



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**CORONAVIRUS SPP. EN ROEDORES SINANTRÓPICOS DE
GUAYAQUIL 2020-2021
TESIS DE GRADO**

Trabajo de titulación presentado como requisito para la
obtención del título de
MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

**AUTORA
MERA ZEA MARÍA DANIELA**

**TUTOR
Dr. MSc. SOLÓN ALBERTO ORLANDO NARVAEZ**

GUAYAQUIL - ECUADOR

2022



UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

APROBACIÓN DEL TUTOR

Yo, SOLÓN ALBERTO ORLANDO NARVAEZ, docente de la Universidad Agraria del Ecuador, en mi calidad de Tutor, certifico que el presente trabajo de titulación: CORONAVIRUS SPP. EN ROEDORES SINANTRÓPICOS DE GUAYAQUIL 2020-2021, realizado por la estudiante MERA ZEA MARÍA DANIELA; con cédula de identidad N°0923575880 de la carrera MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, Unidad Académica Guayaquil, ha sido orientado y revisado durante su ejecución; y cumple con los requisitos técnicos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador; por lo tanto, se aprueba la presentación del mismo.

Atentamente,

Firma del Tutor

Guayaquil, 24 de febrero del 2022



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

Los abajo firmantes, docentes designados por el H. Consejo Directivo como miembros del Tribunal de Sustentación, aprobamos la defensa del trabajo de titulación: **“CORONAVIRUS SPP. EN ROEDORES SINANTRÓPICOS DE GUAYAQUIL 2020-2021”**, realizado por la estudiante **MERA ZEA MARÍA DANIELA**, el mismo que cumple con los requisitos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador.

Atentamente,

**MIELES SORIANO GLORIA FABIOLA, M.Sc.
PRESIDENTE**

**FLOR ALVAREZ SILVIA, M.Sc.
EXAMINADOR PRINCIPAL**

**CARRILLO CEDEÑO CESAR, M.Sc.
EXAMINADOR PRINCIPAL**

**ORLANDO NARVAEZ SOLÓN ALBERTO, M.Sc.
EXAMINADOR SUPLENTE**

Guayaquil, 7 de abril del 2022

Dedicatoria

En honor a mis padres ya que sin ellos no hubiera llegado a culminar la carrera, y este trabajo de titulación. Ellos han sido mi más grande motivación para nunca rendirme y poder haber llegado a donde estoy ahora.

Agradecimiento

En agradecimiento a mis padres por apoyarme durante todo el transcurso de todo el trabajo de titulación y a lo largo de la carrera. De igual forma agradezco al Dr. Alberto Orlando, Dra. Ariana León y a la Dra. Joselyn Calderón, por todo su apoyo en la ejecución de investigación y las enseñanzas que me otorgaron.

Autorización de Autoría Intelectual

Yo MARÍA DANIELA MERA ZEA en calidad de autor(a) del proyecto realizado, sobre “CORONAVIRUS SPP. EN ROEDORES SINANTRÓPICOS DE GUAYAQUIL 2020-2021” para optar el título de MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA por la presente autorizo a la UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR, hacer uso de todos los contenidos que me pertenecen o parte de los que contienen esta obra, con fines estrictamente académicos o de investigación.

Los derechos que como autor(a) me correspondan, con excepción de la presente autorización, seguirán vigentes a mi favor, de conformidad con lo establecido en los artículos 5, 6, 8; 19 y demás pertinentes de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

Guayaquil, 24 de febrero del 2022

MERA ZEA MARÍA DANIELA

C.I. 0923575880

Índice General

PORTADA	1
APROBACIÓN DEL TUTOR	2
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN	3
Dedicatoria	4
Agradecimiento	5
Índice de Tablas	10
Resumen	11
1. Introducción	12
1.1 Antecedentes del problema.....	13
1.2 Planteamiento y formulación del problema	14
1.2.1 Planteamiento del problema.....	14
1.3 Justificación de la investigación.....	15
1.4 Delimitación de la investigación	16
1.5 Objetivo general	17
1.6 Objetivos específicos.....	17
1.7 Hipótesis	17
2. Marco Teórico	18
2.1.Estado del arte.....	18
2.1.1.Familia Coronaviridae.....	18
2.2. Bases teóricas	19
2.2.1.Géneros de coronavirus	19
2.2.2. Coronavirus en roedores.....	21
2.2.3. Coronavirus humanos originados en roedores	24
2.2.4. SARS-COV2	26

2.2.5. Taxonomía Roedores	27
2.2.6. Presencia de Roedores en Guayaquil	28
2.2.7. Importancia En La Salud Publica.....	29
2.2.8. Detección de Covid-19 por PCR	31
2.3. Marco legal	33
3. Materiales y Métodos	35
3.1. Enfoque de la investigación	35
3.1.1. Tipo de investigación.....	35
3.1.2. Lugar de estudio	35
3.1.3. Diseño de investigación	35
3.2. Metodología.....	36
3.2.1. Variable	36
3.2.2.1 Variable Dependiente	36
3.2.2.2 Variable Independiente	36
3.2.2. Universo y tamaño de la muestra	38
3.2.3. Recolección de datos	38
3.2.4. Recursos.....	38
3.2.5. Métodos y técnicas	39
3.2.6. Análisis estadístico.....	41
4. Resultados	42
4.1. Identificación taxonómica las especies de roedores sinantrópicos que circulan en la ciudad de Guayaquil.....	42
4.2. Presencia de SARS-Cov-2 en roedores a Guayaquil	48
4.3. Presencia de los géneros Alfa y Betacoronavirus en roedores	48
5. Discusión	51

6. Conclusiones	54
7. Recomendaciones	55
8. Bibliografía	56
9. Anexos.....	65
9.1 Anexo 1. Gráfico de especies de roedores	65
9.2. Anexo 2. Gráfico de resultados SARS-CoV-2	65
9.3. Anexo 3. Gráfico de resultados pancoronavirus	66
9.4. Anexo 4. Imagen identificación del lugar y colocación de jaulas	66
9.5. Anexo 5. Imagen Personal de laboratorio para proyecto SARS.....	67
9.6. Anexo 6. Imagen del laboratorio área de necropsia.....	67
9.7. Anexo 7. Imagen Roedores en jaulas antes de la necropsia	68
9.8. Anexo 8. Imagen Muestras recolectadas de la necropsia	68
9.9. Anexo 9. Imagen Extracción de ARN de muestras recolectadas	69
9.10. Anexo 10. Imagen amplicones Pancoronavirus ratas	69
9.11. Anexo 11. Cronograma de actividades	70

Índice de tablas

Tabla 1. Especies de roedores sinantrópicos.....	42
Tabla 2. Frecuencia de Sexo de los roedores sinantrópicos.....	43
Tabla 3. Valores de tendencia central Mus musculus.....	44
Tabla 4. Valores de tendencia central Rattus norvegicus.....	44
Tabla 5. Valores de tendencia central Rattus rattus.....	45
Tabla 6. Frecuencia de Color de los roedores sinantrópicos.....	45
Tabla 7. Ubicación de la captura de los roedores sinantrópicos.....	46
Tabla 8. Lugar de la captura de los roedores sinantrópicos.....	47
Tabla 9. Roedores positivos a SARS-CoV2.....	48
Tabla 10. Numero de muestras positivas a Pancoronavirus.....	49
Tabla 11. Roedores positivos a Pancoronavirus.....	49

Resumen

El SARS-CoV-2 es una enfermedad infecciosa emergente, de origen zoonótico, este es un Beta-CoV es responsable de la pandemia causada por una enfermedad conocida como COVID-19, la cual se identificó a partir de un brote neumónico el 29 de diciembre del 2019 en Wuhan, China. Esta investigación tiene como objetivo determinar Coronavirus spp. a través de pruebas moleculares en roedores sinantrópicos de Guayaquil, Ecuador. Es un estudio trasversal descriptivo no experimental, la captura de roedores se dio de septiembre a diciembre del 2021 en veinte distintas zonas de la ciudad de Guayaquil, se tomaron muestras de órganos como pulmón, tráquea, intestino y riñones para detectar SARS-CoV-2 mediante PCR a tiempo real y Pancoronavirus a partir de PCR punto final. De un total de 119 roedores, se detectaron 1.7% (2/119) positivas a SARS-CoV-2 dando positivas al gen N1 con CT de 39.41 y 35.42, y el 12.6% (15/119) roedores dieron positivo a Pancoronavirus indicando la presencia de algún Alphacoronavirus o betacoronavirus de las cuales se obtuvieron una *Mus musculus*, siete *Rattus rattus*, y *Rattus norvegicus* fueron positivas. Por lo que se concluye que los roedores de la ciudad de Guayaquil si se infectaron con SARS-CoV-2 y son incluso portadoras que otras familias de coronavirus. En cuanto a las especies de roedores sinantrópicos del área de Guayaquil se pudo determinar que la de mayor porcentaje fueron las *Rattus rattus* con un 51.26% (61/119), seguido de las *Rattus norvegicus* con 42.86% (51/119), mientras que las *Mus musculus* fueron la minoría con 5.88% (7/119).

Palabras claves: Alphacoronavirus, Betacoronavirus, Guayaquil, roedores, SARS-CoV-2

1. Introducción

Los roedores son el orden de mamíferos más numerosos, estos se encuentran distribuidos en todo el mundo, exceptuando la Antártica. Existen alrededor de dos mil especies de roedores; la característica que todas las especies comparten es que presentan 2 incisivos con forma de cincel que les permite roer (RAGSCORP, 2019). Los roedores sinantrópicos son animales que se han adaptado al entorno del ser humano, siendo capaces de convivir con nosotros, desarrollarse y reproducirse. Entre los roedores sinantrópicos más conocidos son *Rattus rattus*, *Mus musculus* y *Rattus norvegicus*. Estos son transmisores de diversas enfermedades, muchas de ellas zoonóticas, por ello su importancia en la salud pública y animal (Organización Panamericana de la Salud, 2020).

Estos animales diseminan muchas enfermedades, debido a que son reservorios de microorganismos patógenos como bacterias, virus, y protozoarios. La transmisión a otros animales o personas ocurre de manera directa, por medio de mordidas o ingestión de los roedores, e indirectamente por contacto con heces u orina de los roedores. Otra vía de contagio es a través de vectores que portan los roedores como son los ácaros, pulgas y garrapatas. Muchas enfermedades llegan a nuevas áreas por la introducción de roedores a través de barcos o aviones. Algunas de las enfermedades más importantes para la salud pública son bacterias como leptospira, bartonella, peste bubónica; parásitos como toxoplasma, tripanosoma, meningoencefalitis eosinofílica; y virus como hepatitis E, hantavirus, rotavirus, coronavirus, and arenavirus (Gravinatti, Barbosa, Soares, & Gregori, 2020).

Un claro ejemplo de la magnitud del daño a la salud que pueden producir los roedores, si no se los controla, fue la pandemia de la peste bubónica conocida como la peste negra. Esta enfermedad zoonótica ha generado 3 pandemias a lo largo de en

el año 541, 1346, y 1855 que alcanzó los 5 continentes. Con un índice de mortalidad de alrededor del 60%, dejó alrededor de 200 millones de muertos (Virgili, 2020) . El agente etiológico es un bacilo conocido como *Yersinia pestis*. Las ratas eran portadores de la enfermedad, la transmisión se daba cuando las pulgas picaban a una rata infectada y luego al humano (Rius, 2018).

Otra enfermedad originada por las ratas es la Meningoencefalitis Eosinofílica en el humano, causada por el nematodo *Angiostrongylus cantonensis*, cuyo huésped definitivo son las ratas es conocido como el gusano del pulmón de la rata ya que vive en las arterias pulmonares de la misma (Estrada, 2020). La transmisión al humano se da cuando este ingiere el tercer estadio del parásito, ese estadio está en huéspedes intermediarios como los caracoles o vegetales contaminados con secreción de caracoles. Dichas larvas llegan al intestino, pasan a los vasos sanguíneos de estos para alojarse en las meninges. Una vez allí fallecen, puesto que el humano es un hospedero accidental, y causan una reacción eosinofílica produciendo una meningitis aséptica (Fariñas, Medina, Godoy, Rodríguez, & Robainas, 2019).

1.1 Antecedentes del problema

Muchos virus, entre esos el coronavirus (CoV), han mutado y se han adaptado a lo largo de los años. Por lo que estos evolucionan, siendo capaces de ser portadores e infectar a una gran variedad de especies de animales. Existen 7 coronavirus que afectan al humano, incluyendo al actual SARS-CoV-2, que fueron originados de murciélagos y otros por ratas. Entre los más destacados a lo largo de los años están el Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARS-CoV) en 2002-2003 y el Síndrome Respiratorio De Oriente Medio (MERS-CoV) en 2012, y este nuevo virus, denominado SARS-CoV-2 a fines del 2019 (Ye, y otros, 2020).

En el 2002 se generó una epidemia de Síndrome Respiratorio agudo severo (SARS-CoV) con un porcentaje de mortalidad del 10%, dejando alrededor de 800 muertos en 10 años. Dos años más tarde se encontró un nuevo coronavirus, llamado síndrome respiratorio de oriente medio (MERS-CoV) el cual alcanzo un porcentaje de mortalidad mayor al SARS, con un 30%. En Ecuador, MERS causó la muerte de 205 personas entre 2015 y 2018, de un total de 1794 personas contagiadas con MERS, registrando una tasa de morbilidad del 16.7% en el 2015 y 9.7% en el 2018 (Machado, 2020). Durante el 2020 la OMS declaro pandemia de SARS-CoV-2.

1.2 Planteamiento y formulación del problema

1.2.1 Planteamiento del problema

Los coronavirus son virus envueltos de ARN monocatenario que afectan a una gran variedad de animales y al humano, principalmente a mamíferos, causando enfermedades digestivas, respiratorias, y neurológicas. Durante el transcurso de los años, han surgido diversos coronavirus, todos de origen animal, afectando al ser humano y causando cientos de muertes a nivel mundial. De los murciélagos se han originado el SARS-CoV, MERS-CoV, HCoV-NL63 y HCoV-229E; mientras que el HCoV- OC43 y HKU1 se originaron en roedores. Estudios señalan que hay diversas similitudes entre los coronavirus de las ratas y murciélagos, por lo que sugieren que los roedores podrían ser reservorio de estas enfermedades. Los roedores se pueden contaminarse ingiriendo heces de murciélagos, haciéndose portadores de la enfermedad y transmitirla con mayor facilidad al humano y a otros animales.

En diciembre del 2019 se identificó en China un nuevo coronavirus, causado por el SARS-CoV-2, conocido como Covid-19, siendo el 7 CoV que afecta al humano, afectando al sistema respiratorio del humano. En marzo, la organización mundial de

la salud (OMS) caracterizo a la enfermedad como una pandemia, este coronavirus se encuentra presente en más de 215 países, con más de 216 millones de personas contagiadas el covid-19 ha dejado más de 4 millones de muertes alrededor del mundo.

El SARS-CoV-2 posee una poderosa patogenicidad y transmisibilidad, mucho mayor a las del SARS-CoV y MERS-CoV. Su poder de transmisibilidad es del 80%, pudiendo contagiar a otro individuo al estar cerca tan solo 15 segundos de alguien positivo a Covid-19 sin protección. Ecuador tiene la tasa más alta de personas en América del Sur con 13.15 por 100 mil habitantes y supera el promedio mundial de 9.63 con una mortalidad del 5%. Por ser un virus relativamente nuevo se sabe poco del mismo, y de sus vectores y reservorios. Existiendo también la posibilidad de que este mute afectando a otras especies favoreciendo su transmisibilidad.

1.2.2 Formulación del problema

¿Los roedores sinantrópicos son portadores de coronavirus Alfa y Beta?

¿Los roedores podrían facilitar la transmisión de SARS-CoV-2 a humanos y animales?

1.3 Justificación de la investigación

Los roedores son reservorios naturales de muchas enfermedades zoonóticas, contaminando a otros animales y al humano, apareciendo nuevas enfermedades y facilitando su transmisión. Estos animales son portadores de diferentes especies de coronavirus. A lo largo de los años se ha demostrado la capacidad de mutación de este virus, llegando a ser de rápida transmisibilidad, generando muertes y pérdidas económicas en todo el mundo.

El COVID-19 al ser una enfermedad emergente, con pocos estudios en cuanto a reservorios y portadores de esta enfermedad por lo que no están definidas las especies de animales que participan en la transición de coronavirus al humano. Se necesitan realizar investigaciones sobre las posibles interacciones CoV-huésped en animales, como en este caso los roedores para determinar el rol que estos tienen con coronavirus en nuestro país. Además de ello, se podría obtener información relevante sobre la patogénesis del coronavirus en el hombre. Siendo de importancia para la salud pública identificando posibles huéspedes animales de coronavirus en la ciudad de Guayaquil mediante un sistema de vigilancia epidemiológica que incluya otras especies de animales. Este estudio permitirá determinar cuál es el rol de los roedores sinantrópicos con el coronavirus, identificando si portan alguna Alpha o Beta coronavirus a través de pruebas moleculares como la prueba de Reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Además, dentro de los Beta coronavirus se buscará descartar la presencia del SARS-CoV-2.

El coronavirus a lo largo de los años se ha modificado, pudiéndose transmitir a los humanos, propagándose rápidamente generando muertes y grandes pérdidas económicas en todo el mundo. Por ser enfermedades emergentes, existe una falta de información acerca de estos virus, requiriéndose estudios para conocer más acerca de los coronavirus en nuestro país.

1.4 Delimitación de la investigación

- **Tiempo:** tuvo una duración 11 semanas desde el 18 de octubre del 2020 hasta el 3 de enero del 2021.

- **Lugar:** se llevó a cabo la captura de los roedores en la ciudad de Guayaquil. Mientras de que la necropsia, toma y recolección de muestras se realizó en el Instituto Nacional de Salud Pública e Investigación (INSPI).
- **Población:** roedores sinantrópicos

1.5 Objetivo general

Determinar *Coronavirus spp.* a través de pruebas moleculares en roedores sinantrópicos de Guayaquil.

1.6 Objetivos específicos

- Identificar taxonómicamente las especies de roedores sinantrópicos que circulan en la ciudad de Guayaquil.
- Demostrar la presencia de SARS-CoV-2 en roedores.
- Establecer la presencia de los géneros *Alfa* y *Beta* coronavirus en roedores.

1.7 Hipótesis

Existen roedores sinantrópicos portadores de coronavirus en la ciudad de Guayaquil

Comprobar la presencia de SARS-CoV-2 en roedores sinantrópicos

2. Marco Teórico

2.1. Estado del arte

2.1.1. Familia Coronaviridae

El coronavirus proviene del orden Nidovirales y de la familia Coronaviridae, tiene dos sub familias que son el Orthocoronavirinae que tienen una nucleocápside flexible y el Torovirinae con forma de rosquilla. En los Orthocoronavirinae hay 4 géneros que son el alphacoronavirus, betacoronavirus, gammacoronavirus, y deltacoronavirus. Los CoV son de forma esférica, de ARN monocatenario positivo con códigos genéticos que varían de 25 a 32 kb, de 7 a 10 ORFs (marcos abiertos de lectura) y un virión de 118 a 140 nm de diámetro. Se caracterizan por tener espículas de proteínas en la superficie del virión, dándole la apariencia de una corona de un rey por ellos se lo denomino coronavirus. Los CoV tienen una bicapa lipídica como envoltura, la cual la forman de a partir de la célula del huésped (Payne, 2017).

Posee proteínas estructurales de espícula (S), membrana (M), envoltura (E) y nucleocápside (N), y hemaglutinina-esterasa (HE) en ciertos Betacoronavirus. Para formar la envoltura utiliza proteínas S, M y E, y para la nucleocápside utiliza la N. La glicoproteína S forma las prominencias que actúan como proyecciones de la envoltura del viral ayudando a la unión, fusión y entrada del virus a la célula del hospedero son altamente responsables del poder de patogenicidad viral, en algunos CoV hay dos subunidades de estas glicoproteínas (S1 y S2) (Kasmi, Khataby, Souiri, & Ennaji, 2020). Las M son las más abundantes y es importante para promover la curvatura de la membrana viral. Las E son las que hay en menor cantidad, usada para el ensamblaje del virus, la formación de las envolturas y para liberar partículas virales de

la célula del huésped. La proteína N es la que se une al ARN del virus para empaquetar el ARN durante el ensamblaje viral (Ashour, Elkhatib, Rahman, & Elshabrawy, 2020).

Los beta-coronavirus poseen la HE que le permite tener una mejor entrada y patogenicidad en el huésped, además de la corona de espículas que presentan estos virus les permiten acoplarse a los receptores del cuerpo de animales como los murciélagos, roedores, gatos, humanos, entre otros. Los coronavirus se caracterizan porque mutan o evolucionan pudiendo afectar a diferentes especies, esto se da debido a que se generan modificaciones en los peplómeros y los ligandos de los receptores, siendo capaces de causar propagación zoonótica y el cruce de la barrera de especies (Ashour, Elkhatib, Rahman, & Elshabrawy, 2020).

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Géneros de coronavirus

Los coronavirus afectan a una gran variedad de animales, principalmente a mamíferos, causando variedad de enfermedades, desde digestivas, respiratorias, a neurológicas. En la familia Orthocoronaviridae se identifican cuatro géneros; Alpha, Beta, Gamma, y Delta coronavirus. El alfa y beta coronavirus infectan solo a mamíferos, mientras que los gamma son a partir de aves y algunos mamíferos marinos, y delta de porcinos y aves silvestres (Ashour, Elkhatib, Rahman, & Elshabrawy, 2020). De los murciélagos se han originado el SARS-CoV, MERS-CoV del género Beta y el HCoV-NL63 y HCoV-229E de los alphas; mientras que el HCoV-OC43 y HKU1 probablemente se originaron en roedores e infectan a humanos. (Cui, Li, & Shi, 2019).

Dentro del género Alphacoronavirus encontramos virus que infectan a murciélagos, hurones, visones, gatos, perros, cerdos y humanos. El coronavirus felino

(FCoV), coronavirus canino (CCoV) y virus de la gastroenteritis transmisible (TGEV) en el cerdo, son ejemplos de Alphacoronavirus. El FCoV presenta dos patotipos distintos con una forma altamente transmisible que es el coronavirus entérico felino, que causa infecciones leves del tracto entérico, y una forma sistémica, el virus de la peritonitis infecciosa felina que causa una enfermedad entérica y sistémica grave. Se infiere que se genera una mutación genómica dentro del animal infectado con FCoV. La evolución de las cepas dentro de la especie Alphacoronavirus es compleja y probablemente implicó una serie de eventos de recombinación, adquiriendo una proteína S recombinante, permitiéndole el intercambio de dominios funcionales entre virus coinfectantes (Whittaker, André, & Millet, 2018).

Los caninos tienen CoV del género Alpha y Beta. El coronavirus entérico canino (CCoV), alphacoronavirus que es responsable de los signos clínicos gastrointestinales en los cachorros, mientras que el betacoronavirus llamado coronavirus respiratorio canino (CRCoV) se asocia con enfermedades respiratorias, particularmente en poblaciones de perros en perreras (Colina, Serena, Echeverría, & Metz, 2020).

Los cerdos pueden infectarse con seis coronavirus, de los cuales 4 pertenecen al género Alphacoronavirus (virus de la gastroenteritis transmisible (TGEV), coronavirus respiratorio porcino (PRCV), virus de la diarrea epidémica porcina (PEDV) y síndrome de diarrea aguda porcina-coronavirus (SADS-CoV)), mientras que los dos restantes se clasifican en el género Betacoronavirus, que es el virus de la encefalomielitis hemaglutinante porcina (PHEV) y en el género Deltacoronavirus como el deltacoronavirus porcino (PDCoV) (Wang, Vlasova, Kenney, & Saif, 2019). Una muestra de la capacidad de mutación de los coronavirus es que en Bélgica se informó de una variante de TGEV respiratoria en 1986. Con una gran delección en el extremo

5 'del gen S se denominó coronavirus respiratorio porcino afectando el tracto respiratorio, la tráquea, las amígdalas y los pulmones (Pan, y otros, 2017).

El coronavirus bovino (BCoV) y equino (ECoV), pertenecen al género Betacoronavirus, y están relacionados con patologías respiratorias y entéricas, en terneros y potros respectivamente (Haake, Cook, Pusterla, & Murphy, 2020). El BCoV, es capaz de infectar ratones y varias especies de rumiantes. En 1932, fue descubierto el primer coronavirus, un gammacoronavirus, denominado Bronquitis infecciosa aviar (IBV). Este afecta al tracto urogenital de pollos que causan enfermedad renal del ave (Fehr & Perlman, 2015).

Los roedores y murciélagos son considerados los ancestros de los coronavirus. Ellos diseminan el virus, contaminando al resto de animales y humanos, por lo que representa una amenaza para la salud humana. En los últimos años, los virus más conocidos, como el lyssavirus que produce el virus de la rabia, el CoV causando SARS-CoV, MERS-CoV y SARS-CoV2, el filovirus que produce la Ebola, y la leptospira. Los tres CoV de murciélagos generaron los primeros brotes en China, el país más poblado del mundo. En china existen una gran diversidad de murciélagos, y estos viven cerca del humano siendo un potencial transmisor de enfermedades zoonóticas. Por cultura de este país, consumen una gran diversidad de animales y son ingeridos vivos por las creencias de que son más nutritivos. Su modo de vivir aumenta la probabilidad de transmisión viral a los humanos, además de otras enfermedades (Fan, Zhao, Shi, & Zhou, 2019).

2.2.2. Coronavirus en roedores

A lo largo de los años, se ha confirmado la presencia de coronavirus en roedores y que estos juegan un papel importante en la evolución del CoV. En el género Beta

coronavirus encontramos el coronavirus Murino, con diferentes serotipos como el de hepatitis viral del ratón y coronavirus de las ratas como el Parker's rat coronavirus (RCV-P) and sialodacrioadenitis virus (RCV-SDA). Estudios infieren que estos son coronavirus altamente mutables, y que, aunque presenten diferencias genéticas, es probable que sean capaces de inducir un espectro similar de enfermedad (Otto, Franklin, & Clifford, 2015)

Entre ratas el coronavirus es altamente contagioso, ya sea mediante contacto directo con ratas infectadas o indirectas por medio de fómites o aerosoles. Los coronavirus tienen una morbilidad alta, y mortalidad muy baja. En las ratas se ha observado que luego de presentar la enfermedad, una semana después ya presentan anticuerpos, pero dicha inmunidad solo dura alrededor de 6 meses dándoles la posibilidad de reinfección, pero las lesiones que se vieron en esas ratas eran menores comparadas con las que se infectaron por primera vez (Otto, Franklin, & Clifford, 2015).

Ambos coronavirus de las ratas, que son la sialodacrioadenitis y Parker's, infectan el tracto respiratorio causando una neumonía intersticial. En la sialodacrioadenitis el coronavirus tiene tropismo por las glándulas salivales, glándulas lagrimales, glándulas harder, y epitelio respiratorio. La infección puede cursar tanto de forma clínica como subclínica. La forma clínica dura menos de dos semanas y se presenta con conjuntivitis edema submaxilar, descargas nasales, oculares, entre otros. A la necropsia se observa rinitis, traqueítis y bronquitis con lesiones en el tracto respiratorio inferior (Otto, Franklin, & Clifford, 2015).

La hepatitis viral del ratón (MHV), también llamado virus letal del ratón lactante, tiene un amplio tropismo entérico, respiratorio, vascular, linfóide, nervioso y hepático.

Este se aisló por primera vez en ratones en 1949, y en 1970 se identificó una variante del MHV en ratas (Colina, Serena, Echeverría, & Metz, 2020). Se han descubierto diferentes cepas, donde las más comunes con síntomas entéricos son MHV-S/CDC, MHV-Y, MHV-RI, y MHV-D. (Masters & Perlman, 2020) Estas cepas enterotrópicas son altamente contagiosas, con mortalidad del 100% en ratones lactantes, teniendo similares características de enteritis por coronavirus entérico neonatal en otras especies, induce una citólisis rápida de los enterocitos. El desarrollo de la enfermedad varía según la edad del ratón, cepa y virulencia (MacLachlan & Dubovi, 2017).

La enfermedad usualmente no es aparente, pero tiende a manifestarse como signos de encefalomiелitis, gastroenteritis, y hepatitis, con una supervivencia reducida al destete. En adultos a menudo es subclínica, y estos pasan la inmunidad a sus crías, sin embargo, este virus muta constantemente por ello se mantiene en la población de ratones. Las lesiones que presentan estos animales son necrosis epitelial, atenuación de las vellosidades y erosión de la mucosa intestinal (Decarola & Lorusso, 2020). Este virus afecta más a ratones lactantes debido a que ellos tardan más en regenerar la mucosa y células dañadas, a diferencia de los adultos donde dicha proliferación se da más rápido. (MacLachlan & Dubovi, 2017).

En China en el año 2013 se realizó un estudio con 1400 roedores, donde identificaron que el 2% de ellos daban positivo para CoV (Wang, y otros, 2015). Por otro lado, se han realizado estudios con ratones, hámsteres y ratas en china, donde se replicó el SARS-COV y se determinó que los roedores más viejos eran los que presentaban los síntomas más graves, y con ellos estudiaron la patogenia de dicho virus. Así mismo en el 2014 se realizó el primer modelo de ratón de infección por MERS donde se evidenciaron síntomas clínicos de neumonía intersticial, infiltración

de células inflamatorias, y edema alveolar leve y engrosado. Por lo tanto, los ratones podrían usarse como modelo animal reproducible para la evaluación de vacunas, inmunoprofilaxis y antivirales y fármacos contra el SRAS-CoV (Song, y otros, 2019).

Esto mismo se confirmó en la investigación realizada por (Gretebeck & Subbarao, 2015) identificaron los signos clínicos, replicación viral y patología del SARS-CoV y MERS-CoV en humanos y varios modelos animales. En los roedores jóvenes no se observaron signos clínicos de la enfermedad, mientras que los mayores desarrollaron la enfermedad generalizada, patología pulmonar pronunciada compatible con neumonía y lesión pulmonar aguda.

Recientemente *Lau, y otros, 2015* han identificado un nuevo Betacoronavirus en *Rattus norvegicus* en Guangzhou China denominado China Rattus coronavirus HKU24 (ChRCoV HKU24). Este CoV pertenece a los Betacoronavirus del linaje A, asemejándose de los Betacoronavirus tipo 1, HCoV HKU1 y Cov murinos. Tomaron 91 muestras alimentarias en roedores en China, de ellas 3 muestras de ratas noruegas de un restaurante. Los tres genomas compartían una similitud de secuencia superior al 99% (Lau, y otros, Discovery of a novel coronavirus, China Rattus coronavirus HKU24, from Norway rats supports the murine origin of Betacoronavirus 1 and has implications for the ancestor of Betacoronavirus lineage A, 2015).

2.2.3. Coronavirus humanos originados en roedores

El HCoV-OC43 y HKU1, del sub genero embecovirus, se originaron a partir de virus asociados a los roedores y son responsables de resfriados comunes en todo el mundo. La mayoría de infecciones por estos coronavirus causan al humano una enfermedad leve en el aparato respiratorio, sin embargo, en huéspedes susceptibles

como a pacientes inmunodeprimidos o lactantes pueden presentar cuadros más graves.

El HCoV-OC43, detectado en 1960 es un betacoronavirus, es una enfermedad zoonótica, cuyo huésped intermediario es el bovino. Se encontró que el HCoV-OC43 tenía tropismo por células neurales in vitro y en ratones infectados experimentalmente, que se asemeja al MHV. Por ello se sugiere que HCoV-OC43 juega un papel en enfermedades neurológicas como la enfermedad desmielinizante crónica y encefalomiелitis aguda (Corman, Muth, Niemeyer, & Drosten).

Estudios realizados por (Butler, Pewe, Kathryn, & Perlman, 2016) mostraron que este coronavirus se adapta fácilmente a la replicación en el cerebro de un roedor, ya que, al inocularlo en el ratón, este tenía un mayor tropismo neurológico desarrollando encefalitis a los 8 días. Luego ese virus fue extraído directamente de cerebros de ratones lactantes causando una infección letal después de la inoculación intranasal de 5 a 8 semanas de edad ratones. El HCoV-OC43 tiene la capacidad para cruzar las barreras de especies, infectar ratones y ganar virulencia en el nuevo huésped. Se cree que esto sucede porque es probable que en el cerebro del roedor se produzca mutaciones en el Proteína S que optimiza la unión y la entrada a las células diana (Butler, Pewe, Kathryn, & Perlman, 2016).

El HKU1 fue descubierto en el 2005, en una persona mayor con neumonía en Hong Kong. Este virus es un taxón hermano del MHV y el virus de la sialodacrioadenitis de rata por ello también se lo asocia como hospedadores primordiales a los roedores (Corman, Muth, Niemeyer, & Drosten). Esta causa infecciones del tracto respiratorio superior incluyendo fiebre, correr secreciones nasales y tos

2.2.4. SARS-COV-2

El 29 de diciembre del 2019 se presentó un brote neumónico en Wuhan, China; identificándose por medio de análisis molecular un nuevo coronavirus, denominado SARS-CoV-2, conocido como Covid-19. Tras un seguimiento de los pacientes, se determinó que el origen de la infección se dio en un mercado de mariscos, donde hay especies silvestres, incluyendo murciélagos de donde se cree que se originó el virus. Por las deficientes medidas de bioseguridad en los mercados, se propició a la transición del virus, entre animales y al hombre. Este es el séptico CoV de origen animal que afecta al humano (Sun, y otros, 2020).

El análisis epidemiológico determino que la transmisión de persona a persona se produce por contacto cercano, directamente por aerosoles, o indirectamente por medio de fómites infectados y posterior contacto con las membranas mucosas orales, nasales y oculares. Los principales síntomas iniciales de COVID-19 incluyen fiebre, tos, dolor muscular y disnea, afectando por lo general más severamente a personas mayores o personas con enfermedades subyacentes, inmunodeprimidos. Para confirmar el diagnóstico de covid-19 se realiza una prueba de PCR a tiempo real, mediante hisopado nasofaríngeo. (Sadeghi, Taati, & Satarzadeh, 2020)

Por el aumento de casos confirmado, el 30 de enero del 2020 la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaro epidemia, habiendo 9.692 casos en China y 90 más en distintos países. El 11 marzo, OMS caracterizo a la enfermedad como una pandemia, el covid-19 se encuentra presente en más de 215 países, con más de 160 millones de personas contagiadas, dejando a más de 3.4 millones de muertos alrededor del mundo (Sun, y otros, 2020).

2.2.5. Taxonomía Roedores

Las especies de roedores sinantrópicos tienen diferentes características físicas y comportamentales, pero al convivir con el ser humano, su alimentación es similar, a base de desechos o invaden propiedades en busca de alimento. El género *Rattus* pertenecen a la familia Muridae del orden rodentia, con alrededor de 56 especies. Dentro de este grupo de encuentran las *Rattus rattus* conocida como la rata negra y la *norvegicus* también llamada rata noruega o de alcantarilla (Otto, Franklin, & Clifford, 2015).

La especie *Rattus rattus* migro desde Asia a Europa y las Américas, un roedor delgado mide de 16 a 22 cm de longitud y su cola es más larga que el cuerpo, con una longitud de 17 a 24 cm, pesan hasta 350gr. Esta tiene ojos grandes y prominentes, el hocico es puntiagudo, las orejas son grandes, amplias. Tienen la capacidad de subir árboles y a partes elevadas de edificaciones. Forman sus nidos en matorrales, árboles, muebles y cielo rasos (MSP, 2012).

Por otro lado, la *Rattus norvegicus* llegó a América desde Europa, también llamada rata gris o de alcantarilla, tiene el cuerpo de mayor tamaño, de entre 17,2 y 27 cm, pero la cola es más corta de la *Rattus rattus*, entre 14,9 y 23 cm, y pesa hasta 500gr. Anatómicamente esta rata tiene los ojos pequeños, hocico redondo y orejas más pequeñas que la *Rattus rattus*. El comportamiento de estas ratas es más agresivo, causan más daños que las otras dos especies siendo de difícil manejo. Por ello se cree que la *R. norvegicus* ha logrado desplazar a la RR de su territorio. Habitan en ecosistemas rurales y urbanos, suele buscar lugares húmedos como las alcantarillas, debajo de edificaciones, zanjas entre otros lugares (Schweinfurth, 2020).

Mientras que al contrario de las otras especies la *Mus musculus* es de mucho menor tamaño, es el ratón común o doméstico, con una longitud de 13 a 20cm y un peso de 30gr, cola en los ratones adultos es alrededor de la mitad de su longitud. Tiene ojos negros pequeño, hocico puntiagudo y alargado, orejas grandes y redondeadas. Esta especie habita en centros urbanos (Jaramillo, 2015).

2.2.6. Presencia de Roedores en Guayaquil

Los roedores se encuentran dispersos en todo el mundo, exceptuando la Antártica. Ecuador es un país con gran variedad de climas con cuatro regiones que son la costa, sierra, oriente y región insular. Guayaquil se encuentra localizada en la costa ecuatoriana, se caracteriza por tener un clima tropical además de altos porcentajes de humedad. Ciudad que en su gran mayoría es llana, situado a 4 m.s.n.m., ambiente ideal para reproducción de roedores. Compuesta por un total de 21 parroquias en su mayoría zonas urbanas, con 16 parroquias, y 5 parroquias rurales (Pacheco & Marlene, 2016).

Los roedores son catalogados como plagas los cuales se encuentran presentes en ciudades de todo el mundo, la carga es especialmente grave en los países en desarrollo y sus barrios marginales urbanos, como lo es Guayaquil (Vásquez, y otros, 2018). Estas áreas tienden a experimentar fuertes infestaciones de ratas debido a que la vivienda inadecuada, mala infraestructura sanitaria, como falta de alcantarillado y agua potable contribuyen a la infestación de estos sectores y aumentar el riesgo de transmisión de patógenos. Se infiere que alrededor de 30 a 50 millones de ratas se reproducen al año en Guayaquil, superando la cantidad de habitantes de la ciudad. Se calcula que por cada habitante en Guayaquil hay de 25 a 30 roedores, por la gran capacidad de reproducción de estos roedores (El Universo, 2015). El municipio de la

ciudad intenta controlar la población de roedores, para que estos no causan daños a la comunidad. Un ejemplo es en el barrio Las Orquídeas donde realizaron limpiezas de un terreno vacío y 3 parques en mal estado que atraían roedores al sector. (El Universo, 2021)

2.2.7. Importancia En La Salud Publica

Las enfermedades zoonóticas, es decir, infecciones transmitidas de animales a personas, es una amenaza actual y creciente para la salud humana. Se estima que más del 75% de las enfermedades infecciosas emergentes son zoonótico. La estrecha relación que tiene el humano con los animales hace que sea más fácil la trasmisión de patógenos entre los mismos. Por ejemplo, un estudio en las regiones de Asia y el Pacífico identifico que enfermedades emergentes tenían 15 veces más probabilidades de surgir de la vida silvestre que son ecológicamente asociados con las personas, incluidas las ratas y los ratones, en comparación con los que no (Rothenburger, 2017).

El coronavirus tiene importancia en la veterinaria debido a que afectan animales domésticos como perros, gatos, vacas, cerdos, y gallinas, infectando las vías respiratorias o el sistema entérico causando elevada morbilidad y mortalidad de estos animales (Dhama, y otros, 2020). Los animales pueden desarrollar estas enfermedades anteriormente mencionadas o actuar como reservorio ayudando a su diseminación, ya sea como hospederos intermedimenarios o huéspedes naturales (Gravinatti, Barbosa, Soares, & Gregori, 2020)

Hasta el momento, se han identificado siete coronavirus en humanos: HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63, HCoV-HKU1, SARS-CoV, MERS-CoV y el SARS-CoV-2. Hasta ahora, siete coronavirus humanos tienen un origen zoonótico (Colina, Serena, Echeverría, & Metz, 2020). Por ello la familia Coronaviridae ha demostrado su

poder evolutivo, pudiendo mutar rápidamente, haciéndose más contagioso y mortal. Estudios realizados por (Cui, Li, & Shi, 2019) han detectado secuencias muy similares a PEDV en murciélagos, y SADS-CoV es un desbordamiento reciente de murciélagos a cerdos. Aunque hoy en día los murciélagos han demostrado ser los mayores reservorios de estos Alpha y Betacoronavirus, los coronavirus como HCoV-OC43 y HCoV-HKU1 originados de roedores evolucionaron afectando a los humanos años atrás (Cui, Li, & Shi, 2019).

Estudios señalan que hay diversas similitudes entre los coronavirus de las ratas y murciélagos, por lo que sugieren que los roedores podrían ser reservorio de estas enfermedades. Los roedores se pueden contaminarse ingiriendo heces de murciélagos, haciéndose portadores de la enfermedad y transmitirla con mayor facilidad al humano y a otros animales. La mayoría de los coronavirus se han identificado en murciélagos de Asia, África y Europa; sin embargo, también se ha informado CoV en murciélagos de países de América del Sur, incluidos Brasil, Trinidad, Costa Rica, Ecuador, Panamá y México (Bittar, y otros, 2019).

Existen algunos factores que contribuyen al establecimiento de poblaciones de roedores sinantrópicos en los medios rurales y urbanos de la ciudad de Guayaquil. Entre dichos factores tenemos la elevada cantidad de desechos orgánicos, poca cantidad de depredadores de estas especies de roedores, edificaciones precarias en mal estado o abandonadas. Estos animales forman partes del ciclo infeccioso de un sinnúmero de enfermedades zoonóticas, actuando como hospederos intermediarios o portando hospederos como los ectoparásitos que son vectores transmisores de patógenos, por ello su importancia en la salud pública (Torres, 2017).

Las especies de roedores sinantrópicas de interés para la salud pública son la *Rattus rattus*, *Rattus norvegicus* y *Mus musculus* (MSP, 2012). Los roedores tienen una gran capacidad de adaptación al entorno en que se encuentren, aumentando su porcentaje de supervivencia, tienen una alta tasa de natalidad con alrededor de 6-14 crías por parto. Su tiempo de gestación es corto, de tan solo 3 semanas, y por hembra al año tiene 5 camadas (Rothenburger, 2017).

Estos animales son considerados como plagas, por ser causantes de pérdidas económicas, ecológicas y productivas, causando problemas a lo largo de los años. Las ratas estropean la comida, arrasan las cosechas, destruyen infraestructura agrícola, lo que contribuye a la inseguridad alimentaria y las pérdidas anuales de alimentos suficientes para alimentar a millones de personas, y representan una importante amenaza para las especies de interés para la conservación (Rothenburger, 2017).

Además, las ratas son portadoras de una variedad de patógenos zoonóticos virales, bacterianos y parasitarios que pueden causar graves enfermedades en las personas. Contaminan al humano por medio directo, cuando la infección se da por mordida o indirectamente por fómites, ingesta de alimentos contaminados por heces u orina de la rata, o inhalando microorganismos de heces fecales (Salas, Beltrán, Carreño, & Soler, 2017). Un claro ejemplo de la magnitud del daño que pueden causar estos animales a la salud humana, es la peste bubónica, anteriormente mencionada, que se mató alrededor de 200 millones de personas en todo el mundo.

2.2.8. Detección de Covid-19 por PCR

La reacción cuantitativa en cadena de la polimerasa (PCR), es una técnica diagnóstica utilizada para el para amplificar y cuantificar el ADN. La prueba de PCR

surgió cuando Gobind Khorana en 1971 describe como replicar un fragmento de ADN a partir de dos iniciadores, sin embargo, fue hasta 1983 donde Kary Mullis y Michael Smith la realizaron por primera vez. Esta técnica copia por catálisis secuencias cortas de ADN diana in vitro, también llamados cebadores, gracias a la enzima llamada ADN polimerasa. Estas secuencias se sintetizan y se copian para ser analizadas según los fines correspondientes. El PCR es usado en el área de la salud y ciencias biológicas, para detectar patógenos como en este caso confirmar la presencia de CoV Alpha o Beta, y de SARS-COV-2. Otros ejemplos de uso de PCR es en la expresión genética, genotificación etc (Singh & Roy, 2016).

Esta técnica se realiza por ciclos, donde cada ciclo se compone de tres pasos que se repiten de 25-35 veces, tardando alrededor de 2-4h. El primer paso consiste en la desnaturalización, donde se calienta a 96°C con el fin de separar las cadenas de ADN, dando a lugar a las cadenas sencillas. El segundo, es el templado, donde se baja la temperatura a 55-65°C para enfriar un poco a los cebadores y que así estos se unan a las secuencias complementarias. El último paso es el de extensión, aquí se calienta a 72°C para que la Taq polimerasa vaya a los cebadores y se formen nuevas cadenas de ADN. Para evaluar el PCR se usa la electroforesis en gel, visualizando un fragmento (Singh & Roy, 2016) .

En el estudio realizado por (Ge, y otros, Detection of alpha- and betacoronaviruses in rodents from Yunnan, China, 2017) JAJAKA para ver Alpha y betacoronavirus en 177 ratas realizaron una extracción de ARN viral, se homogeneizaron 50 mg de muestras de tejido intestinal utilizando 1 ml de PBS, centrifugaron y se extrajo el sobrenadante de 140 µl utilizando el mini kit de ARN viral QIAamp, utilizando primers o cebadores CytBF (5'-ATGATATGAAAACCATCGTTG-

3') y CytBR (5'-TTTCCNTTTCTGGTTTACAAGAC-3'). Se detectaron Alphacoronavirus y Betacoronavirus en 23 muestras de roedores.

Lau, y otros, 2015 identificaron la presencia del Betacoronavirus HKU24 en ratas noruegas, a partir de pruebas de PCR. Ellos amplificaron un fragmento de 440 pb del gen de la ARN polimerasa dependiente de ARN de CoVs usando cebadores conservados (5'-GGTTGGGACTATCCTAAGTGTGA-3' y 5'-CCATCATCAGATAGAATCATCATA-3'). Los resultados del estudio mostraron que una rata noruega y dos ratas domésticas orientales de China, estaban infectadas por ChRCoV HKU24.

2.3. Marco legal

En el Artículo 1 establecido por la Ley Orgánica de Sanidad Agropecuaria, se detalla que se pueden utilizar medidas para prevenir el asentamiento de plagas y enfermedades que presenten un riesgo a otras especies de animales o plantas, siempre teniendo en cuenta el bienestar animal. Además, en el Artículo 3 se señalan los principios de aplicación de esta Ley, indicando que se pueden tomar medidas que precautelen la salud de los humanos, animales y plantas a través de medidas de prevención.

Detalla que se deben desarrollar programas de vigilancia epidemiológica zoonosaria para el control de enfermedades, según el Artículo 10. Se señala que se debería elaborar un catálogo sobre las plagas y enfermedades en animales según el Artículo 13, por ello uno de los objetivos de esta investigación es identificar taxonómicamente a los roedores de la ciudad de Guayaquil. Así también indican que se permite inspeccionar, examinar y tomar muestras de animales que puedan ser

trasmisores de enfermedades establecido por el Artículo 16. (Ley Organica de Sanidad Agropecuaria, 2017)

3. Materiales y métodos

3.1. Enfoque de la investigación

3.1.1. Tipo de investigación

Se trató de un estudio transversal donde se colectaron y analizaron los datos correspondientes. También se adjuntaron datos cualitativos en relación a la muestra que obtuvimos. Además, esta investigación tuvo un alcance exploratorio debido a que el problema ha sido poco estudiado, donde se tomó por primera ocasión en el Ecuador muestras de roedores para determinación de CoV.

3.1.2. Lugar de estudio

Las capturas de los roedores fueron a conveniencia en 3 sectores de la ciudad, en el centro, sur y en el norte. Posteriormente, con la colaboración del Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI) se realizó la toma de muestra y procesamientos de las mismas en sus laboratorios.

3.1.3. Diseño de investigación

Es un estudio trasversal descriptivo no experimental, debido a que no tiene control sobre las variables establecidas. Se levantó información a partir de la toma de muestras de roedores sinantrópicos de la ciudad de Guayaquil, para poder determinar la presencia de Alpha y Betacoronavirus. Además, se clasificaron taxonómicamente, para establecer las especies de roedores en Guayaquil.

3.2. Metodología

3.2.1. Variable

3.2.2. Variable Dependiente

Variable	Definición	Dimensión	Indicador	Escala	Tipo
Prueba RT-PCR	Técnica diagnóstica utilizada para la identificación de coronavirus	SARS-CoV-2	Presencia o ausencia del virus por Ct	Nominal	Cuantitativa
Prueba PCR punto final	Técnica diagnóstica utilizada para la identificación de coronavirus	Pancoronavirus, Alphacoronavirus y Betacoronavirus	Presencia o ausencia del virus amplificación sobre los 400bp	Nominal	Cuantitativa

3.2.1.2 Variable Independiente

Variable	Definición	Dimensión	Indicador	Escala	Tipo
Lugar de captura	Se refiere a la posición geográfica en donde capturo al roedor	Parque, calle, domicilio, mercado, entre otros.	Cantidad de roedores capturados	Nominal	Cualitativa

Ubicación geográfica	La zona en donde se hizo la captura del roedor	Norte, sur, centro	Cantidad de roedores capturados	Nominal	Cualitativa
Especie	Clasificación taxonómica del roedor	<i>Rattus rattus</i> , <i>R. norvegicus</i> y <i>Mus musculus</i>	Número de roedores por especie	Nominal	Cualitativa
Longitud de la cola	Medición de la cola del roedor	Cola	Cantidad de roedores capturados	Continuas	Cuantitativa
Longitud del cuerpo	Medición de la cuerpo del roedor	Cuerpo	Cantidad de roedores capturados	Continuas	Cuantitativa
Longitud de la oreja	Medición de la oreja del roedor	Oreja	Cantidad de roedores capturados	Continuas	Cuantitativa
Color	Determinación del color	Gris, marrón, negruzco	Cantidad de roedores capturados	Nominal	Cualitativa
Peso	Peso en gramos de los roedores	Peso (gramos)	Cantidad de roedores capturados	Continuas	Cuantitativa
Sexo	Se refiere al género del roedor	Macho - Hembra	Porcentaje de roedores machos o hembras	Nominal	Cualitativa

3.2.2. Universo y tamaño de la muestra

Estudios establecen que Guayaquil tiene una población total de más 50 millones de ratas (El Universo, 2015). Por ello, se colocaron 10 trampas de ratas en 3 sectores de Guayaquil, norte, centro y sur, dando un total de 30 trampas. Dichas trampas se las mantuvo durante 45 días. A pesar de saber el número de roedores en Guayaquil esta población es considerada infinita ya que es mayor a 10000. Calculando un margen de precisión del 9%, según la formula descrita por Aguilar, 2005 da un total de 119 roedores como tamaño de muestra.

$$n = \frac{Z^2 \times p \times q}{d^2}$$

$$n = \frac{(1,96^2 \times 0,5 \times 0,5)}{0,09^2} = 119 \text{ muestras}$$

$$Z = 1.96 \quad p = 0,5 \quad q = 0,5 \quad d = 0,09$$

3.2.3. Recolección de datos

La información sobre los roedores capturados se recolecto para elaborar una base de datos.

3.2.4. Recursos

Materiales bibliográficos

Artículos de revistas científicas, libros, tesis, sitios web.

Materiales clínicos

Equipo de protección personal que consta de bata quirúrgica, guantes de nitrilo, mascarilla KN95, cofia, zapatones, algodón, marcadores, cinta de papel.

Materiales y equipos de laboratorio

Material de laboratorio: Pipeta automática, tubo eppendorf de 15ml y 2ml, centrifuga, congelador < 80, pipetas 1000 µl, puntas para pipeta, alcohol, cloro, papel, morteros, esterilizador, vortex, cloroformo y cabina de flujo laminar.

Medios de transporte y reactivo: tubo tapa roja sin reactivo, tampón fosfato salino (PBS), y Kit RT-PCR para detección Coronavirus

3.2.5. Métodos y técnicas

Obtención de medidas: una vez capturados los roedores se los sedo con cloroformo para proceder a identificar medidas como la longitud de la cola, cuerpo y orejas, además del peso, color, sexo y especie de roedor.

Metodología laboratorio: La detección de Pan-CoV, refiriéndonos a Alfa y Beta-coronavirus, se realizó a través de la amplificación por PCR punto final con primers Forward: 5'-GGKTGGGAYTAYCCKAARTG-3' y Reverse: 5'-TGYTGTSWRCARAAAYTCRTG-3', y para la segunda PCR anidada se usaron los primers Forward: 5'-GGTTGGGACTATCCTAAGTGTGA-3' y Reverse: 5'-CCATCATCAGATAGAATCATCAT-3' (D.K., y otros, 2011). La identificación las muestras fue a partir de amplicones en gel de agarosa de 1.5% por electroforesis, considerándose positivos cuando amplifiquen más de 400bp. Para SARS-CoV-2 se realizó el diagnostico con la prueba de Reacción de Cadena de la Polimerasa en

tiempo real “RT PCR”, que es una técnica diagnóstica utilizada para amplificar y cuantificar el ADN por medio de Primers y sondas de gen N1, N2 y RNasaP.

Los roedores fueron recolectados y sedados con cloroformo, con el fin de evitar el sufrimiento del animal. Luego se lo peso y se realizó la necropsia. Para la extracción de ARN viral se tomaron muestras de tráquea, pulmones, intestinos y riñones. Esta muestra fue colocada en un tubo eppendorf de 15ml con 3ml de tapón fosfato salino (PBS) al 10%, esta solución contiene cloruro sódico, fosfato sódico, cloruro de potasio y fosfato de potasio. Esta solución es utilizada para mantener las células en condiciones fisiológicas durante un periodo corto de tiempo.

Luego de la toma de muestra procedió a procesarla, este procedimiento se realizó dentro de una cabina de flujo laminar, donde se las centrifugo, se las coloco en un mortero y se maceraron todos los órganos para luego extraer el líquido con una pipeta de 1000 ul y se los coloco en 2 tubos eppendorf de 2ml. Esta cabina tuvo como función proporcionar aire limpio en el área de trabajo donde se procesen las muestras. Luego las muestras se las colocaron en un congelador a menos 80 grados centígrados hasta que fueron utilizadas para la posterior detección del virus por RT-PCR. A partir de las muestras extraídas de ARN se procedió a someterlas por RT-qPCR para la detección de SARS-CoV2 utilizando los kits comerciales certificados autorizados para uso de emergencia de la FDA 2019-nCoV Nucleic Acid Diagnostic Kit (Sansure Biotech, China), que incluye dos dianas de genes virales: N y ORF1ab. Las reacciones de RT-qPCR se realizaron siguiendo las instrucciones del fabricante.

Para evitar la contaminación de las muestras y para nuestra propia bioseguridad, se establecieron protocolos de higiene y protección. Al realizar la necropsia se debía tener la indumentaria adecuada que consiste en mandil quirúrgico descartable,

maskarilla NK95, guantes, cofias y zapatones. Además, antes de comenzar la necropsia se desinfectaba el área con yodo y alcohol. Posterior a la necropsia se desechaban todos los restos biológicos y la indumentaria contaminada en fundas rojas y se realizaba la correcta desinfección del área donde se realizó el procedimiento.

3.2.6. Análisis estadístico

Luego de la recolección de datos de los roedores y los resultados de las pruebas de RT-PCR se determinó presencia de Alphacoronavirus y Betacoronavirus en las muestras y se representó mediante técnicas estadísticas como medidas de tendencia central, dispersión, tablas de frecuencia y gráficos de pasteles/barras de Excel.

4. Resultados

4.1. Identificación taxonómica las especies de roedores sinantrópicos que circulan en la ciudad de Guayaquil

En este estudio se capturaron 119 roedores sinantrópicos de la ciudad de Guayaquil, a estos animales se los identificó de acuerdo a sus características para determinar las especies de roedores que se encontraron. En la tabla 1 se puede observar que la especie capturada con mayor porcentaje fueron las *Rattus rattus* con un 51.26% (61/119), seguido de las *Rattus norvegicus* con 42.86% (51/119), mientras que las *Mus musculus* fueron la minoría con 5.88% (7/119).

Tabla 1. Especies de roedores sinantrópicos capturados

Especies	Frec. Absoluta	Frec. Relativa (%)
<i>Rattus norvegicus</i>	51	42.86 %
<i>Rattus rattus</i>	61	51.26 %
<i>Mus musculus.</i>	7	5.88 %
Total	119	100 %

Mera, 2022

Del total de roedores capturados se identificó la cantidad de hembras y machos que se obtuvieron en el trabajo de campo. Como se observa en la tabla 2 los machos fueron capturados en mayor cantidad con un 54.62% (65/119) mientras que el 45.38% (54/119) eran hembras.

Tabla 2. Frecuencia de Sexo de los roedores sinantrópicos

Sexo	Frec. Absoluta	Frec. Relativa (%)
Machos	65	54.62 %
Hembras	54	45.38 %
Total	119	100 %

Mera, 2022

Se obtuvieron valores de tendencia central del peso en gramos, longitud del cuerpo, longitud de cola y longitud de orejas en centímetros de cada uno de los roedores por especies. En la tabla 3 se muestra que la media de los pesos de los roedores correspondiente a la especie de *Mus musculus* estuvo en 27.75 g, el peso mínimo fue de 4.3 g, el máximo de 25 g, la varianza de 7.18 y la desviación estándar de 26.8 g. De igual manera en el largo del cuerpo la media fue de 9 cm, la mediana de 10 cm, la mínima tuvo 5 cm y máximo de 14 cm, el que más se repitió fue de 5 cm. En la longitud de la cola la media estuvo en 10.4 cm, la mediana en 11 cm, el mínimo en 5 cm, el máximo en 22 cm, la moda fue 5 cm, la varianza de 32.1 y la desviación estándar de 5.7 cm. Por último, la longitud de las orejas se determinó que la media y mediana es de 1 cm, el valor mínimo fue de 0.5 cm, el máximo de 2.5 cm, la moda fue de 1 cm, la varianza de 0.4 y la desviación estándar de 0.7 cm. De igual forma se puede observar en la tabla 4 y 5 los valores de tendencia central de *Rattus norvegicus* y *Rattus rattus* respectivamente.

Tabla 3. Valores de tendencia central de Mus musculus

Variable	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	Moda	Varianza	Desviación Estándar
Peso (g)	27,75	25	4,33	85	#N/A	718,4	26,8
Largo del cuerpo (cm)	9,00	10	5	14	5	14,3	3,8
Largo de cola (cm)	10,14	11	5	22	5	32,1	5,7
Largo de orejas (cm)	1,00	1	0,5	2,5	1	0,4	0,7

Tabla 4. Valores de tendencia central de Rattus norvegicus

Variable	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	Moda	Varianza	Desviación Estándar
Peso (g)	146,25	143	33	380	300	6853,6	82,8
Largo del cuerpo (cm)	18,47	18	11	45	20	40,2	6,3
Largo de cola (cm)	14,87	15,5	5	23	10	15,2	3,9
Largo de orejas (cm)	1,47	1,5	1	2,5	1,5	0,2	0,4

Tabla 5. Valores de tendencia central de Rattus Rattus

Variable	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	Moda	Varianza	Desviación Estándar
Peso (g)	130,80	130,6	12	380	150	3543,7	59,5
Largo del cuerpo (cm)	16,45	17	8	24	18	12,1	3,5
Largo de cola (cm)	17,96	19	8,6	23	19	11,2	3,3
Largo de orejas (cm)	1,83	2	0,8	2,7	2	0,2	0,4

Mera, 2022

Así mismo se determinó el color de los roedores por categorías donde presentaban café oscuro en la parte del dorso y color blanca-amarillenta en la parte ventral (CO/B), café claro en la parte del dorso y color blanco en la parte ventral (CC/B), o totalmente gris (G). En la tabla 6 se puede observar que el color más habitual en los roedores fue el CC/B con un 51.26% (61/119), seguido de CO/B con 42.86% (51/119), mientras que el G solo obtuvo un 5.88% (7/119).

Tabla 6. Frecuencia de Color de los roedores sinantrópicos

Color	Frec. Absoluta	Frec. Relativa (%)
CO/B	51	42.86 %
CC/B	61	51.26 %
G	7	5.88 %

Total	119	100 %
--------------	------------	--------------

Mera, 2022

La captura de los roedores se dio en torno a la ciudad de Guayaquil, en alrededor de 20 sectores distintos, con el fin de obtener muestras de distintas zonas. Se recolectaron roedores de 8 lugares del Sur, 7 lugares del Norte y 5 del centro, en los que hubo más prevalencia captura de roedores fueron Bastión Popular con 25.2% (30), El Guasmo con 10% (12), Suburbio y El Fortín con 7.6% (9) y Los Sauces con 5.9% (7).

Tabla 7. Ubicación de la captura de los roedores sinantrópicos

Sector	Ubicación de Captura	Número de Roedores Capturados	Frec. Relativa (%)
Sur	Suburbio	9	7,6
Norte	Mapasingue	5	4,2
Norte	El Fortín	9	7,6
Sur	Trinitaria	4	3,4
Sur	Guasmo	12	10,1
Norte	Bastión Popular	30	25,2
Centro	La Bahía	2	1,7
Sur	La Pradera	3	2,5
Sur	Portete	1	0,8
Centro	Pedro Carbo	4	3,4
Norte	Sauces	7	5,9
Centro	La Ferroviaria	3	2,5
Sur	La Floresta	5	4,2
Norte	Samanes	5	4,2

Norte	La FAE	5	4,2
Sur	Avenida 25 De Julio	4	3,4
Centro	9 de Octubre	5	4,2
Norte	Juan Montalvo	2	1,7
Centro	Urdaneta	3	2,5
Sur	El Centenario	1	0,8
Total		119	100%

Mera, 2022

En cuanto al lugar de captura, se determinaron 4 específicamente, que fueron casa (intradomiciliaria), calle (lugar abierto), mercado y parques. De los cuales el mayor porcentaje de captura se dio intradomiciliaria con 75,4%, seguido de en calles con 21.8%, el parque y el mercado con 5% y 1.7% respectivamente.

Tabla 8. Lugar de la captura de los roedores sinantrópicos

Lugar de Captura	Número de Roedores Capturados	Frec. Relativa
Calle	26	21,8
Casa	85	71,4
Parque	6	5,0
Mercado	2	1,7
Total	119	100%

Mera, 2022

4.2. Presencia de SARS-Cov-2 en roedores a Guayaquil

De las 119 muestras, se detectó SARS-CoV2 en el 1.7% (2), la SC-045 y SC-084, dando positivas al gen N1 con CT de 39.41 y 35.42 respectivamente. La SC-045 era una *Rattus rattus*, macho, que fue atrapada en una zona abierta en el Sur en la avenida 25 de julio a las afueras del Mall del Sur de la ciudad de Guayaquil, mientras que la SC-084 fue una *Rattus norvegicus*, hembra que fue capturada en área intradomiciliaria en el Norte en Los Sauces.

Tabla 9. Identificación de roedores positivos a SARS-CoV-2

Especie	Sexo	Color	Peso	Ubicación	Localización	CT N1
RR	Macho	CO/B	120	Lugar Abierto	Av. 25 de Julio	39,41
RN	Hembra	CC/B	90	Intradomiciliaria	Sauces	35,42

RR: *Rattus rattus*; RN: *Rattus norvegicus*

Mera, 2022

4.3. Presencia de los géneros Alfa y Betacoronavirus en roedores

Para la detección de Alpha y betacoronavirus se utilizaron primers de Pancoronavirus, y la identificación se estas muestras se dieron a partir de amplicones en gel de agarosa de 1.5% por electroforesis, considerándose positivos cuando se observaban amplicones de más de 400bp. De todas las muestras analizadas el 12.6% (15/119) fueron positivas a PCR punto final, de las cuales *Mus musculus* (1/7), *Rattus rattus* (7/61), y *Rattus norvegicus* (7/57), con 7 hembras y 8 machos positivos. El lugar de donde procedían más roedores positivos fue el área de El Fortín, que obtuvo el 20%

(3/15), seguido de 9 de Octubre y Los Sauces con 13.3% (2/15) cada uno, el resto de sectores obtuvieron solo el 6.7% (1/15). Además, la mayoría de positivos se habían capturado de forma intradomiciliaria, con el 53.3% (8/15), y el resto fueron capturados en lugares abiertos como calles. Del total de roedores positivos a Pancoronavirus, el 46.6% pertenecían a lugares del Norte, mientras que el centro y el sur tuvieron el 26.6% cada uno.

Tabla 10. Número de muestras positivas a Pancoronavirus (Género Alfa y Beta coronavirus)

Muestras	Frec. Absoluta	Frec. Relativa
<i>Positivas</i>	15	12.6 %
<i>Negativas</i>	104	87.4 %
Total	119	100 %

Tabla 11. Roedores positivos a Pancoronavirus (Género Alfa y Beta coronavirus)

Ubicación	Sector	Localización	Especie	Sexo
Casa	Norte	El Fortín	MM	Macho
Casa	Norte	El Fortín	RN	Hembra
Calle	Norte	Los Sauces	RN	Macho
Casa	Norte	El Fortín	RR	Macho
Calle	Norte	Los Sauces	RN	Hembra

Casa	Centro	Pedro Carbo	RR	Hembra
Calle	Sur	Suburbio	RR	Macho
Calle	Centro	La Ferroviaria	RR	Hembra
Casa	Norte	Samanes	RR	Hembra
Calle	Sur	Av 25 de Julio	RR	Macho
Casa	Sur	Guasmo	RN	Macho
Calle	Sur	La Pradera	RR	Macho
Calle	Centro	9 de octubre	RN	Macho
Casa	Norte	Bastión Popular	RN	Hembra
Casa	Centro	9 de octubre	RN	Hembra

MM: *Mus musculus*; RR: *Rattus rattus*; RN: *Rattus norvegicus*

Mera, 2022

5. Discusión

En este estudio se capturaron 119 roedores sinantrópicos de la ciudad de Guayaquil, las especies de roedores que se encontraron fueron *Rattus rattus* con un 51.26% (61/119), seguido de las *Rattus norvegicus* con 42.86% (51/119), mientras que las *Mus musculus* fueron la minoría con 5.88% (7/119). Sin embargo, Solórzano, Sánchez, Sánchez, & Pizarro 2021, realizaron capturas de 211 ratas en cinco provincias del Ecuador de las cuales el 90.5% eran *Rattus norvegicus* y el 9.5% eran *Rattus rattus*, siendo porcentajes muy diferente al obtenido en nuestro estudio. La diferencia de porcentaje de cada especie que encontraron se la podemos atribuir a que, en el estudio de Solórzano, Sánchez, Sánchez, & Pizarro 2021, recolectaron roedores de áreas urbanas y rurales de 5 provincias como lo son Guayas, Santa Elena, Los Ríos, Napo y Cañar, siendo zonas con topografía y demografía totalmente distintas, a diferencia de nosotros que nos mantuvimos más en áreas urbanas de la ciudad de Guayaquil.

Esta es la primera investigación que busca identificar la presencia de SARS-CoV-2 en roedores sinantrópicos, para evaluar la exposición que tuvieron al virus. Los resultados de esta investigación difieren con el estudio realizado en Bélgica por Colombo, y otros, 2021, que realizaron RT-PCR para detectar SARS-CoV-2 a partir de hisopados orales, heces y tejidos de *Rattus norvegicus*, pero todas las ratas dieron negativo. Sin embargo, en este estudio, se detectó SARS-CoV-2 en el 1.7% (2/119) de los roedores analizados, concluyendo que los roedores de Guayaquil sí estuvieron expuestos al virus siendo capaces de contraer el mismo. A pesar de haber replicado en el gen N1, los valores de Ct fueron de 39.41 y 35.42, estos valores altos de Ct lo que nos podría indicar que el sistema inmune de estos animales infectados no está dejando que se replique el

virus, a diferencia de como lo hace con facilidad en las personas, por ende, se puede determinar que los roedores tenían cargas virales mínimas por lo que no pueden contaminar a otros animales. Podemos inferir que, debido a los malos hábitos de los habitantes de la ciudad, como lo es botar la basura a la calle, dejar restos de alimentos expuestos a roedores y a la gran cantidad de infectados que presento Guayaquil favoreció a la exposición y contagio de SARS-CoV-2 a ciertos roedores de la ciudad.

De igual forma, ya se ha demostrado en otros países la presencia de coronavirus en roedores a partir de la técnica de PCR, como Ge, y otros, 2017, que realizaron una investigación con 177 muestras intestinales en 3 especies de roedores en China, de los cuales el 13% (23/117) dieron positivo para Alphacoronavirus y betacoronavirus *Apodemus chevrieri* (21/98), *Eothenomys fidelis* (1/62), and *Apodemus illex* (1/17). Nuestra investigación obtuvo porcentajes similares ya que en Guayaquil se identificó que el 12.6% (15/119) roedores dieron positivo *Mus musculus* (1/7), *Rattus rattus* (7/61), *Rattus norvegicus* (7/57) a Pancoronavirus indicando la presencia de algún Alphacoronavirus o betacoronavirus. Los dos estudios tuvieron una metodología muy similar excepto que ellos solo recolectaron intestinos, pero en este estudio las muestras eran a partir de traque, pulmón, intestino y riñones, para así tener más confiabilidad de en qué órgano diana podría encontrarse el virus. En ambos estudios se realizó PCR punto final indicando positivo cuando amplificaba sobre los 400bp.

Se evidenció lo mismo en el estudio de Monastiri, y otros, 2021, donde analizaron 260 muestras de roedores del genero *Mus musculus*, *Rattus rattus* y *Rattus norvegicus* en las Islas Canarias para la identificación de pan-coronavirus. Ellos obtuvieron 21 (8.07%) roedores *Mus musculus* positivos a coronavirus, sin embargo, observaron que

de ninguna *Rattus rattus* o *Rattus norvegicus* se pudo obtener ARN de coronavirus. No obstante, en nuestra investigación paso lo contrario puesto que la mayoría de muestras positivas provenían de *Rattus rattus* (7/61), y *Rattus norvegicus* (7/57), y solo se encontró en un *Mus musculus* el ARN de coronavirus. Esto podría deberse a que en la ciudad de Guayaquil existe una mayor cantidad de *Rattus rattus* y *Rattus norvegicus*, estos roedores se han adaptado mucho al entorno que les hemos ofrecido, por lo que están mucho más en cercano con el ser humano contribuyendo a su contagio, a diferencia del otro estudio donde solo lograron capturar 1 *Rattus norvegicus*.

Otra investigación realizada por Tsoleridis, y otros, 2015, recolectaron 813 muestras de roedores en un periodo 7 años, áreas rurales y urbanas, ellos demostraron la presencia de CoV en 5 *Rattus norvegicus* del Reino unido a partir de la técnica de PCR. Luego realizaron un análisis filogenético donde se determinó que los CoV provenían del genero Alphacoronavirus. Sin embargo, en nuestro estudio se obtuvo un mayor porcentaje de positivo a CoV, esto nuevamente se puede deber a la alta cantidad de roedores que existen en la ciudad, al alto grado de acercamiento que presentan con el humano aumentando las probabilidades de co-infecciones entre roedores y del humano al roedor. Con estos estudios se ha comprobado que los roedores son portadores de distintos géneros de coronavirus, Alpha y betacoronavirus, y que inclusive hoy en día se pueden contaminar el SARS-CoV-2.

6. Conclusiones

Se determinó que la mayoría de especies de roedores sinantrópicos fueron las *Rattus rattus* con un 51.26% (61/119), seguido de las *Rattus norvegicus* con 42.86% (51/119), mientras que las *Mus musculus* fueron la minoría con 5.88% (7/119). Por otro lado se observó que en Guayaquil, Ecuador si existe prevalencia del 1.7% de las muestras positivas para SARS-CoV-2. Esto se podría atribuir a que el país tiene un hábitat idóneo para roedores y una alta tasa de contagio de coronavirus entre personas causo que se dé un salto de barreras entre especies y que el coronavirus pudiera ser hallado en los roedores de la ciudad, sin embargo, los valores de Ct fueron altos por lo que se determina que el roedor no puede infectar a otros animales o al humano. Además, se confirmó que los roedores no solo son portadores de SARS-CoV-2, sino que también que el 12.6% (15/119) roedores dieron positivo a Pancoronavirus indicando que presentan algún género tanto Alpha como Beta coronavirus.

7. Recomendaciones

Hoy en día existen muy pocas investigaciones sobre este tema, por lo que el país debe seguir realizando estudios para conocer el género específico que porta cada roedor que salió positivo a Pancoronavirus. Además, debido a que se confirmó que si existe un contagio de SARS-CoV-2 a roedores se recomienda seguir investigaciones tanto en Guayaquil como en otras ciudades del país para determinar las nuevas cepas de SARS-CoV-2 podrían aumentar o disminuir la incidencia de contagio a roedores. De igual forma el país debería realizar estudios con otras especies, para conocer mejor que animales pueden ser portadores de SARS-CoV-2. Además, se sugiere efectuar estudios taxonómicos de roedores en otras ciudades del país para conocer mejor su distribución.

8. Bibliografía

- Aguilar, S. (2005). *Fórmulas para el cálculo de la muestra en investigaciones de salud*. Estado de Tabasco: Red de Revistas Científicas de América Latina. Obtenido de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=48711206>
- Ashour, H., Elkhatib, W., Rahman, M., & Elshabrawy, H. (2020). Insights into the Recent 2019 Novel Coronavirus (SARS-CoV-2) in Light of Past Human Coronavirus Outbreaks. *Pathogens*, 9(186), 1-15. doi:10.3390/pathogens9030186
- Bittar, C., Machado, R., Comelis, M., Bueno, L., Beguelini, M., Morielle-Versute, E., & Rahal, P. (2019). *Alphacoronavirus Detection in Lungs, Liver, and Intestines of Bats from Brazil*. *Microbial Ecology*. doi:<https://doi.org/10.1007/s00248-019-01391-x>
- Butler, N., Pewe, L., K. T., & Perlman, S. (2016). Murine encephalitis caused by HCoV-OC43, a human coronavirus with broad species specificity, is partly immune-mediated. *Virology*, 410-421. doi:10.1016/j.virol.2005.11.044
- Colina, S., Serena, M., Echeverría, M., & Metz, G. (11 de Septiembre de 2020). Clinical and molecular aspects of veterinary coronaviruses. *Virus Research*. doi:<https://doi.org/10.1016/j.virusres.2021.198382>
- Colombo, V. C., Sluydts, V., Mariën, J., Broecke, B. V., Houtte, N. V., Leirs, W., . . . Delputte, P. (2021). *SARS-CoV-2 surveillance in Norway rats (Rattus norvegicus) from Antwerp sewer system, Belgium*. Belgica: Wiley. doi:10.1111/tbed.14219

Corman, V., Muth, D., Niemeyer, D., & Drosten, C. (s.f.). Hosts and Sources of Endemic Human Coronaviruses. En V. Corman, D. Muth, D. Niemeyer, & C. Drosten, *Advances in Virus Research* (págs. 163-188).

doi:<https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2018.01.001>

Cui, J., Li, F., & Shi, Z.-L. (2019). Origin and evolution of pathogenic coronaviruses.

Nature Reviews | Microbiology, 17(3), 181-192. doi:10.1038/s41579-018-0118-9

D.K., C., C.Y., L., M., G., P.H., J., E.M., N., T.M., T., . . . L.L., P. (2011). Avian coronavirus in wild aquatic birds. *J. Virol.* doi:10.1128/JVI.05838-11

Decarao, N., & Lorusso, A. (2020). Novel human coronavirus (SARS-CoV-2): A lesson from animal coronaviruses. *Veterinary Microbiology*, 244.

doi:<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108693>.

Dhama, K., Patel, S., Sharun, K., Pathak, M., Tiwari, R., Yatoo, M., & Singh, K. (2020). SARS-CoV-2 jumping the species barrier: Zoonotic lessons from SARS, MERS and recent advances to combat this pandemic virus. *Elsevier*.

doi:<https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2020.101830>

El Universo. (25 de agosto de 2015). 50 millones de ratas se reproducen al año en Guayaquil. *El Universo*. Obtenido de

<https://www.eluniverso.com/noticias/2015/08/28/nota/5088848/50-millones-ratas-se-reproducen-ano/>

El Universo. (5 de marzo de 2021). Con limpieza de solar baldío y de tres parques, moradores de Las Orquídeas esperan que desaparezcan roedores. *El Universo*.

Obtenido de <https://www.eluniverso.com/guayaquil/comunidad/con-limpieza-de->

solar-baldio-y-de-tres-parques-moradores-de-las-orquideas-esperan-que-desaparezcan-roedores-nota/

Estrada, Z. (2020). *Diagnostico de la Meningitis Eosinofilica por Angiostrongylus en la atencion primaria*. Machala: Universidad Tecnica de Machala. Obtenido de http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/15241/1/E-11481_ESTRADA%20BERRU%20ZOILA%20LUCIA.pdf

Fan, Y., Zhao, K., Shi, Z.-L., & Zhou, P. (2019). Bat Coronaviruses in China. *Viruses*, 11(3). doi:<https://doi.org/10.3390/v11030210>

Fariñas, M., Medina, R., Godoy, M., Rodriguez, E., & Robainas, I. (2019). Meningoencefalitis Eosinofilica. *Revista Médica Electrónica*, 31(4).

Fehr, A., & Perlman, S. (2015). Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol Biol*, 1282(1), 1-23. doi:10.1007/978-1-4939-2438-7_1

Ge, X.-Y., Yang, W.-H., Zhou, J.-H., Li, B., Zhang, W., Shi, Z.-L., & Zhang, Y.-Z. (26 de mayo de 2017). Detection of alpha- and betacoronaviruses in rodents from Yunnan, China. *Virology Journal volume*. doi:<https://doi.org/10.1186/s12985-017-0766-9>

Gravinatti, M., Barbosa, C., Soares, R., & Gregori, F. (2020). Synanthropic rodents as virus reservoirs and transmitters. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 53, 1-11. doi:<https://doi.org/10.1590/0037-8682-0486-2019>

- Gretebeck, L., & Subbarao, K. (2015). Animal models for SARS and MERS coronaviruses. *Current Opinion in Virology*, 13, 123-129.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.coviro.2015.06.009>
- Haake, C., Cook, S., Pusterla, N., & Murphy, B. (2020). Coronavirus Infections in Companion Animals: Virology, Epidemiology, Clinical and Pathologic Features. *Viruses*, 1-22. doi:<https://doi.org/10.3390/v12091023>
- Jaramillo, E. Y. (2015). Chapter 42 - Rodentia. En Enrique Yarto-Jaramillo, *Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine, Volume 8* (págs. 384-422).
doi:<https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-7397-8.00042-6>
- Kasmi, Y., Khataby, K., Souiri, A., & Ennaji, M. (2020). *Emerging and Reemerging Viral Pathogens*. Science Direct. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819400-3.00007-7>
- Lau, S., Woo, P., Li, K., Tsang, A., Fan, R., Luk, H. K., . . . Yuen, K.-Y. (1 de enero de 2015). Discovery of a novel coronavirus, China Rattus coronavirus HKU24, from Norway rats supports the murine origin of Betacoronavirus 1 and has implications for the ancestor of Betacoronavirus lineage A. *JVI*, págs. 3076-3092.
doi:[doi:10.1128/JVI.02420-14](https://doi.org/10.1128/JVI.02420-14)
- Ley Organica de Sanidad Agropecuaria. (2017). *Registro Oficial N° 27 – Segundo Suplemento Ley Organica de Sanidad Animal*. Ecuador. Obtenido de <http://www.pudeleco.com/files/a17027i.pdf>

Machado, J. (27 de Febrero de 2020). El coronavirus es menos letal que la influenza, el MERS y el SARS. *Primicias*. Obtenido de

<https://www.primicias.ec/noticias/sociedad/coronavirus-sars-mers-muertes/>

MacLachlan, J., & Dubovi, E. J. (2017). Chapter 24 - Coronaviridae. En J. MacLachlan, & E. J. Dubovi, *Fenner's Veterinary Virology* (págs. 435-461). Science Direct.

doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800946-8.00024-6>

Masters, P., & Perlman, S. (2020). Coronaviridae. En *Fields Virology* (págs. 825-858).

Umass Medical School. Obtenido de

https://www.umassmed.edu/globalassets/ambros-lab/meetings/rna-biology-club-2019_20/masters-and-perlman-2013-in-fields-virology_1.pdf

Monastiri, A., Martín, N., Foronda, P., Izquierdo, E., Feliu, C., López-Roig, M., . . . Serra, J. (2021). First Coronavirus Active Survey in Rodents From the Canary Islands.

Front. Vet. Sci. doi:<https://doi.org/10.3389/fvets.2021.708079>

MSP. (2012). *Manual para el Control Integral de Roedores*. Organizacon Panamericana de Salud. Obtenido de

<https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/SA/manual-integral-de-roedores.pdf>

Organizacion Panamericana de la Salud. (2020). *Centro Panamericano de Fiebre*

Aftosa y Salud Pública Veterinaria (PANAFTOSA). Obtenido de Protocolos para la vigilancia y control de roedores sinantrópicos:

<http://www.panaftosa.org/roedores/index.php/sitios-de-interes>

- Otto, G., Franklin, C., & Clifford, C. (2015). *Biology and Diseases of Rats*. Texas: Laboratory Animal Medicine. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409527-4.00004-3>.
- Pacheco, M., & Marlene, C. (2016). *Análisis e incidencia de la desigualdad a través del índice de GINI en la ciudad de Guayaquil, período 2011-2015*. Guayaquil : Universidad de Guayaquil. doi:<http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/18795>
- Pan, Y., Tian, X., Qin, P., Wang, B., Zhao, P., Yang, Y.-L., . . . Huang, Y.-W. (2017). Discovery of a novel swine enteric alphacoronavirus (SeACoV) in southern China. *Veterinary Microbiology*, 15-21. doi:10.1016/j.vetmic.2017.09.020
- Payne, S. (2017). *Chapter 17 - Family Coronaviridae*. Texas: Science Direct. doi:10.1016/B978-0-12-803109-4.00017-9
- RAGSCORP. (28 de Agosto de 2019). *RAGSCORP*. Obtenido de Roedores sinantrópicos: Una gran amenaza: <https://www.ragscorp.com/que-son-roedores-sinantropicos/>
- Rius, C. (2018). La peste a lo largo de la historia. *Revista de Enfermedades Emergentes*, 18(3), 119-127. Obtenido de http://www.enfermedadesemergentes.com/articulos/a726/4_REVISION_ENF-EMERG003-2019_cristina-rius.pdf
- Rothenburger, J. L. (2017). *Host Disease and Environmental Factors Associated with Zoonotic Pathogens in Urban Norway Rats*. Ontario: The University of Guelph.

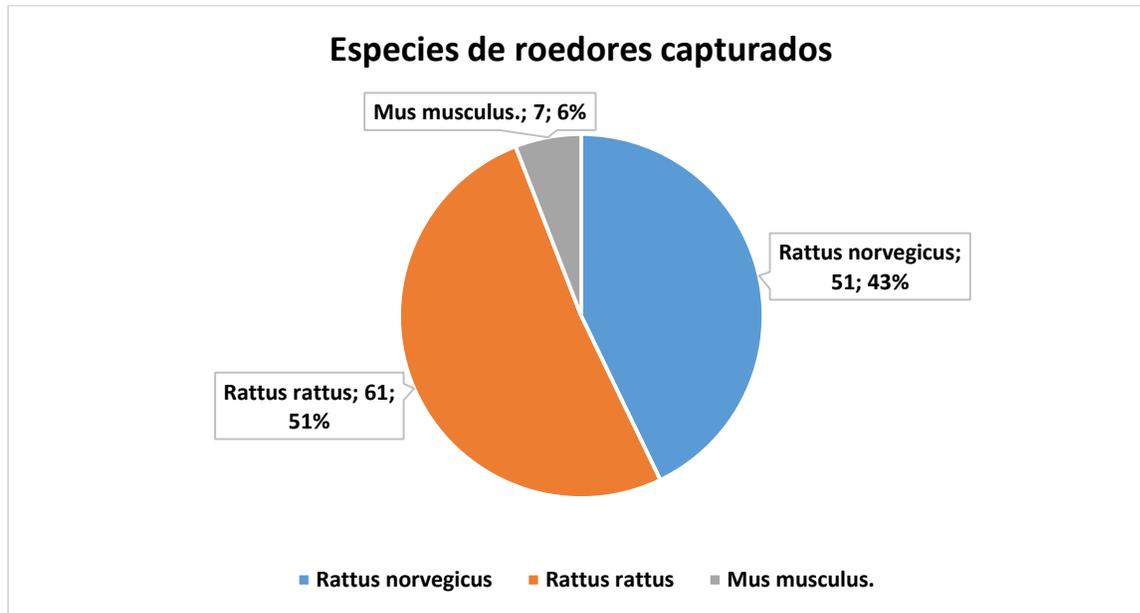
- Sadeghi, A., Taati, M., & Satarzadeh, N. (2020). COVID-19 (Coronavirus Disease 2019): A New Coronavirus Disease. *Infection and Drug Resistance*, 2819-2828.
doi:<http://doi.org/10.2147/IDR.S259279>
- Salas, D., Beltrán, B., Carreño, L., & Soler, D. (2017). *Ecología, Comportamiento y Control Integral de Roedores Plaga en Colombia*. Universidad de la Salle.
- Schweinfurth, M. (2020). The social life of Norway rats (*Rattus norvegicus*). *Elife*.
doi:10.7554/eLife.54020
- Singh, C., & Roy, S. (2016). Quantitative Real-Time PCR: Recent Advances. *Methods in Molecular Biology*. doi:10.1007/978-1-4939-3360-0_15
- Solórzano, L., Sánchez, F., Sánchez, S., & Pizarro, J. (2021). *R. rattus* y *R. norvegicus*, como reservorio de endoparásitos zoonóticos en Ecuador. *Revista MVZ Córdoba*. doi:<https://doi.org/10.21897/rmvz.1260>
- Song, Z., Xu, Y., Bao, L., Zhang, L., Yu, P., Qu, Y., . . . Qin, C. (2019). From SARS to MERS, Thrusting Coronaviruses into the Spotlight. *Viruses*, 11(1). doi:
<https://doi.org/10.3390/v11010059>
- Sun, J., He, W.-T., Wang, L., Lai, A., Ji, X., Zhai, X., . . . Su, S. (2020). COVID-19: Epidemiology, Evolution, and Cross-Disciplinary Perspectives. *Trends in Molecular Medicine*. doi:<https://doi.org/10.1016/j.molmed.2020.02.008>
- Torres, M. (2017). *¿Son los roedores sinantrópicos una amenaza para la salud pública de Yucatán?* Yucatán: Universidad Autónoma de Yucatán. Obtenido de <https://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2017/bio173e.pdf>

- Tsoleridis, T., Horncastle, E., Dayman, E., Zhu, M., Danjittrong, T., Wachtl, M., . . .
Tarlinton, R. E. (2015). Discovery of Novel Alphacoronaviruses in European
Rodents and Shrews. *Viruses*. doi:<https://doi.org/10.3390/v8030084>
- Vásquez, B., Villavicencio, C. N., Picon, P., Armijos, M., Vasquez, C., & Astudillo, P.
(2018). La Lechuza Campanaria *Tyto alba* (Strigiformes: Tytonidae) como
regulador de plagas en un ecosistema urbano altoandino en el sur del Ecuador.
ACI Avances en Ciencias e Ingeniería.
doi:<http://dx.doi.org/10.18272/aci.v9i15.757>
- Virgili, A. (14 de Mayo de 2020). *National Geographic*. Obtenido de La Peste Negra, la
Epidemia mas Mortifera: [https://historia.nationalgeographic.com.es/a/peste-
negra-epidemia-mas-mortifera_6280](https://historia.nationalgeographic.com.es/a/peste-negra-epidemia-mas-mortifera_6280)
- Wang, Q., Vlasova, A., Kenney, S., & Saif, L. (2019). Emerging and re-emerging
coronaviruses in pigs. *Currently Opinion in Virology*, 39-49.
doi:10.1016/j.coviro.2018.12.001
- Wang, W., Lin, X.-D., Guo, W.-P., Zhou, R.-H., Wang, M.-R., Wang, C.-Q., . . . Zhang,
Y.-Z. (2015). Discovery, diversity and evolution of novel coronaviruses sampled
from rodents in China. *Science Direct*, 474, 19-27.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.virol.2014.10.017>.
- Whittaker, G., André, N., & Millet, J. (2018). Improving Virus Taxonomy by
Recontextualizing Sequence-Based Classification with Biologically Relevant
Data: the Case of the Alphacoronavirus 1 Species. *mSphere*, 3(1).
doi:10.1128/mSphereDirect.00463-17

Ye, Z.-W., Yuan, S., Yuen, K.-S., Fung, S.-Y., Chan, C.-P., & Jin, D.-Y. (15 de marzo de 2020). Zoonotic origins of human coronaviruses. *International Journal of Biological Sciences*, 16(10), págs. 1686-1697. Obtenido de 10.7150 / ijbs.45472

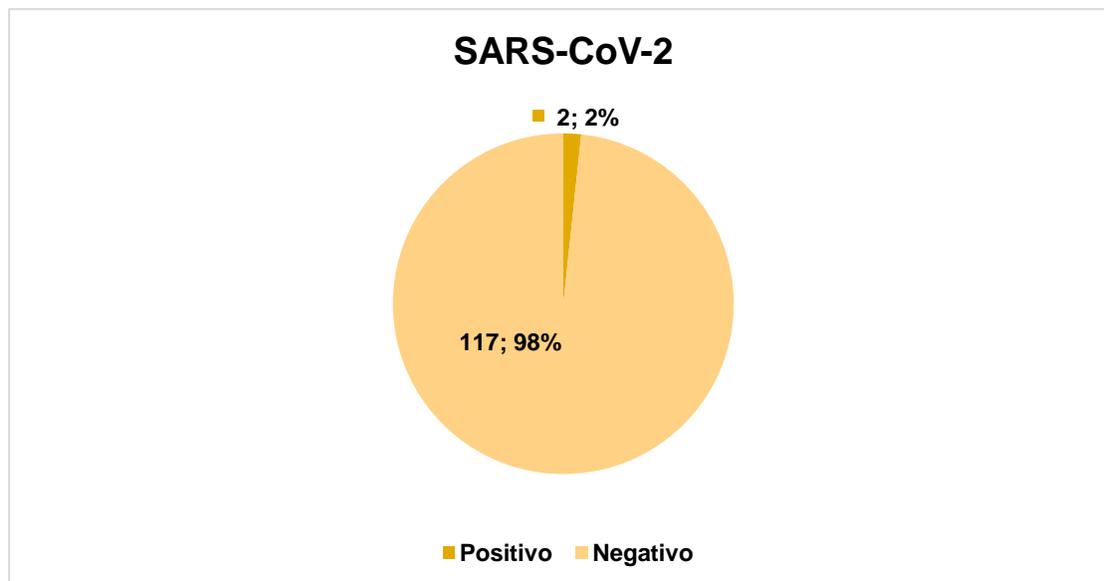
9 Anexos

9.1 Anexo 1. Gráfico de especies de roedores



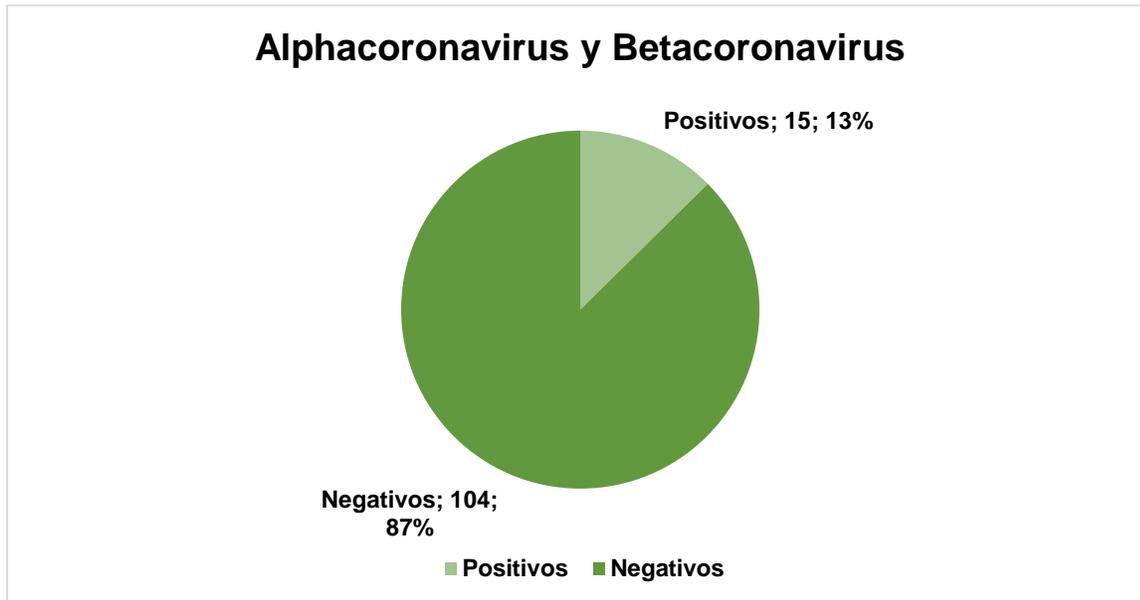
Mera, 2022

9.2. Anexo 2. Gráfico de resultados SARS-CoV-2



Mera, 2022

9.3. Anexo 3. Gráfico de resultados pancoronavirus



Mera, 2022

9.4. Anexo 4. Imagen identificación del lugar y colocación de jaulas



Mera, 2022

9.5. Anexo 5. Imagen Personal de laboratorio para proyecto SARS



Mera, 2022

9.6. Anexo 6. Imagen del laboratorio área de necropsia



Mera, 2022

9.7. Anexo 7. Imagen Roedores en jaulas antes de la necropsia



Mera, 2022

9.8. Anexo 8. Imagen Muestras recolectadas de la necropsia



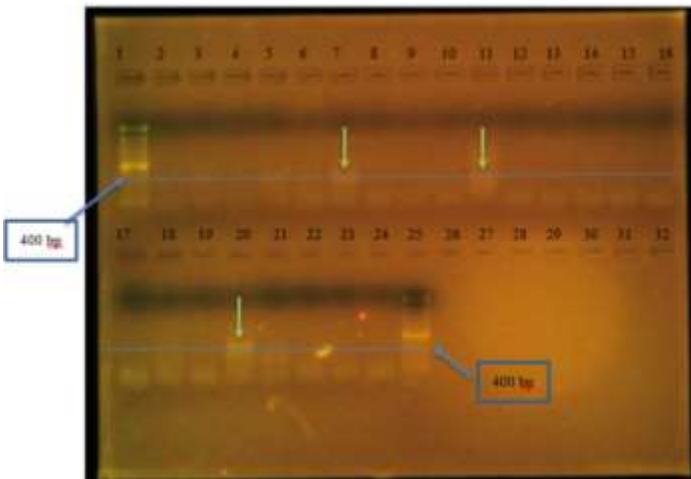
Mera, 2022

9.9. Anexo 9. Imagen Extracción de ARN de muestras recolectadas



Mera, 2022

9.10. Anexo 10. Imagen amplicones Pancoronavirus ratas



INSPI, 2022

