. doi: 10.1038/s41590-020-00835-8.

193. ***Xiao K, Zhai J, Feng Y, Zhou N, Zhang X, Zou J, Li N, Guo Y, Li X, Shen X, Zhang Z, Shu F, Huang W, Li Y, Zhang Z, Chen R, Wu Y, Peng S, Huang M, Xie W, Cai Q, Hou F, Chen W, Xiao L, Shen Y. 2020.*** Isolation of SARS-CoV-2-related coronavirus from Malayan pangolins. Nature 583(7815):286-289. doi: 10.1038/s41586-020-2313-x.

194. ***Yan Y, Chang L, Wang L. 2020.*** Laboratory testing of SARS-CoV, MERS-CoV, and SARS-CoV-2 (2019-nCoV): Current status, challenges, and countermeasures. Rev Med Virol 30(3):e2106. doi: 10.1002/rmv.2106.

195. ***Yang S, He Y, Zhang J, Zhang D, Wang Y, Lu X, Wang X, Shen Q, Ji L, Lu H, Zhang W. 2022.*** Viral metagenomics reveals diverse viruses in the fecal samples of children with diarrhea. Virol Sin. 37(1):82-93. doi: 10.1016/j.virs.2022.01.012.

196. ***Yunita L, Rachma D, Riyanti A. 2023.*** Sensitivitas Pemeriksaan Covid-19: Insulated Isothermal PCR (iiPCR) Dan Reverse Transcription PCR (RT-PCR). The

Journal of Muhammadiyah medical laboratory technologist, 6(1):37-37. doi: 10.30651/jmlt.v6i1.12441

197. ***Zaki A, van Boheemen S, Bestebroer T, Osterhaus A, Fouchier R. 2012.*** Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. N. Engl. J. Med. 2012;367:1814–1820. doi: 10.1056/NEJMoa1211721.

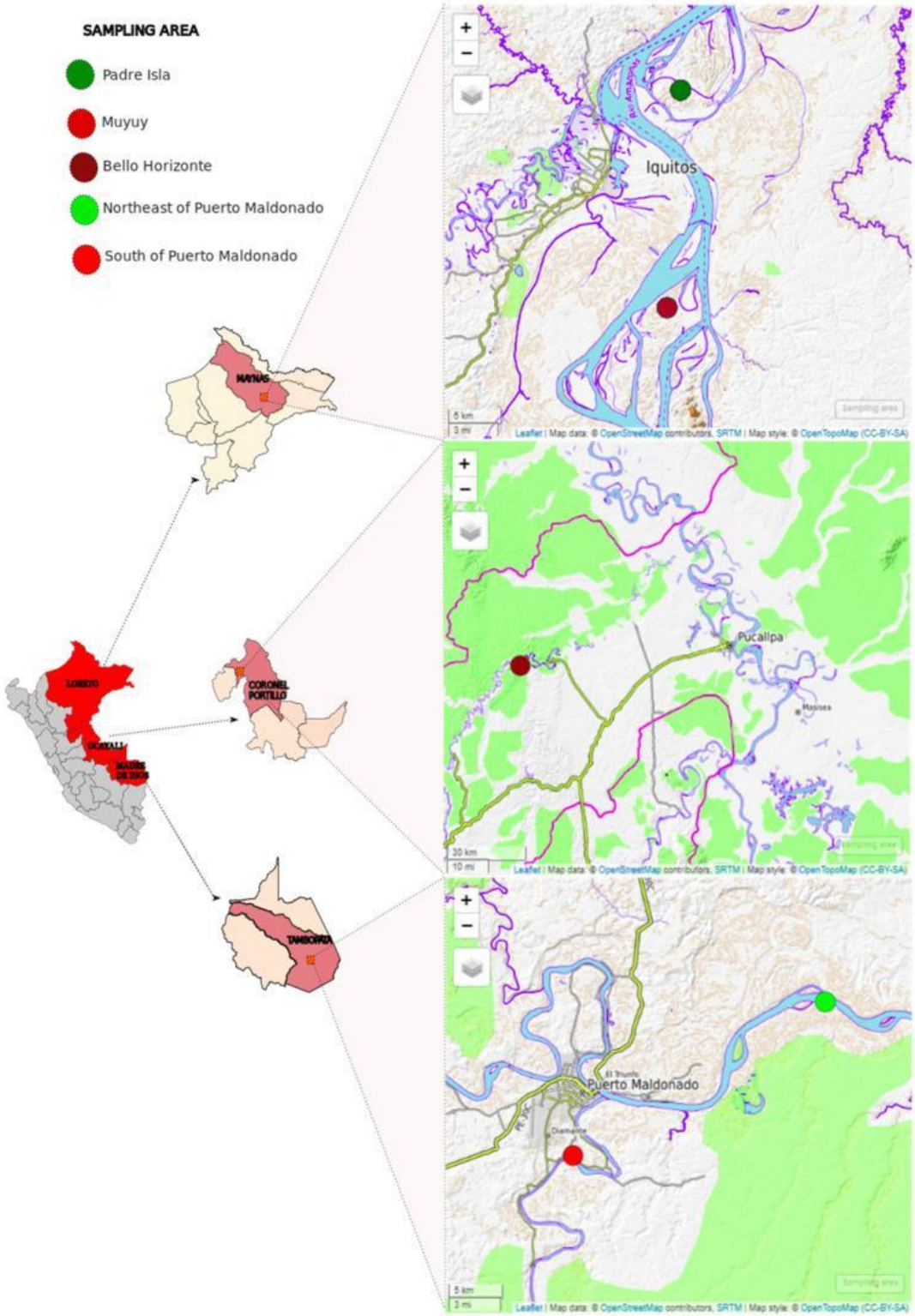
198. ***Zhang J. 2016.*** Porcine deltacoronavirus: overview of infection dynamics, diagnostic methods, prevalence and genetic evolution. Virus Res 226:71–84. doi: 10.1016/j.virusres.2016.05.028

199. ***Zhang T, Wu Q, Zhang Z. 2020.*** Pangolin Homology Associated with 2019-nCoV. bioRxiv. doi: 10.1101/2020.02.19.950253

200. ***Zhao S, Schuurman N, Li W, Wang C, Smit L, Broens E, Wagenaar J, van Kuppeveld F, Bosch B, Egberink H. 2021.*** Serologic Screening of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection in Cats and Dogs during First Coronavirus Disease Wave, the Netherlands. Emerg Infect Dis. (5):1362-1370. doi: 10.3201/eid2705.204055.

201. ***Zhou P, Fan H, Lan T, Yang X, Shi W, Zhang W, Zhu Y, Zhang Y, Xie Q, Mani S, Zheng X, Li B, Li J, Guo H, Pei G, An X, Chen J, Zhou L, Mai K, Wu Z, Li D, Anderson D, Zhang L, Li S, Mi Z, He T, Cong F, Guo P, Huang R, Luo Y, Liu X, Chen J, Huang Y, Sun Q, Zhang X, Wang Y, Xing S, Chen Y, Sun Y, Li J, Daszak P, Wang L, Shi Z, Tong Y, Ma J. 2018***. Fatal swine acute diarrhoea syndrome caused by an HKU2-related coronavirus of bat origin. Nature 556(7700):255-258. doi: 10.1038/s41586-018-0010-9.

VIII. ANEXOS



Anexo 1. Áreas de muestreo de PNH en cautiverio y semi-cautiverio de las regiones de Loreto, Ucayali y Madre de Dios.