ALEKSANDRA GRABOWSKA, MONIKA ADAMCZYK-POPLAWSKA

*Zakład Wirusologii Molekularnej
Instytut Mikrobiologii
Wydział Biologii
Uniwersytet Warszawski
Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa
E-mail: poplawa@biol.uw.edu.pl
a.grabowsk11@student.uw.edu.pl*

ODWROTNA ZOONOZA CZYLI TRANSMISJA WIRUSA SARS-CoV-2 Z LUDZI NA ZWIERZĘTA

WSTĘP – CHARAKTERYSTYKA WIRUSA SARS-CoV-2

Wirus SARS-CoV-2 (ang. severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) należy do nowo pojawiających się wirusów odzwierzęcych. Jest to jedna z wielu znanych zoonoz. Pierwsze przypadki zakażeń ludzi tym wirusem zaobserwowano w grudniu 2019 r. w Wuhan w Chinach. Wirus przenosi się pomiędzy ludźmi drogą kropelkową. Postaci choroby nazwanej COVID-19 (ang. coronavirus disease-2019) są różne, od bezobjawowej (ok. 80%), przez łagodną i umiarkowaną, do ciężkiego wirusowego zapalenie płuc i zespołu ostrej niewydolności oddechowej (ang. acute respiratory distress syndrome, ARDS), wymagającego zastosowania tlenoterapii, w tym wentylacji mechanicznej. Około 2-3% przypadków zakażeń SARS-CoV-2 kończy się śmiercią. Nawet bezobjawowe przejście COVID-19 może skutkować różnymi powikłaniami, które utrzymują się długo po wyzdrowieniu i mogą być przyczyną niedawno opisanego LONG COVID.

Kluczowym etapem infekcyjności wirusa jest rozpoznanie i проникnięcie do cytoplazmy komórek gospodarza. Te dwa etapy odbywają się dzięki zdarzeniom zainicjowanym przez oddziaływanie pomiędzy wirusowym białkiem kolca S (ang. spike) z receptorem. Receptorem SARS-CoV-2 jest białko ACE2 (ang. angiotensin-converting enzyme 2),

obecne na ludzkich komórkach. W wyniku wiązania białka S z białkiem ACE2 dochodzi do procesów prowadzących do проникnięcia wirusa do cytoplazmy komórek, gdzie ma miejsce odplaszczanie jego materiału genetycznego, synteza wirusowych białek i replikacja materiału genetycznego (RNA o dodatniej polarności). Cykl replikacyjny kończy się formowaniem nowych, potomnych cząstek wirusowych i egzocytozą, czyli uwolnieniem nowopowstałych, potomnych wirionów, które mogą zainfekować następne, wrażliwe komórki, czyli posiadające receptor ACE2.

RECEPTOR ACE2

Fizjologiczną rolę glikoproteiny ACE2, rozpoznawanej przez SARS-CoV-2, jest udział w regulacji układu renina-angiotensyna-aldosteron. ACE2 jest enzymem o aktywności proteazy, który konwertuje angiotensynę w celu uzyskania efektu przeciwzapalnego i rozszerzającego naczynia krwionośne. ACE2 pełni więc ważną rolę w regulacji ciśnienia krwi u kręgowców (PATEL i współaut. 2016). Enzym występuje w dwóch formach: rozpuszczalnej (krążącej w osoczu) oraz jako integralne białko usytuowane w błonach wielu komórek ludzkich: m.in. w komórkach nabłonka płuc, śródbłonka naczyń krwionośnych, serca i nerek, a także w komórkach nabłonka jelit i siatkówki oka (GHEBLAWI i współaut. 2020, RENDON-MARIN i współaut.

2020). W formie błonowej ACE2 jest receptorem warunkującym wrażliwość komórek na dwa koronawirusy infekujące ludzi: SARS-CoV i SARS-CoV-2. Interakcja pomiędzy wirusowym białkiem S a ACE2 określa gospodarzy wirusa: jest to tak zwany tropizm wirusa (HUANG i współaut. 2020). Tropizm SARS-CoV-2 może być szerszy niż pierwotnie przypuszczano ze względu na konserwację receptora ACE2 u kręgowców, a szczególnie u ssaków (DAMAS i współaut. 2020). Oznacza to, że na infekcję SARS-CoV-2 wrażliwi mogą być nie tylko ludzie, ale także zwierzęta.

Już epidemia wywołana w 2003 r. przez SARS-CoV zwróciła uwagę badaczy na receptor ACE2 i jego występowanie u zwierząt. Wykazano wtedy, że zarówno norki (*Mustela furo*), jak i kot domowy (*Felis domesticus*) mogą zostać zakażone wirusem SARS-CoV wyizolowanym od zmarłego pacjenta, a co więcej mogą przekazywać tego wirusa innym zwierzętom żyjącym razem z nimi (MARTINA i współaut. 2003).

ACE2 jest silnie konserwowany u kręgowców, szczególnie u ssaków, ze względu na wspomnianą funkcję fizjologiczną. Na przykład u kotów i psów domowych (*Canis familiaris*), gen ACE2 ulega ekspresji w tkankach nerek, serca i wątroby. Ponadto, u kotów zaobserwowano wysoką ekspresję ACE2 w skórze, siatkówce, koniuszku ucha i płucach, zaś u psów ACE2 ulega ekspresji w skórze i siatkówce oka (SUN i współaut. 2021). Receptor fACE2, wyizolowany z komórek płuc kota domowego, wykazuje 85% podobieństwa sekwencji aminokwasowej do ludzkiego receptora (hACE2). Oba receptory rozpoznawane są ponadto przez przeciwciała skierowane przeciwko hACE2, co wskazuje na ich podobieństwo w strukturze czwartorzędowej (GUO i współaut. 2008).

Potencjał oddziaływań pomiędzy białkiem S wirusa SARS-CoV-2 i receptorów ACE2 różnych zwierząt jest intensywnie badany. Dzięki analizom filogenetycznym *in silico* porównano sekwencje aminokwasowe ACE2 różnych gatunków zwierząt z ludzkim hACE2, ze szczególnym uwzględnieniem domeny RBD (ang. receptor binding domain), kluczowej dla interakcji ACE2 z białkiem kolca S. W wyniku modelowania kompleksu białek S z ACE2 oszacowano, że 26 gatunków zwierząt, ssaków, z którymi człowiek może mieć bezpośredni kontakt, wykazuje wrażliwość na SARS-CoV-2. Są to zarówno zwierzęta dzikie jak np. małpy człekokształtne (zagrożone wyginięciem szympansy, goryle, orangutany i bonobo) lub dzikie kotowate (np. lwy, pumy lub tygrysy), zwierzęta domowe (koty, psy, chomiki, kawia domowa itp.), jak i zwierzęta hodowlane (owce, kro-

wy, króliki, kozy, konie i inne). Nie była natomiast zagrożona większość ptaków, ryb i gadów (GORAICHUK i współaut. 2021).

Zbadano podatność komórek różnych ssaków na infekcję SARS-CoV-2 *in vitro*, wykorzystując zmodyfikowany wirus HIV z białkiem S wirusa SARS-CoV-2 na jego powierzchni (tzw. pseudowirus) do infekcji komórek, wyrażających sklonowane receptory ACE2 pochodzące od różnych zwierząt. W badaniach sklonowano receptory ACE2 należące do 14 gatunków ssaków, w tym ssaków infekowanych w naturze przez koronawirusy (nietoperze, łuskowce), gospodarzy pośrednich koronawirusów (cywety oraz szopy pracze), zwierząt laboratoryjnych (małpy, szczury i myszy) oraz zwierząt domowych (psy, koty i króliki). Analizy wykazały potencjał wiązania zwierzęcych receptorów ACE2 z białkiem S koronawirusa SARS-CoV-2. Najlepiej rozpoznawany przez białko S był ACE2 ludzi i małp (*Macaca mulatta*). Najgorzej rozpoznawany przez białko S był ACE2 szczurów i myszy. Pośrednią aktywność receptora wykazały białka ACE2 psów, kotów, łuskowców i królików: 50% receptorów ACE2 tych zwierząt oddziaływało z pseudowirusem HIV wyrażającym białko S koronawirusa (Tabela 1). Badacze szczególnie przyjrzeni się sekwencjom białek ACE2, porównując rejon wiążący się bezpośrednio z rejonem RBD białka S. Ludzki i małpi rejon oddziałujący z RBD zawierały identyczne 23 aminokwasy, kluczowe dla interakcji z S, a zaś ACE2 gryzoni różniły się od ludzkiego RBD 3 aminokwasami (ZHAO i współaut. 2020).

HIPOTEZA POCHODZENIA ODZWIERZĘCEGO WIRUSA SARS-CoV-2

Pochodzenie wirusa SARS-CoV-2 jest przedmiotem dyskusji. Pierwsze doniesienia sugerowały, że wirus pojawił się na targu rybnym Huanan, gdzie sprzedawane były zarówno dzikie zwierzęta (w tym nietoperze), jak i owoce morza.

Wszystkie poznane dotychczas koronawirusy, które wywołały lub wywołują choroby u ludzi, są pochodzenia zwierzęcego (zoonozy). Niewątpliwie głównym naturalnym rezerwuarem znanych koronawirusów są nietoperze. Zarówno SARS-CoV, jak i wirus bliskowschodniego zespołu niewydolności oddechowej (wirus MERS) pochodzą od nietoperzy, a ich gospodarzami pośrednimi były odpowiednio: łaskuny palmowe i wielbłądy (NADEEM i współaut. 2020). Opisane wcześniej koronawirusy pochodzące od nietoperzy wykazują częstą rekombinację w obrębie genów kodujących białka strukturalne po-

Tabela 1. Wyniki oddziaływań *in vitro* pomiędzy sklonowanymi receptorami ACE2 a białkiem S obecnym na pseudowirusie HIV (na podstawie ZHAO i współaut. 2020).

Liczba „+” oznacza siłę oddziaływania pomiędzy białkiem S a receptorem ACE2.

Gatunek z którego pochodził badany receptor ACE2	Oddziaływanie z wirusowym białkiem S
Ludzki ACE2	+++++
Makak rezus (<i>Macaca mulatta</i>)	+++++
Królik europejski (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)	++++
Pies domowy (<i>Canis lupus familiaris</i>)	++++
Luskowiec jawański (<i>Manis javanica</i>)	++++
Kot domowy (<i>Felis catus</i>)	+++
Molosek brazylijski (<i>Tadarida brasiliensis</i>)	++
Jenot azjatycki (<i>Nyctereutes procyonoides</i>)	++
Podkowiec chiński rudy (<i>Rhinolophus sinicus</i>)	++
Ryjonos piżmowy (<i>Melogale moschata</i>)	+
Balizuar obroźny (<i>Arctonyx collaris</i>)	+
Paguma chińska (<i>Paguma larvata</i>)	+
Mysz domowa (<i>Mus musculus</i>)	+/-
Szczur wędrowny (<i>Rattus norvegicus</i>)	+/-

między wirusami pochodzącymi od różnych gospodarzy, co może zwiększać ich potencjał do transmisji międzygatunkowej. Dlatego sugerowano, że to nietoperze są prawdopodobnie naturalnym pierwotnym rezerwuarem SARS-CoV-2, ale w wyodrębnieniu się nowego koronawirusa brał udział także gospodarz pośredni (DO VALE i współaut. 2021).

NIETOPERZE PODKOWCOWATE RHINOLOPHUS

W związku z hipotezą o odzwierzęcym pochodzeniu wirusa SARS-CoV-2, w jednym z pierwszych badań przeanalizowano genomy wirusów wyizolowanych od chorych pacjentów. Większość z nich (8 z 9 pacjentów) odwiedziła targ Huanan w Wuhan. Wykazano, że nowy koronawirus jest powiązany ze znanymi już wcześniej koronawirusami nietoperzy. Genom wirusa bat-SL-CoVZC45 wykazywał 87,99% podobieństwa do genomu SARS-CoV-2, natomiast bat-SL-CoVZXC21 był identyczny na poziomie 87,23%. Podobieństwo SARS-CoV-2 do SARS-CoV wynosi około 79%, a do MERS-CoV tylko 50% (LU i współaut. 2020). Dokonano również analizy na poziomie sekwencji aminokwasowej białek wirusowych i stwierdzono, że występowały tylko niewielkie insercje lub delecje w białkach kodowanych przez SARS-CoV-2 w porównaniu do wirusów infekujących nie-

to perze bat-SL-CoVZC45 i bat-SL-CoVZXC21. Jednak gen S, kodujący białko wiążące receptor SARS-CoV-2, miał jedynie 75% identyczności sekwencji genów S tych dwóch koronawirusów infekujących nietoperze. Chociaż SARS-CoV-2 jest bliższy bat-SL-CoVZC45 i bat-SL-CoVZXC21 na poziomie sekwencji nukleotydowej całego genomu, to na poziomie aminokwasowym domena RBD nowego koronawirusa wykazuje większe podobieństwo do domeny RBD z SARS-CoV niż do wspomnianych wirusów nietoperzy (LU i współaut. 2020). Podobieństwo między SARS-CoV-2 i koronawirusami nietoperzy sugeruje możliwość, że nowy koronawirus również pochodzi od nietoperzy. Wysunięto hipotezę, że co najmniej dwa ich gatunki, *Rhinolophus affinis* i *R. malaynus*, mogły być naturalnymi gospodarzami przodków SARS-CoV-2. Wykazano, że informacja genetyczna wirusa SARS-CoV-2 wykazuje około 96,2% podobieństwa do genomu betakoronawirusa RaTG13, pochodzącego od podkowca (*R. affinis*). Wyniki uzyskano w oparciu o sekwencjonowanie genomu i analizę ewolucyjną koronawirusów (ZHOU i współaut. 2020). Jednak wirus SARS-CoV-2 i RaTG13 różnią się w sekwencji kodującej wspomnianą domenę RBD. Sugeruje to, że SARS-CoV-2 jest wynikiem rekombinacji RaTG13 z innym wirusem.

ŁUSKOWCE

Ze względu na brak kontaktu między nietoperzami i ludźmi, bezpośrednie zakażenie człowieka wirusem od nietoperzy występuje rzadko. Prawdopodobnie przeniesienie nowego koronawirusa z ich naturalnego rezerwuaru na człowieka odbyło się za pośrednictwem żywiciela pośredniego. Podobnie jak w przypadku SARS-CoV i MERS-CoV, żywiele pośredni stanowią kluczowe ogniw w ewolucji wirusa i jego adaptacji do rozpowszechniania się wśród ludzi (MAHDY i współaut. 2020).

Aktualne badania wykazują, że łuskowce (*Manis javanica*) wydają się być żywicielem pośrednim w przypadku SARS-CoV-2. Betakoronawirusy występujące u tych zwierząt wykazują około 85-92% homologii sekwencji nukleotydowej z SARS-CoV-2, prezentując drugie co do wielkości podobieństwo do genomu wirusa SARS-CoV-2, zaraz po wspólnym koronawirusie nietoperzy RaTG13 (DO VALE i współaut. 2021). Domena RBD białka S wirusa pochodzącego od łuskowców wykazywała niezwykle wysokie podobieństwo do domeny RBD z SARS-CoV-2, i wykazała wysoką zdolność wiązania do ludzkiego ACE2, co sugeruje rekombinację pomiędzy wirusem łuskowców a potencjalnym przodkiem SARS-CoV-2 pochodzącym od nietoperzy. Koronawirusy wyizolowane od łuskowców zawierają wszystkie sześć kluczowych mutacji, które wpływają na wiązanie białka S (poprzez domenę RBD) z receptorem gospodarza (ACE2). Ponadto, domena RBD białka fuzyjnego S z jednej z sublinii koronawirusów łuskowców wykazuje aż 97,4% podobieństwo sekwencji aminokwasów białka u nowego koronawirusa (XIAO i współaut. 2020). Analizy filogenetyczne wykazują, że SARS-CoV-2 nie powstał jednak bezpośrednio z koronawirusów łuskowców. Uważa się, że SARS-CoV-2 pochodzi od nietoperzy i został przeniesiony na łuskowce, a następnie doszło do rekombinacji wirusa łuskowców z wirusem podobnym do RaTG13. Zrekombinowany wirus nabył zdolność do transmisji i zakażenia człowieka (LI i współaut. 2020).

GADY

Analiza mechanizmu wiązania strukturalnego pomiędzy rejonem RBD obecnym na białku S z SARS-CoV-2 i receptorów ACE2 wykazała, że węże mogą stanowić rezerwuarius SARS-CoV-2 u dzikich zwierząt, jednak nie ma żadnej udokumentowanej izolacji SARS-CoV-2 ani innego molekularnego bądź serologicznego potwierdzenia zakażenia u tych zwierząt (ZHANG i współaut. 2020a).

Sugerowano również, że żółwie (*Chrysemys picta bellii*, *Pelodiscus sinensis*, *Chelonia mydas*) mogą być gospodarzami pośrednimi

SARS-CoV-2, jednak stwierdzono, że receptor ACE2 żółwi, tak samo jak węży, utracił zdolność do wiązania się z białkiem S koronawirusa SARS-CoV-2.

Jak dotąd brak dowodów biologicznych dotyczących zdolności koronawirusów do infekowania organizmów innych niż ssaki i ptaki, dlatego gady nie są uważane za potencjalnych gospodarzy dla SARS-CoV-2 (LUAN i współaut. 2020).

PRZYPADKI NATURALNYCH INFEKCJI
ZWIERZĄT WIRUSEM SARS-COV-2:
ODWROTNA ZOONOZA

Przypadki przeniesienia wirusa z zainfekowanego człowieka na zwierzę podczas pandemii COVID-19 zostały udokumentowane w kilkunastu krajach, w tym w Hongkongu, Belgii, Stanach Zjednoczonych, Holandii, Danii, Hiszpanii, Niemczech, Włoszech, Chorwacji, Francji i innych (JO i współaut. 2020).

KOTY DOMOWE

Na początku pandemii, w okresie od stycznia do marca 2020 r. pobrano próbki od 102 kotów pochodzących ze schronisk, lecznic dla zwierząt, bądź z domów pacjentów z COVID-19 w Wuhan. U 14,7% badanych zwierząt wykryto swoiste przeciwciała przeciw SARS-CoV-2. Koty, które żyły w bliskim kontakcie z zarażonymi właścicielami, wykazywały najwyższe miano przeciwciał, co wskazuje, że doszło do zakażenia czworonogów od zakażonych ludzi. Natomiast żadna próbka pobrana w 2019 r. nie była seropozytywna względem SARS-CoV-2. Dane sugerują, że do zakażenia kotów od ludzi mogło dojść również w innych ogniskach choroby (ZHANG i współaut. 2020b).

22 kwietnia 2020 r. amerykańskie Centrum Kontroli i Prewencji Chorób (ang. Centers for Disease Control and Prevention) poinformowało o dwóch przypadkach zarażonych kotów domowych, pochodzących z różnych gospodarstw. Były to pierwsze odnotowane w Stanach Zjednoczonych przypadki zainfekowanych zwierząt towarzyszących. U tych kotów, jako pierwszych zwierząt na świecie, wystąpiły objawy COVID-19; zostały przebadane po wystąpieniu łagodnych zaburzeń oddechowych utrzymującymi się 8 i 10 dni. U właścicieli jednego z kotów występowały objawy łagodnej choroby układu oddechowego, jednak nie zostali oni przebadani w kierunku zakażenia SARS-CoV-2. Natomiast drugi kot mieszkał z osobą, u której COVID-19 został potwierdzony testem. Ustalono, że nie doszło do dalszego przenoszenia choroby z zainfekowanych kotów na inne zwierzęta lub osoby. Oba zwierzęta w pełni wyzdrowiały (NEWMAN i współaut. 2020). Liczbę wszystkich zdiagno-

Tabela 2. Zdiagnozowane testami przypadki SARS-CoV-2 u zwierząt w Stanach Zjednoczonych.

Tabela sporządzona na podstawie wykresu APHIS (*Animal and Plant Health Inspection Service*). Dane na dzień 19 lipca 2021 r.

Zwierzęta/pomieszczenia dla zwierząt	Metoda pierwotnej diagnozy		Łączna liczba potwierdzonych przypadków
	RT-PCR	Test serologiczny	
Kot	46	51	97
Puma	1	–	1
Pies	26	59	85
Goryl	3	–	3
Lew	6	–	6
Wydra	5	–	5
Pantera śnieżna	3	–	3
Tygrys	15	2	17

zowanych przypadków SARS-CoV-2 u kotów żyjących w Stanach Zjednoczonych umieszczono w Tabeli 2.

W Belgii opisano przypadek kota należącego do zakażonego SARS-CoV-2 właściciela, u którego występowały zaburzenia trawienia oraz kaszel i problemy z oddychaniem. W próbkach kału jego zwierzęcia wykryto RNA koronawirusa, co wskazywałoby na zakażenie SARS-CoV-2 od chorego właściciela (GARIGLIANI i współaut. 2020). W Hong-Kongu zbadano kota mieszkającego z zakażonym gospodarzem, którego poddano kwarantannie. Wymazy z jamy gębowej, nosa i odbytnicy kota również wykazały obecność RNA SARS-CoV-2. U obu wspomnianych zwierząt nie występowały objawy COVID-19 (LEROY i współaut. 2020).

Odnotowane zostały również inne przypadki COVID-19 u kotów, pochodzących z krajów takich jak Francja, Niemcy, Rosja czy Hiszpania (KIROS i współaut. 2020, SEGALÉS i współaut. 2020). Wrażliwość kotów na zakażenie SARS-CoV-2 szacuje się jako wysoką. Zaobserwowano także transmisję wirusa pomiędzy kotami.

TYGRYSY, LWY I PANTERY

27 marca 2020 r. u czteroletniej tygrysy syberyjskiej (*Panthera tigris*), przebywającej w Bronx ZOO w Nowym Jorku, pojawił się suchy kaszel i świszczący oddech. Ponieważ objawy utrzymywały się, po kilku dniach pobrano próbki od zwierzęcia i stwierdzono pozytywny wynik na obecność SARS-CoV-2. Był to pierwszy przypadek potwierdzonego zakażenia nowym koronawirusem u zwierząt nieudomowionych. W ciągu kolejnych dni u

trzech innych tygrysów i trzech lwów afrykańskich (*Panthera leo*) odnotowano kaszel i pogorszenie apetytu. Zwierzęta te zostały odizolowane od innych podopiecznych ZOO. U treserów tygrysów również wykryto wirusowy RNA, a dane genomowe i epidemiologiczne potwierdziły związek ewolucyjny pomiędzy szczepami wirusa wykrytymi u zwierząt i u ich opiekunów. Wykazano, że tygrysy i lwy zostały zakażone przez dwa różne genotypy SARS-CoV-2. Dane te sugerują, że miały miejsce co najmniej dwie niezależne odwrotne transmisje SARS-CoV-2: od ludzi do zwierząt, jedna u tygrysów, a druga u lwów (MCALOOSE i współaut. 2020).

Wiadomo także o innych dzikich koto-watych zakażonych SARS-CoV-2: np. o pumach (*Puma concolor*) w Afryce Południowej, Argentynie, lwach w ZOO w Barcelonie, Estonii, Szwecji, Teksasie itp. czy też tygrysach (*Panthera tigris jacksoni*, *Panthera tigris tigris*, *Panthera tigris sumatrae*) w USA, Szwecji i innych krajach. Źródłem infekcji byli zakażeni koronawirusem pracownicy ZOO (GORAICHUK i współaut. 2021).

PSY DOMOWE

Pierwszym psem, u którego wykryto SARS-CoV-2, był 17-letni szpic miniaturowy należący do 60-letniej kobiety, u której 12 lutego 2020 r. wystąpiły objawy COVID-19. Pacjentka była hospitalizowana i po wyzdrowieniu wróciła do miejsca zamieszkania. Od psa trzykrotnie pobrano próbki śliny i wydzielin z nosa: 26, 28 lutego i 2 marca 2020 r. Próby poddano analizie metodą ilościową Quantitative Real Time PCR (qRT-PCR) i we wszystkich wykryto niewielkie ilości wiruso-

wego RNA. Następnie wykonano serologiczne badanie przesiewowe, przeprowadzone na próbce krwi pobranej 3 marca 2020 r., w którym wykazano obecność swoistych przeciwciał anty-SARS-CoV-2. Otrzymane wyniki mogą świadczyć o tym, że pies został zakażony wirusem i wytworzył swoistą odpowiedź immunologiczną. U psa nie wystąpiły objawy typowe dla COVID-19. Zwierzę zmarło 16 marca 2020 r., a przyczyną śmierci była niewydolność nerek i serca, jednak nie wiadomo czy przyczyną pośrednią była infekcja SARS-CoV-2 czy zaawansowany wiek zwierzęcia. Niskie miano wirusa zaobserwowane u tego psa sugeruje, że rozwinęło się u niego zakażenie o niskiej produktywności, a prawdopodobieństwo przeniesienia zakażenia wirusem SARS-CoV-2 na ludzi oceniono na znikome lub żadne (LEROY i współaut. 2020).

Kolejny przypadek infekcji u psów odnotowano już w marcu 2020 r. w Hong Kongu. Kiedy u właściciela dwóch psów wykryto SARS-CoV-2, zwierzęta zostały poddane kwarantannie i testom metodą qRT-PCR. Owcześnie niemiecki uzyskał wynik pozytywny testu, potwierdzony przez ekspertów z Uniwersytetu w Hongkongu i Światową Organizację Zdrowia Zwierząt. U tego psa nie występowały żadne objawy kliniczne choroby, natomiast u drugiego psa (rasy mieszanej) wynik testu był negatywny. Sekwencje wirusowe otrzymane od opiekuna i zakażonego zwierzęcia poddano analizom, które wykazały, że są one identyczne (LEROY i współaut. 2020). Podobieństwo sekwencji genetycznej wirusa SARS-CoV-2 pochodzącego od właściciela i zwierzęcia domowego wskazywało na transmisję z człowieka na zwierzę. Wykluczono jednak możliwość, aby pies był zakaźny dla ludzi i/lub innego zwierzęcia (ALMENDROS 2020).

Infekcje SARS-CoV-2 u psów, których właściciele byli zakażeni tym koronawirusem, potwierdzono w wielu krajach (Bośnia i Hercegowina, Kanada, Chiny, Chorwacja, Holandia, Japonia, Meksyk, Niemcy, Tajlandia, Stany Zjednoczone, Urugwaj). Większość doniesień opisuje przypadki bezobjawowej choroby u psów, ale opisane są też przypadki z objawami łagodnymi, a nawet ciężkimi (GORAICHUK i współaut. 2021).

We Włoszech wykazano, że ok 3,3% psów i 5,8 % kotów żyjących w domach, w których doszło do infekcji SARS-CoV-2 właścicieli, posiada przeciwciała przeciwko temu koronawirusowi. Przebadano 919 zwierząt, u żadnego z nich nie potwierdzono infekcji testem qRT-PCR. Ta obserwacja sugeruje, że zwierzęta mogą ulegać serokonwersji (czyli w wyniku infekcji nabierać odporności), ale wydalają wirusa w stosunkowo krótkim okresie (brak detekcji materiału genetycznego wirusa) (PATTERSON i współaut. 2020).

Ogólnie uważa się jednak, że psy mają niską wrażliwość na SARS-CoV-2 i nie udokumentowano transmisji z psa na psa lub z psa na człowieka.

NORKI

Norki to kolejne zwierzęta podatne na SARS-CoV-2, mające również zdolność do przenoszenia wirusa między sobą. 23 i 25 kwietnia 2020 r. odnotowano pierwsze przypadki zakażeń tych zwierząt na dwóch farmach w Holandii, gdzie norki były hodowane na potrzeby futrzarskie. Przed wystąpieniem objawów u norek, u niektórych pracowników farmy występowały objawy charakterystyczne dla COVID-19, natomiast zakażenie SARS-CoV-2 potwierdzono tylko u jednej hospitalizowanej osoby. U zakażonych zwierząt rozwinęła się choroba układu oddechowego z typowymi symptomami wirusowego zapalenia płuc. Sekwencje genomów wirusowych uzyskanych z próbek pobranych od norek wykazywały wysokie podobieństwo do sekwencji izolatów pochodzących od ludzi, stąd przypuszczenia, że doszło do transmisji wirusa z człowieka na zwierzęta. Duża odległość pomiędzy dwoma ogniskami choroby nie wskazuje na powiązanie epidemiologiczne między nimi. W opisanych fermach norek zwierzęta nie miały bezpośredniego kontaktu między sobą, były trzymane w osobnych klatkach o nieprzepuszczalnych przegrodach oddzielających je od innych osobników. Hipotetycznie, przenoszenie wirusa mogło się odbywać przez paszę lub ściółkę dostarczane przez zainfekowanych pracowników albo przez powietrze, w którym także wykryto wirusowy RNA (ORESHKOVA i współaut. 2020). W przypadku norek udokumentowano przeniesienie SARS-CoV-2 z norek na człowieka. W dniu 3 czerwca 2020 r. holenderskie Ministerstwo Rolnictwa podjęło decyzję o uboju wszystkich norek z ferm, w których odnotowano zakażenia SARS-CoV-2 (ORESHKOVA i współaut. 2020). Zginęło ponad 1 milion zwierząt (CAHAN 2020). Do podobnych przypadków doszło na fermach w Danii, gdzie zabito ponad 15 milionów norek (dane z www.bbc.com). Oprócz Holandii (69 ferm norek) i Danii (290 ferm norek) fermy zakażone SARS-CoV-2 odnotowano również w Stanach Zjednoczonych (17), Francji (1), Grecji (22), Włoszech (1), Hiszpanii (1), Szwecji (13), Polsce (1), na Litwie (2) i w Kanadzie (2) (FENOLLAR i współaut. 2021).

INNE ZWIERZĘTA WRAŻLIWE NA ZAKAŻENIE WIRUSEM SARS-CoV-2

W Słowenii i Hiszpanii opisano sporadyczne przypadki zakażenia fretek hodowanych w domach (GINER i współaut. 2021,

ProMED-mail 2020, OIE 2021). W ZOO Safari Park w San Diego pozytywny test uzyskano u 3 goryli (*Gorilla gorilla gorilla*), zaś w Gruzji wykazano naturalne zakażenia wyderrek orientalnych (*Aonyx cinereus*) (GORAICHUK i współaut. 2021). Przypadki te są przykładami naturalnego zakażenia SARS-CoV-2 w wyniku odwrotnej transmisji z człowieka na zwierzęta. Amerykańska APHIS (ang. Animal and Plant Health Inspection Service) zbiera dane dotyczące zakażonych SARS-CoV-2 zwierząt (<https://www.aphis.usda.gov/aphis/dashboards/tableau/sars-dashboards>). Dane na dzień 19 lipca 2021 r. zamieszczono w Tabeli 2.

Badania eksperymentalne wykazały podatność na zakażenie SARS-CoV-2 jeszcze innych gatunków zwierząt: chomików syryjskich (*Mesocricetus auratus*), jelenia wirgińskiego (*Odocoileus virginianus*), uistiti białouchej (*Callithrix jacchus*), nornicy rudej (*Myodes glareolus*), myszaka leśnego (*Peromyscus maniculatus*) i makaków (*Macaca fascicularis* oraz *Macaca mulatta*). W tych przypadkach zwierzęta były celowo zakażane wirusem SARS-CoV-2 w laboratoriach (SHI i współaut. 2020).

PODSUMOWANIE

Przenoszenie wirusa SARS-CoV-2 z człowieka na zwierzęta (odwrotna zoonoza) jest udokumentowane i związane z obecnością mocno konserwowanego u zwierząt i ludzi białka ACE2, które jest receptorem SARS-CoV-2, odpowiedzialnym za tropizm wirusa. Odwrotna transmisja dotyczy zarówno zwierząt domowych, hodowlanych, jak i dzikich.

Nie wszystkie zakażone zwierzęta mają objawy choroby. W około połowie analizowanych przez amerykańską agencję CDC (ang. Centers for Disease Control and Prevention) przypadków zakażenia u psów i kotów nie obserwowano objawów. Jeżeli objawy występowały, to najczęściej były to kaszel, kichanie, gorączka, utrata przytomności oraz wymioty i biegunka. Badanie zwierząt na obecność SARS-CoV-2 nie jest procedurą rutynową, dlatego przypadki zakażeń zwierząt od ludzi w wyniku odwrotnej transmisji są niewątpliwie niedoszacowane. Ponieważ transmisja z człowieka na człowieka jest nadal wysoka, na razie odwrotna transmisja z człowieka na zwierzęta nie jest niepokojąca. Należałoby jednak lepiej kontrolować zakażenia człowiek→zwierzę. Przy kontakcie ze zwierzętami, zakażone osoby powinny nosić maski, a najlepiej, by niezbędną opiekę sprawowała osoba niezakażona. Zwierząt z podejrzeniem zakażenia nie należy wypuszczać z domów. Nie ma dowodów, aby SARS-CoV-2 przenosił się poprzez kontakt z sier-

ścią zwierząt, tak więc nie ma zasadności kąpienie zwierząt w środkach odkażających. Aktualnie nie ma dowodów, aby zakażone zwierzęta domowe (koty lub psy) odgrywały jakąkolwiek rolę w rozwoju pandemii związanej z SARS-CoV-2. Jednak jeżeli uporamy się z transmisją pomiędzy ludźmi, zwierzęta domowe mogą stać się potencjalnym rezerwuaem do reintrodukcji SARS-CoV-2. Należałoby więc rozważyć rutynowe monitorowanie zwierząt, jeżeli u właścicieli lub opiekunów potwierdzono zakażenie SARS-CoV-2, a także rozważyć opracowanie szczepionki dla zwierząt przeciwko temu wirusowi. Niepokojąca jest również podatność na zakażenie SARS-CoV-2 gatunków zagrożonych wyginięciem, np. górskich goryli, które mogą zarażić się w wyniku kontaktu ze strażnikami, naukowcami lub turystami.

Streszczenie

Pochodzenie koronawirusa SARS-CoV-2 jest obiektem dyskusji i badań, ale jest to niewątpliwie patogen odzwierzęcy. SARS-CoV-2 pochodzi najprawdopodobniej od wirusów infekujących nietoperze, a zdolność infekowania człowieka nabył w nieznanym wciąż organizmie pośrednim. Wirus odpowiedzialny jest za zoonozę nazwaną COVID-19. Od grudnia 2019 roku wirus rozprzestrzenił się pomiędzy ludźmi, wywołując pandemię. Doniesienia wskazują na możliwość zajścia tak zwanej odwrotnej zoonozy: czyli transmisji wirusa z zainfekowanych ludzi na zwierzęta. Obecność materiału genetycznego wirusa lub obecność przeciwciał antySARS-CoV-2 wykryto zarówno u zwierząt dzikich, jak i hodowlanych oraz domowych. Źródłem infekcji byli niewątpliwie ludzie - zainfekowani pracownicy, hodowcy lub właściciele. Transmisja wirusa związana jest z obecnością, konserwowanego wśród ssaków, białka ACE2, będący receptorem rozpoznawanym przez białko S wirusa SARS-CoV-2. Oddziaływanie pomiędzy ACE2 i S jest niezbędne do infekcji komórki docelowej i rozpoczęciu cyklu replikacyjnego wirusa. W przyszłości odwrotna zoonoza może być przyczyną problemów z opanowaniem pandemii: zainfekowane przez ludzi zwierzęta mogą stanowić nowe ogniska reintrodukcji koronawirusa.

LITERATURA

- ALMENDROS A., 2020. *Can companion animals become infected with Covid-19?* Vet. Record 186, 388-389.
- CAHAN E., 2020. *COVID-19 hits US mink farms after ripping through Europe.* Science 80, doi: 10.1126/science.abe3870.
- DAMAS J., HUGHES G. M., KEOUGH K. C., PAINTER C. A., PERSKY N. S., CORBO M., HILLER M., KOEFLI K. P., PFENNING A. R. i współaut., 2020. *Broad host range of SARS-CoV-2 predicted by comparative and structural analysis of ACE2 in vertebrates.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 117, 22311-22322.
- DO VALE B., LOPES A. P., FONTES M., SILVESTRE M., CARDOSO L., COELHO A. C., 2021. *Bats, pangolins, minks and other animals - villains or victims of SARS-CoV-2?* Vet. Res. Comm. 45, 1-19.
- FENOLLAR F., MEDIANNIKOV O., MAURIN M., DEVAUX C., COLSON P., LEVASSEUR A., FOURNIER P. E.,

- RAOULT D., 2021. *Mink, SARS-CoV-2, and the human-animal interface*. Front. Microbiol. 12, doi: 10.3389/fmicb.2021.663815.
- GARIGLIANY M., VAN LAERE A. S., CLERCX C., GIET D., ESCRIOU N., HUON C., VAN DER WERF S., ELOIT M., DESMECHT D., 2020. SARS-CoV-2 natural transmission from human to cat, Belgium, March 2020. Emerg. Infect. Dis. 26, 3069-3071.
- GHEBLAWI M., WANG K., VIVEIROS A., NGUYEN Q., ZHONG J. C., TURNER A. J., RAIZADA M. K., GRANT M. B., OUDIT G. Y., 2020. Angiotensin-converting enzyme 2: SARS-CoV-2 receptor and regulator of the renin-angiotensin system: Celebrating the 20th anniversary of the discovery of ACE2. Circulation Res. 126, 1456-1474.
- GINER J., VILLANUEVA-SAZ S., TOBAJAS A. P., PÉREZ M. D., GONZÁLEZ A., VERDE M., YZUEL A., GARCÍA-GARCÍA A. i współaut., 2021. SARS-CoV-2 seroprevalence in household domestic ferrets (*Mustela putorius furo*). Animals 11, doi: 10.3390/ani11030667.
- GORAICHUK I. V., AREFIEV V., STEGNIY B. T., GERILOVICH A. P., 2021. Zoonotic and reverse zoonotic transmissibility of SARS-CoV-2. Virus Res. 302, doi: 10.1016/j.virusres.2021.198473.
- GUO H., GUO A., WANG C., YAN B., LU H., CHEN H., 2008. Expression of feline angiotensin converting enzyme 2 and its interaction with SARS-CoV S1 protein. Res. Vet. Sci. 84, 494-496.
- HUANG Y., YANG C., XU X. F., XU W., LIU S. W., 2020. Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential antiviral drug development for COVID-19. Acta Pharmacol. Sinica 41, 1141-1149.
- JO W. K., DE OLIVEIRA-FILHO E. F., RASCHE A., GREENWOOD A. D., OSTERRIEDER K., DREXLER J. F., 2020. Potential zoonotic sources of SARS-CoV-2 infections. Transbound. Emerg. Dis. 68, 1824-1834.
- KIROS M., ANDUALEM H., KIROS T., HAILEMICHAEL W., GETU S., GETENEH A., ALEMU D., ABEGAZ W. E., 2020. COVID-19 pandemic: current knowledge about the role of pets and other animals in disease transmission. Virol. J. 17, doi: 10.1186/s12985-020-01416-9.
- LEROY E. M., AR GOULH M., BRUGÈRE-PICOUX J., 2020. The risk of SARS-CoV-2 transmission to pets and other wild and domestic animals strongly mandates a one-health strategy to control the COVID-19 pandemic. One Health 10, doi: 10.1016/j.onehlt.2020.100133.
- LI X., ZAI J., ZHAO Q., NIE Q., LI Y., FOLEY B. T., CHAILLON A., 2020. Evolutionary history, potential intermediate animal host, and cross-species analyses of SARS-CoV-2. J. Med. Virol. 92, 602-611.
- LU R., ZHAO X., LI J., NIU P., YANG B., WU H., WANG W., SONG H., HUANG B., ZHU N., BI Y., MA X., ZHAN F., WANG L. i współaut., 2020. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. Lancet 395, 565-574.
- LUAN J., JIN X., LU Y., ZHANG L., 2020. SARS-CoV-2 spike protein favors ACE2 from Bovidae and Cricetidae. J. Med. Virol. 92, 1649-1656.
- MAHDY M., YOUNIS W., EWAIDA Z., 2020. An overview of SARS-CoV-2 and animal infection. Front. Vet. Sci. 7, doi: 10.3389/fvets.2020.596391.
- MARTINA B. E., HAAGMANS B. L., KUIKEN T., FOUCHIER R. A., RIMMELZWAAN G. F., VAN AMERONGEN G., PEIRIS J. S., LIM W., OSTERHAUS A. D., 2003. Virology: SARS virus infection of cats and ferrets. Nature 425, doi: 10.1038/425915a.
- MCALOOSE D., LAVERACK M., WANG L., KILLIAN M. L., CASERTA L. C., YUAN F., MITCHELL P. K., QUEEN K., MAULDIN M. R., CRON B. D., BARTLETT S. L. i współaut., 2020. From people to panthera: Natural SARS-CoV-2 infection in tigers and lions at the Bronx Zoo. mBio 11, doi: 10.1128/mBio.02220-20.
- NADEEM M. S., ZAMZAMI M. A., CHOUDHRY H., MURTAZA B. N., KAZMI I., AHMAD H., SHAKOORI A. R., 2020. Origin, potential therapeutic targets and treatment for coronavirus disease (COVID-19). Pathogens 9, doi: 10.3390/pathogens9040307.
- NEWMAN A., SMITH D., GHAI R. R., WALLACE R. M., TORCHETTI M. K., LOIACONO C., MURRELL L. S. i współaut., 2020. First reported cases of SARS-CoV-2 infection in companion animals - New York, March-April 2020. MMWR 69, 710-713.
- OIE . 2021. COVID-19 events in animals. <https://www.oie.int/en/what-we-offer/emergency-and-resilience/covid-19/>.
- ORESHKOVA N., MOLENAAR R. J., VREMAN S., HARDERS F., OUDE MUNNINK B. B., HAKZE-VAN DER HONING R. W., GERHARDS N., TOLSMA P., BOUWSTRA R. i współaut., 2020. SARS-CoV-2 infection in farmed minks, the Netherlands, April and May 2020. Euro Surveill. 25, doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.23.2001005.
- PATEL V. B., ZHONG J. C., GRANT M. B., OUDIT G. Y., 2016. Role of the ACE2/angiotensin 1-7 axis of the renin-angiotensin system in heart failure. Circulation Res. 118, 1313-1326.
- PATTERSON E. I., ELIA G., GRASSI A., GIORDANO A., DESARIO C., MEDARDO M., SMITH S. L., ANDERSON E. R., PRINCE T., PATTERSON G. T. i współaut., 2020. Evidence of exposure to SARS-CoV-2 in cats and dogs from households in Italy. Nat. Comm. 11, doi: 10.1038/s41467-020-20097-0.
- PromED-mail, 2020. COVID-19 update (557): animal, Slovenia (SA) ferret, OIE. <https://promed-mail.org/promed-post/?id=8048809>.
- RENDON-MARIN S., MARTINEZ-GUTIERREZ M., WHITTAKER G. R., JAMES J. A., RUIZ-SAENZ J., 2021. SARS CoV-2 spike protein in silico interaction with ACE2 receptors from wild and domestic species. Front. Genet. 12, doi: 10.3389/fgene.2021.571707.
- SEGALÉS J., PUIG M., RODON J., AVILA-NIETO C., CARRILLO J., CANTERO G., TERRÓN M. T., CRUZ S., PARERA M., NOGUERA-JULIÁN M. i współaut., 2020. Detection of SARS-CoV-2 in a cat owned by a COVID-19-affected patient in Spain. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 117, 24790-24793.
- SHI J., WEN Z., ZHONG G., YANG H., WANG C., HUANG B., LIU R., HE X., SHUAI L., SUN Z., ZHAO Y., LIU P., LIANG L. i współaut., 2020. Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS-coronavirus 2. Science 368, 1016-1020.
- SUN K., GU L., MA L., DUAN Y., 2021. Atlas of ACE2 gene expression reveals novel insights into transmission of SARS-CoV-2. Heliyon 7, doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e05850.
- XIAO K., ZHAI J., FENG Y., ZHOU N., ZHANG X., ZOU J. J., LI N., GUO Y., LI X., SHEN X., ZHANG Z., SHU F., HUANG W., LI Y. i współaut., 2020. Isolation of SARS-CoV-2-related coronavirus from Malayan pangolins. Nature 583, 286-289.

- ZHANG C., ZHENG W., HUANG X., BELL E. W., ZHOU X., ZHANG Y., 2020a. Protein structure and sequence reanalysis of 2019-nCoV genome refutes snakes as its intermediate host and the unique similarity between its spike protein insertions and HIV-1. *J. Proteome Res.* 19, 1351-1360.
- ZHANG Q., ZHANG H., GAO J., HUANG K., YANG Y., HUI X., HE X., LI C., GONG W., ZHANG Y., ZHAO Y., PENG C., GAO X., CHEN H., ZOU Z., SHI Z. L., JIN M., 2020b. A serological survey of SARS-CoV-2 in cat in Wuhan. *Emerg. Microbes Infect.* 9, 2013-2019.
- ZHAO X., CHEN D., SZABLA R., ZHENG M., LI G., DU P., ZHENG S., LI X., SONG C., LI R., GUO J. T., JUNOP M., ZENG H., LIN H., 2020. *Broad and differential animal angiotensin-converting enzyme 2 receptor usage by SARS-CoV-2*. *J. Virol.* 94, doi: 10.1128/JVI.00940-20.
- ZHOU P., YANG X. L., WANG X. G., HU B., ZHANG L., ZHANG W., SI H. R., ZHU Y., LI B., HUANG C. L. i współaut., 2020. *Addendum: A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin*. *Nature* 588, doi: 10.1038/s41586-020-2951-z.

KOSMOS Vol. 70, 3, 495–503, 2021

ALEKSANDRA GRABOWSKA, MONIKA ADAMCZYK-POPLAWSKA

Department of Molecular Virology, Institute of Microbiology, Faculty of Biology, University of Warsaw, Miecznikowa 1, 02-096
Warszawa, E-mail: poplawa@biol.uw.edu.pl, a.grabowsk11@student.uw.edu.pl

REVERSE ZOONOSIS – SARS-CoV-2 TRANSMISSION FROM HUMANS TO ANIMALS

Summary

The origin of SARS-CoV-2 coronavirus is the subject of debate and research, but it is clearly a zoonotic pathogen. SARS-CoV-2 most likely originated from viruses that infect bats, and acquired its ability to infect humans in a still unknown intermediate organism. The virus is responsible for a zoonosis called COVID-19, and as of December 2019, the virus is spreading between humans, causing a pandemic. Reports indicate that so-called reverse zoonosis may occur: that is, transmission of the virus from infected humans to animals. The presence of the genetic material of the virus or the presence of anti-SARS-CoV-2 antibodies has been detected in wild, farm and domestic animals. The source of infection was undoubtedly humans-infected workers, breeders, or owners. Transmission of the virus is associated with the presence of the mammalian conserved protein ACE2, which is the receptor recognized by the S protein of SARS-CoV-2 virus. The interaction between ACE2 and S is essential for infection of the target cell and initiation of the virus replication cycle. In the future, reverse zoonosis may cause problems in pandemic control: human-infected animals may represent new reservoir of coronavirus reintroduction.

Key words: domestic animals, SARS-CoV-2, wildlife, zoonosis