

## Virus emergentes y nuevas zoonosis. Lecciones aprendidas de una pandemia

Emerging viruses and new zoonoses. Lessons learned from a pandemic

Carrillo-Avila J.A.

Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía

La actual superpoblación, unida a la globalización y la enorme capacidad de desplazamiento de la sociedad, supone un caldo de cultivo idóneo para la aparición de zoonosis que en ocasiones derivan en pandemias. Aproximadamente, el 75% de las enfermedades infecciosas emergentes tienen un origen animal (1). A lo largo de la historia, pero especialmente en los últimos años el mundo ha sufrido pandemias de SARS, Ebola, Chikungunya y Zika (2) que aunque no han llegado a ser globales, han puesto a nuestra sociedad en estado de alerta. Si realizamos un breve recorrido por las zoonosis que han afectado al nuestro planeta en el último siglo, hay que destacar las pandemias por gripe como fue la "gripe Española" de 1918 que se estima que afectó a un tercio de la población mundial (500 millones de personas) y produjo unos 50 millones de fallecidos. Esta epidemia fue consecuencia de la adquisición y recombinación de material genético de un virus de la gripe aviar por el virus H1 que ya estaba circulando en humanos en ese momento (3). Más recientemente, se estima que la nueva gripe pandémica de 2009 causó entre 151.400 y 575.400 muertes (4). Incluso se han reportado otros nuevos brotes infecciosos por cepas de gripe procedente de aves (gripe aviar: H5N1) que han causado 861 casos y 455 muertes en humanos (5), entre otros brotes provocados por diferentes cepas del virus de la gripe importadas de diversas especies animales aunque de menor impacto.

Sin desconsiderar el relevante papel en las pandemias que han tenido diferentes cepas del virus de la gripe en el último siglo, hay que destacar que actualmente las zoonosis más determinantes y preocupantes son las producidas por Coronavirus (CoVs). Los CoVs (familia *Coronaviridae*) incluye 4 géneros: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Deltacoronavirus* and *Gammacoronavirus*, además de varios subgéneros y especies (6). La mayoría de las familias de CoVs existentes solo circulan entre mamíferos (incluidos cerdos, camellos, murciélagos y gatos) y aves. Sin embargo, ocasionalmente esos virus saltan la barrera entre especies afectando a humanos y llegando a causar graves enfermedades. Se han descrito siete familias de CoVs capaces de causar enfermedades en humanos. Existen cuatro CoVs comunes (HCoV- 229E, HCoV-OC43, HCoV- NL63 y HCoV- HKU1) que circulan regularmente por la población causando diferentes síntomas respiratorios (7). Generalmente, la infección causada por estos CoVs respiratorios comunes es asintomática o sintomática leve a moderada, y localizada en el tracto respiratorio superior, siendo una de las principales causas del resfriado común (8). Excepcionalmente, pueden provocar infecciones del tracto respiratorio inferior como bronquiolitis o neumonía principalmente en personas inmunodeprimidas,

niños y ancianos (7). Aunque están presentes en todo el mundo, la presencia diferencial de estos CoVs respiratorios comunes varía en el tiempo (estacional) y entre regiones (9-12).

Sin embargo, en los últimos 17 años han surgido tres nuevos CoVs (Betacoronavirus) procedentes de reservorios animales y han superado la barrera entre especies llegando a provocar enfermedades graves en humanos (6), y a pesar de ello no se está llevando a cabo vigilancia epidemiológica por parte de las autoridades. En concreto, a finales de 2002 surgió el SARS-CoV-1 (Síndrome Respiratorio Agudo Severo) en Guangdong (China), originario de murciélagos y que se expandió a humanos a través de la civeta que actuó como hospedador intermediario (13). El SAR-CoV-1 se extendió a 29 países, reportándose 8098 casos con 774 muertes (9,6% de mortalidad) (14) para desaparecer en Julio de 2003, probablemente por su ineficaz transmisión entre personas, y sin que se hayan reportado nuevos casos desde entonces. Posteriormente, en Abril de 2012 surgió el MERS-CoV (Síndrome Respiratorio de Oriente Medio) en Jordán (Arabia Saudí) (15). Se trata de un patógeno zoonótico que aún permanece en circulación en dromedarios, desde el que se transmite a humanos y del que se reportan casos esporádicos en Oriente Medio (16) y se sigue teniendo muy en cuenta por su elevada mortalidad (entre 25-50% en función de diversos factores) y su potencial riesgo de expandirse globalmente (17). Por último, un nuevo CoV apareció en humanos en la ciudad de Wuhan (China) en Diciembre de 2019 conocido como SARS-CoV-2 (que provoca la enfermedad conocida como COVID-19), genéticamente muy parecido al SARS-CoV-1 de 2002, y muy similar (96%) a un CoVs aislado previamente en murciélagos (18). Este nuevo CoV podría haber utilizado al pangolín como hospedador intermediario antes de saltar a humanos (19) aunque este extremo aún no está confirmado pudiendo tener más de un hospedador intermediario (6). Actualmente (20 Abril de 2020) el SARS-CoV-2 se está propagando de manera imparable por todo el mundo (20), causando más de 2,8 millones de casos diagnosticados de COVID-19 en todo el mundo y más de 193,000 muertes (21), de forma que la sociedad sufre la mayor epidemia de la era moderna, con permiso de la "gripe Española" de 1918.

Poco se sabe aún de este nuevo CoV, si bien parece que el periodo medio de incubación del SARS-CoV-2 es similar al del SARS-CoV-1 y se estima en torno a 5-7 días (22). Muestra un cuadro clínico bastante inespecífico, por lo que no es recomendable hacer diagnóstico diferencial basado en la clínica. Frecuentemente presenta un cuadro de fiebre y tos en etapas tempranas, pro-

vocando en ocasiones disnea y dificultad grave para respirar que en ocasiones lleva al fallecimiento del paciente (23, 24). Continuamente se están reportando nuevas manifestaciones clínicas asociadas a la enfermedad COVID-19, como diversas afecciones digestivas, renales, cardíacas e incluso afecciones cutáneas (25, 26). Hay que destacar que la mortalidad producida por el SARS-CoV-2 no es especialmente alta si lo comparamos con otros CoVs que afectan a animales, dependiendo mucho de variables como antecedentes previos de enfermedad cardio-respiratoria, hipertensión, obesidad, diabetes, capacidad de testaje en laboratorio y edad de la población. Según datos oficiales se sitúa en torno al 5,6% (95% CI 5,4-5,8) para China, y del 15,2 (95% CI 12,5-17,9) para el resto del mundo, si bien solo se están teniendo en cuenta los casos diagnosticados, pero no los numerosos casos asintomáticos no testados que es necesario conocer para tener un dato certero de mortalidad (27). Es importante destacar dos peculiaridades que hacen especialmente peligroso al SARS-CoV-2; por un lado, su facilidad de contagio y expansión entre humanos, muy superior a la de otros CoVs e incluso superior al virus de la gripe. Por otro lado, el elevado número de casos asintomáticos que aunque no hay estudios poblacionales amplios se estima en torno al 60% en población general (28), llegando al 90% en niños (29). Este elevado porcentaje de casos asintomáticos, hace que estos sujetos actúen como vehículo transmisor del virus sin ser conscientes de ello ("supertransmisores").

Actualmente, asistimos a una carrera frenética para la búsqueda de métodos diagnósticos adecuados y sensibles frente al SARS-CoV-2, además de una vacuna con la que controlar esta pandemia mundial. La búsqueda de una vacuna efectiva no parece fácil si consideramos las dificultades para desarrollar vacunas efectivas frente a los diferentes CoVs que afectan al sector ganadero y avícola, los cuales llevan décadas enfrentándose con diferentes CoVs (30). Por otro lado, las metodologías diagnósticas frente a SARS-CoV-2 se están desarrollando con rapidez, improvisación y falta de validación adecuada lo que hace que no existan metodologías realmente efectivas y contrastadas que nos garanticen la ausencia de diagnósticos erróneos, y que por lo tanto nos ayuden eficazmente a controlar la pandemia. En las últimas semanas se han desarrollado múltiples sistemas de RT-PCR para la detección directa del ARN viral y son las que mayoritariamente se han utilizado en la fase inicial de la pandemia (31). Esta técnica molecular es importante la detección de personas infectadas y que por lo tanto necesitan aislamiento y/o tratamiento. Sin embargo, los sistemas de detección de RT-PCR proporcionan algunos falsos diagnósticos, ya que su efectividad depende del momento de la infección en que se toma la muestra, tipo de muestra, gen diana usado para diseñar los cebadores, posibles mutaciones del virus en la zona de anclaje de los cebadores seleccionados, además de que requiere ser especialmente minuciosos en los procedimientos de toma de muestras (32). También hay que destacar el elevado coste/muestra y la necesidad de personal cualificado y entrenado además de equipamiento especializado para llevar a cabo las técnicas de RT-PCR. Por lo tanto, y sin pretender dejar a un lado las técnicas moleculares de RT-PCR altamente específicas, la clave para controlar la pandemia quizás esté en el uso de técnicas diagnósticas indirectas basadas en test serológicos de detección de anticuerpos. Dichos test son importantes para entender la epidemiología del patógeno emergente, así como el papel de las infecciones asintomáticas en la población, máximo cuando existe un porcentaje tan elevado de portadores asintomáticos que dificultan el control de la pandemia. De hecho las técnicas serológicas permiten la identificación de individuos inmunizados que no han sido conscientes de haber sufrido la infección, y en estos casos las técnicas moleculares no tendrían utilidad alguna. En anteriores pandemias por SARS-CoV-1 y MERS-CoV, se observaron muchos casos de negativos para detección de ARN por PCR en etapas tempranas, pero que desarrollaron una respuesta inmune (33, 34). Se ha demostrado en estudios recientes que es posible detectar anticuerpos frente a SARS-CoV-2 tan solo 5-7 días después de la infección (22). Incluso en algunos estudios los test serológicos muestran una mejor sensibilidad que los test moleculares para el diagnóstico de SARS-CoV-2 (35). Esta aparente rápida respuesta inmunológica, sugiere el uso complementario de técnicas serológicas y moleculares. Además, es conveniente destacar que la mayoría de técnicas inmunológicas que se están utilizando actualmente, con el uso de test rápidos o pruebas serológicas de

laboratorio, están basadas en el uso de antígenos recombinantes de SARS-CoV-1 de 2003, de gran homología con SARS-CoV-2 (aproximadamente 80%) pero con fragmentos de genes con diferencias importantes (36). Este hecho limita la sensibilidad y especificidad de la mayoría de los test que se están usando, por lo que es fundamental el desarrollo de test inmunológicos altamente específicos.

Los esfuerzos realizados en la investigación de las dos primeras pandemias por CoVs (SARS-CoV-1 y MERS-CoV), han ayudado a los científicos a evaluar rápidamente la gravedad y el potencial de transmisión del SARS-CoV-2, y a desarrollar contramedidas. De hecho, dentro de las dos semanas posteriores al descubrimiento de SARS-CoV-2, los investigadores habían determinado cómo el virus ingresa a las células, y el 12 de Enero de 2020 se publicó la secuencia completa del virus. Con todo esto, podemos afirmar que los científicos están mejor preparados para desarrollar diagnósticos, terapias frente a COVID-19 y vacunas para SARS-CoV-2. De hecho ya existen plataformas para el desarrollo de pruebas de diagnóstico y vacunas, así como para evaluar tratamientos como antivirales de amplio espectro y anticuerpos monoclonales.

Sin embargo, a pesar de la pandemia que nos afecta y de haber tenido otras dos pandemias por CoVs como precedentes, y del significativo avance de la ciencia y tecnologías en las últimas dos décadas, no se le ha prestado la suficiente atención ni se han destinado recursos para la prevención de nuevas enfermedades infecciosas que puedan afectar de forma significativa a la población mundial. De hecho, se sabe muy poco de los CoVs que circulan en animales salvajes y de su potencial para superar las barreras de especie y producir zoonosis o incluso de recombinar entre ellos y provocar graves problemas de salud pública. Es fundamental profundizar en el estudio de los reservorios animales que potencialmente pueden transmitir enfermedades a humanos, y especialmente el estudio riguroso de los CoVs, cuyo reservorio natural son mayoritariamente murciélagos, pájaros y roedores. No hay que olvidar la presencia en la naturaleza de familias de CoVs con una enorme mortalidad que afectan a diferentes especies animales, como el Virus de Peritonitis Infecciosa Felina (FIPV) (37) o el Virus de la Diarrea Epidémica Porcina (PEDV) (38), entre muchos otros. En concreto, el PEDV (familia Deltacoronavirus) es un virus con una gran capacidad de saltar entre especies, y cuyas cepas más virulentas pueden causar hasta el 100% de mortalidad en cerdos neonatos (39). Una posible zoonosis de cualquiera de estos CoVs podría ser catastrófica y mucho más letal que la que actualmente sufrimos con el SARS-CoV-2. Además, ya se advirtió después de la pandemia de SARS-CoV-1 de 2003 la necesidad de profundizar en el estudio de los CoVs animales de nuestro entorno con capacidad de producir zoonosis, y la necesidad de colaboración entre la investigación médica humana y veterinaria (40). Para encontrar soluciones al problema actual no se puede obviar la experiencia adquirida en medicina veterinaria frente a CoVs, donde está documentado el traspaso de diferentes familias de CoVs entre especies, especialmente de murciélagos o aves a cerdos (41).

De la actual pandemia podemos extraer la conclusión de que a pesar de que se ha avanzado mucho en los últimos años en cuanto a la investigación y a la respuesta de la Organización mundial de la Salud (OMS) y de las autoridades en general, es necesario seguir trabajando en cuanto a la transparencia, y la coordinación para proporcionar una respuesta rápida frente a las continuas pandemias producidas por virus emergentes (42). Posiblemente uno de los grandes problemas observados es que los expertos del comité de emergencia de la OMS no han alcanzado un consenso para determinar cuando la expansión de un nuevo virus es declarado como emergencia sanitaria, y por lo tanto cuando deben de activar los mecanismos de respuesta internacional coordinada. Para llegar a una gestión eficaz, sería recomendable el desarrollo de modelos matemáticos precisos de transmisión viral y sistemas de inteligencia artificial que ayuden a tomar decisiones sanitarias. Es fundamental iniciar e invertir en el conocimiento, métodos diagnósticos y posibles vacunas frente a estos nuevos patógenos, a pesar de que actualmente estén en sus reservorios naturales, y que posiblemente algunos de ellos nunca lleguen a afectar a humanos. Es la única manera de anticiparse y de estar preparados para la llegada de nuevas zoonosis.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Taylor LH, Latham SM, Woolhouse ME. 2001. Risk factors for human disease emergence. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 356:983-9.
2. Parvez MK, Parveen S. 2017. Evolution and Emergence of Pathogenic Viruses: Past, Present, and Future. *Intervirology* 60:1-7.
3. WHO. Spanish flu 1918 <https://www.cdc.gov/flu/pandemic-resources/reconstruction-1918-virus.html>.
4. CDC. Pandemic N1N1 flu 2009 <https://www.cdc.gov/flu/spotlights/pandemic-global-estimates.htm>.
5. WHO. H5N1 (Avian flu) [https://www.who.int/influenza/human\\_animal\\_interface/H5N1\\_cumulative\\_table\\_archives/en/](https://www.who.int/influenza/human_animal_interface/H5N1_cumulative_table_archives/en/).
6. Loeffelholz MJ, Tang YW. 2020. Laboratory Diagnosis of Emerging Human Coronavirus Infections - The State of the Art. *Emerg Microbes Infect* doi:10.1080/22221751.2020.1745095:1-26.
7. Su S, Wong G, Shi W, Liu J, Lai ACK, Zhou J, Liu W, Bi Y, Gao GF. 2016. Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses. *Trends Microbiol* 24:490-502.
8. Makela MJ, Puhakka T, Ruuskanen O, Leinonen M, Saikku P, Kimpimaki M, Blomqvist S, Hyypia T, Arstila P. 1998. Viruses and bacteria in the etiology of the common cold. *J Clin Microbiol* 36:539-42.
9. Sipulwa LA, Ongus JR, Coldren RL, Bulimo WD. 2016. Molecular characterization of human coronaviruses and their circulation dynamics in Kenya, 2009-2012. *Virology* 13:18.
10. Gaunt ER, Hardie A, Claas EC, Simmonds P, Templeton KE. 2010. Epidemiology and clinical presentations of the four human coronaviruses 229E, HKU1, NL63, and OC43 detected over 3 years using a novel multiplex real-time PCR method. *J Clin Microbiol* 48:2940-7.
11. Dominguez SR, Robinson CC, Holmes KV. 2009. Detection of four human coronaviruses in respiratory infections in children: a one-year study in Colorado. *J Med Virol* 81:1597-604.
12. Killerby ME, Biggs HM, Haynes A, Dahl RM, Mustaqim D, Gerber SI, Watson JT. 2018. Human coronavirus circulation in the United States 2014-2017. *J Clin Virol* 101:52-56.
13. Ksiazek TG, Erdman D, Goldsmith CS, Zaki SR, Peret T, Emery S, Tong S, Urbani C, Comer JA, Lim W, Rollin PE, Dowell SF, Ling AE, Humphrey CD, Shieh WJ, Guarner J, Paddock CD, Rota P, Fields B, DeRisi J, Yang JY, Cox N, Hughes JM, LeDuc JW, Bellini WJ, Anderson LJ. 2003. A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med* 348:1953-66.
14. WHO. SARS (severe acute respiratory syndrome). <https://www.who.int/ith/diseases/sars/en/> (accessed April 20, 2020).
15. Hijawi B, Abdallat M, Sayaydeh A, Alqasrawi S, Haddadin A, Jaarour N, Alsheikh S, Alsanouri T. 2013. Novel coronavirus infections in Jordan, April 2012: epidemiological findings from a retrospective investigation. *East Mediterr Health J* 19 Suppl 1:S12-8.
16. Zaki AM, van Boheemen S, Bestebroer TM, Osterhaus AD, Fouchier RA. 2012. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *N Engl J Med* 367:1814-20.
17. WHO. MERS (Middle East respiratory syndrome coronavirus). <https://www.who.int/emergencies/mers-cov/en/> (accessed April 20, 2020).
18. Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, Si HR, Zhu Y, Li B, Huang CL, Chen HD, Chen J, Luo Y, Guo H, Jiang RD, Liu MQ, Chen Y, Shen XR, Wang X, Zheng XS, Zhao K, Chen QJ, Deng F, Liu LL, Yan B, Zhan FX, Wang YY, Xiao GF, Shi ZL. 2020. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* 579:270-273.
19. Zhang T, Wu Q, Zhang Z. 2020. Probable Pangolin Origin of SARS-CoV-2 Associated with the COVID-19 Outbreak. *Curr Biol* doi:10.1016/j.cub.2020.03.022.
20. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, Zhao X, Huang B, Shi W, Lu R, Niu P, Zhan F, Ma X, Wang D, Xu W, Wu G, Gao GF, Tan W. 2020. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med* 382:727-733.
21. WHO. Coronavirus disease (COVID-19) Pandemic. <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>. Situation Report 97. (accessed April 27, 2020).
22. Li X, Wang W, Zhao X, Zai J, Zhao Q, Li Y, Chaillon A. 2020. Transmission dynamics and evolutionary history of 2019-nCoV. *J Med Virol* 92:501-511.
23. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, Zhang L, Fan G, Xu J, Gu X, Cheng Z, Yu T, Xia J, Wei Y, Wu W, Xie X, Yin W, Li H, Liu M, Xiao Y, Gao H, Guo L, Xie J, Wang G, Jiang R, Gao Z, Jin Q, Wang J, Cao B. 2020. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 395:497-506.
24. Wang Z, Yang B, Li Q, Wen L, Zhang R. 2020. Clinical Features of 69 Cases with Coronavirus Disease 2019 in Wuhan, China. *Clin Infect Dis* doi:10.1093/cid/ciaa272.
25. Ge H, Wang X, Yuan X, Xiao G, Wang C, Deng T, Yuan Q, Xiao X. 2020. The epidemiology and clinical information about COVID-19. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* doi:10.1007/s10096-020-03874-z.
26. Henry D, Ackerman M, Sancelme E, Finon A, Esteve E. 2020. Urticarial eruption in COVID-19 infection. *J Eur Acad Dermatol Venereol* doi:10.1111/jdv.16472.
27. Baud D, Qi X, Nielsen-Saines K, Musso D, Pomar L, Favre G. 2020. Real estimates of mortality following COVID-19 infection. *Lancet Infect Dis* doi:10.1016/S1473-3099(20)30195-X.
28. Padoan A, Cosma C, Sciacovelli L, Faggian D, Plebani M. 2020. Analytical performances of a chemiluminescence immunoassay for SARS-CoV-2 IgM/IgG and antibody kinetics. *Clin Chem Lab Med* doi:10.1515/cclm-2020-0443.
29. Bedir Demirdag T, Tezer H. 2020. Novel Coronavirus disease (COVID-19) in children. *Turk J Med Sci* doi:10.3906/sag-2004-174.
30. Saif L. 2020. Vaccines for COVID-19: perspectives, prospects, and challenges based on candidate SARS, MERS, and animal coronavirus vaccines. *European Medical Journal* Doi: 1033590/emj/200324.
31. CDC. Research Use Only 2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV) Real-time RT-PCR Primer and Probe Information. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/rt-pcr-panel-primer-probes.html>.
32. Tahamtan A, Ardebili A. 2020. Real-time RT-PCR in COVID-19 detection: issues affecting the results. *Expert Rev Mol Diagn* doi:10.1080/14737159.2020.1757437.

33. Bermingham A, Heinen P, Iturriza-Gomara M, Gray J, Appleton H, Zambon MC. 2004. Laboratory diagnosis of SARS. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 359:1083-9.
34. Islam A, Epstein JH, Rostal MK, Islam S, Rahman MZ, Hossain ME, Uzzaman MS, Munster VJ, Peiris M, Flora MS, Rahman M, Daszak P. 2018. Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Antibodies in Dromedary Camels, Bangladesh, 2015. *Emerg Infect Dis* 24:926-928.
35. Pan Y, Li X, Yang G, Fan J, Tang Y, Zhao J, Long X, Guo S, Zhao Z, Liu Y, Hu H, Xue H, Li Y. 2020. Serological immunochromatographic approach in diagnosis with SARS-CoV-2 infected COVID-19 patients. *J Infect* doi:10.1016/j.jinf.2020.03.051.
36. Grifoni A, Sidney J, Zhang Y, Scheuermann RH, Peters B, Sette A. 2020. A Sequence Homology and Bioinformatic Approach Can Predict Candidate Targets for Immune Responses to SARS-CoV-2. *Cell Host Microbe* 27:671-680 e2.
37. Addie D, Houe L, Maitland K, Passantino G, Decaro N. 2020. Effect of cat litters on feline coronavirus infection of cell culture and cats. *J Feline Med Surg* 22:350-357.
38. Thomas JT, Chen Q, Gauger PC, Gimenez-Lirola LG, Sinha A, Harmon KM, Madson DM, Burrough ER, Magstadt DR, Salzbrenner HM, Welch MW, Yoon KJ, Zimmerman JJ, Zhang J. 2015. Effect of Porcine Epidemic Diarrhea Virus Infectious Doses on Infection Outcomes in Naive Conventional Neonatal and Weaned Pigs. *PLoS One* 10:e0139266.
39. Gimenez-Lirola LG, Zhang J, Carrillo-Avila JA, Chen Q, Magtoto R, Poonsuk K, Baum DH, Pineyro P, Zimmerman J. 2017. Reactivity of Porcine Epidemic Diarrhea Virus Structural Proteins to Antibodies against Porcine Enteric Coronaviruses: Diagnostic Implications. *J Clin Microbiol* 55:1426-1436.
40. Saif LJ. 2004. Animal coronavirus vaccines: lessons for SARS. *Dev Biol (Basel)* 119:129-40.
41. Wang Q, Vlasova AN, Kenney SP, Saif LJ. 2019. Emerging and re-emerging coronaviruses in pigs. *Curr Opin Virol* 34:39-49.
42. Liu SL, Saif L. 2020. Emerging Viruses without Borders: The Wuhan Coronavirus. *Viruses* 12.