

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta tropického zemědělství



**Fakulta tropického
zemědělství**

Případové studie vybraných zvířecích infekcí koronavirem
SARS-CoV-2.

Bakalářská práce

Praha 2022

Vypracovala:

Dominika Komárková

Vedoucí práce:

RNDr. Jiří Černý, Ph.D.

Konzultant:

Dr. Jignesh Italiya

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Dominika Komárková

Tropické zemědělství

Název práce

Případové studie vybraných zvířecích infekcí koronavirem SARS-CoV-2

Název anglicky

Case studies of selected SARS-CoV-2 animal infections

Cíle práce

Současná pandemie onemocnění COVID-19 způsobeného koronavirem SARS-CoV-2 vede i k mnoha nálezům nejrůznějších zvířecích druhů tímto virem. Ty mohou být nebezpečné zejména kvůli odlišnému selekčnímu tlaku, který na virus toto rozdílné hostitelské prostředí vytváří a mohou tak vést k vzniku nových mutací s odlišnými biologickými vlastnostmi. Dále může dojít k ohrožení živočišné produkce, snížení welfare nakažených zvířat nebo v případě málo početných druhů i k ohrožení existence tohoto druhu.

Cílem této práce je popsat vybrané případy infekce nejrůznějších zvířat koronavirem SARS-CoV-2. Charakterizovat průběh infekce, její patologii a podobně. Dále, pokud bude dostupná genetická sekvence virů vyizolovaných z těchto zvířat, zhodnotit mutace, které se zde nově vyskytly a jejich potencionální vlastnosti na biologii viru.

Metodika

Informace o průběhu infekce budou získávány z odborné literatury vyhledávané za použití vhodných klíčových slov v databázích PubMed a Web of Science. Dále budou získávány z internetových stránek relevantních institucí jako jsou OIE (World Organization for Animal Health) apod. nebo od veterinářů pečujících o takto nakažená zvířata.

Sekvence koronaviru SARS-CoV-2 budou získány z databáze EpiCov (provozované iniciativou GISAID) nebo z databáze GenBank (provozování NIH). Nejbližší příbuzné sekvence budou hledány za využití programu BLAST. Alignmenty vybraných sekvencí budou vytvářeny za použití programů MAFFT, MUSCLE nebo podobných. Potencionální vlastnosti nově objevených mutací budou posouzeny na základě jejich schody nebo blízkosti s již známými mutacemi.

Doporučený rozsah práce

30 normostran

Klíčová slova

SARS-CoV-2, zvířata, reverzní zoonózy, pandemie, epizoonózy

Doporučené zdroje informací

Ahmed S Abdel-Moneim, Elsayed M Abdelwhab: Evidence for SARS-CoV-2 Infection of Animal Hosts. Pathogens. 2020 Jun 30;9(7):529. doi: 10.3390/pathogens9070529.

Elaswad A, Fawzy M, Basiouni S, Shehata AA.: Mutational spectra of SARS-CoV-2 isolated from animals. PeerJ. 2020 Dec 18;8:e10609. doi: 10.7717/peerj.10609. eCollection 2020.

Mohamed A A Mahdy, Waleed Younis, Zamzam Ewaida: An Overview of SARS-CoV-2 and Animal Infection. Front Vet Sci. 2020 Dec 11;7:596391. doi: 10.3389/fvets.2020.596391. eCollection 2020.

Ruchi Tiwari, Kuldeep Dhama, Khan Sharun, Mohd Iqbal Yatoo, Yashpal Singh Malik, Rajendra Singh, Izabela Michalak, Ranjit Sah, D Katterine Bonilla-Aldana, Alfonso J Rodriguez-Morales: COVID-19: animals, veterinary and zoonotic links. . 2020 Dec;40(1):169-182. doi: 10.1080/01652176.2020.1766725.

Předběžný termín obhajoby

LS 2021/22 – FTZ

Vedoucí práce

RNDr. Jiří Černý, Ph.D.

Garantující pracoviště

Katedra chovu zvířat a potravinářství v tropech

Konzultant

Jignesh Italyia

Elektronicky schváleno dne 6. 4. 2022

doc. Francisco Ceacero Herrador, Ph.D.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 8. 4. 2022

prof. dr. ir. Patrick Van Damme

Děkan

V Praze dne 14. 04. 2022

Prohlášení

Čestně prohlašuji, že jsem tuto práci na téma Případové studie vybraných zvířecích infekcí koronavirem SARS-CoV-2 vypracovala samostatně, veškerý text je v práci původní a originální a všechny použité literární prameny jsem podle pravidel Citační normy FTZ řádně uvedla v referencích.

V Praze dne 15.4.2022

.....
Dominika Komárková

Poděkování

Ráda bych touto cestou vyjádřila obrovské poděkování RNDr. Jiří Černý, Ph.D za odborné vedení, cenné rady, trpělivost a neobyčejně přátelský přístup. Rovněž bych chtěla poděkovat Dr. Jignesh Italiya za vstřícnou pomoc při získávání potřebných informací a podkladů. Poděkování patří také kolegům ze Státního zdravotního ústavu a Matematicko-fyzikální fakulty v Praze za pomoc a cenné rady při zpracování statistické analýzy. Děkuji také svým přátelům a spolužákům, kteří mi byli po celou dobu studia velkou oporou a učinili pro mě tato léta výjimečnými. V neposlední řadě patří mé velké díky rodině za poskytnuté vzdělání a nepomíjející podporu v průběhu celého studia.

Abstrakt

Případové studie vybraných zvířecích infekcí koronavirem SARS-CoV-2

Současná pandemie onemocnění COVID-19 způsobená infekcí koronavirem SARS-CoV-2 vede i k mnoha nálezům nejrůznějších zvířecích druhů tímto virem. Ty mohou být nebezpečné zejména kvůli odlišnému selekčnímu tlaku, který na virus toto hostitelské prostředí vytváří. Podle epidemiologických teorií jsou hlavním hostitelem koronaviru SARS-CoV-2 v současné době lidé, nicméně zvýšená obliba domácích a společenských zvířat ve spojení s vysokou hostitelskou plasticitou tohoto viru napomáhá vzniku nových zvířecích rezervoárů. Tato práce uvádí souhrn informací o studiích popisujících permissivní a rezistentní druhy zvířat k infekci SARS-CoV-2, charakterizuje průběh infekce a její patologii. V návaznosti na vývoj pandemie evidujeme studie popisující interakce mezi lidmi a zvířaty spojené se zoonotickým přenosem SARS-CoV-2. Prostřednictvím databáze EpiCoV provozované iniciativou GISAID jsem shromáždila nukleotidové sekvence SARS-CoV-2 a další metadata o viru a jeho hostiteli. Podle vzájemných evolučních vztahů se jednotlivé kmeny SARS-CoV-2 dají rozdělit do takzvaných „GISAID clades“. Na základě těchto dat o všech známých infekcích SARS-CoV-2 u různých druhů zvířat jsem zjišťovala za pomoci Poissonova regresivního modelu, zdali se u zvířat statisticky častěji vyskytuje nějaký specifický kmen SARS-CoV-2, než by odpovídalo zastoupení tohoto kmene v lidské populaci. To by mohlo ukazovat na fakt, že daný kmen je snáze přenosný na daný druh zvířecího hostitele. Statistickým šetřením bylo potvrzeno, že některé specifické kmeny SARS-CoV-2 jsou skutečně na některé druhy zvířat přenášeny statisticky častěji, než v daném okamžiku u lidské populace.

Klíčová slova: SARS-CoV-2, koronavirus, COVID-19, zvířecí modely, reverzní zoonózy, pandemie, epizoonózy, virus, přenos

Author's abstract

Case studies of selected SARS-CoV-2 animal infections

The current pandemic of COVID-19 disease caused by infection with SARS-CoV-2 coronavirus has also led to many infections of various animal species with this virus. These can be particularly dangerous because of the different selection pressures that the host environment places on the virus. According to epidemiological theories, humans are currently the main hosts of SARS-CoV-2, but the increased popularity of domestic and companion animals, coupled with the high host plasticity of the virus, is facilitating the emergence of new animal reservoirs. This work summarizes information on studies describing permissive and resistant animal species to SARS-CoV-2 infection and characterizes the course of infection and its pathology. Following the evolution of the pandemic, we report studies describing human-animal interactions associated with zoonotic transmission SARS-CoV-2. I collected SARS-CoV-2 nucleotide sequences and other metadata about the virus and its host through the EpiCoV database operated by the GISAID initiative. Then, I classified strains according to their evolutionary relationships with each other SARS-CoV-2 into so-called “GISAID clades”. I used a Poisson regression model on these data describing all known SARS-CoV-2 infections in different animal species to determine whether some specific strains of SARS-CoV-2 are statistically more likely to occur in some animal species than in the human population at a given point in time, which could indicate potential adaptation of this SARS-CoV-2 to that animal species. Statistical investigation has confirmed that some specific strains SARS-CoV-2 are indeed transmitted to some species of animals at a statistically higher frequency than in the human population at any given time.

Key words: SARS-CoV-2, coronavirus, COVID-19, animal models, reverse zoonoses, pandemics, epidemics, virus, transmission

Obsah

1. Úvod	- 1 -
2. Cíle literární rešerše	- 2 -
3. Literární rešerše	- 3 -
3.1 Zoonotické patogeny.....	- 3 -
3.1.1 Historicky známé zoonózy	- 3 -
3.1.2 Faktory ovlivňující vznik zoonóz	- 4 -
3.1.3 Pandemické vlastnosti zoonotických virů	- 5 -
3.1.4 Zoonotické koronaviry	- 6 -
3.1.5 Mechanismy vstupu SARS-CoV-2 do hostitelských buněk.....	- 8 -
3.1.6 Struktura S proteinu.....	- 9 -
3.1.7 Proces vstupu SARS-CoV-2 do hostitelské buňky.....	- 11 -
3.1.8 Molekulární interakce mezi proteinem S a ACE2.....	- 12 -
3.1.9 Rekombinace SARS-CoV-2	- 13 -
3.2 Infekce SARS-CoV-2 u vybraných druhů zvířat	- 14 -
3.2.1 Infekce SARS-CoV-2 u koček	- 14 -
3.2.2 Infekce SARS-CoV-2 u psů	- 16 -
3.2.3 Infekce SARS-CoV-2 u zajícovitých druhů	- 17 -
3.2.4 Infekce SARS-CoV-2 u lasicovitých druhů	- 18 -
3.2.5 Infekce SARS-CoV-2 u dalších šelem	- 20 -
3.2.6 Infekce SARS-CoV-2 u jelenovitých	- 21 -
3.2.7 Infekce SARS-CoV-2 u ostatních druhů zvířat	- 22 -
3.3 Adaptace SARS-CoV-2 na nového hostitele	- 23 -
3.3.1 Mechanismus adaptace viru na nového hostitele	- 23 -
4. Cíle praktické části	- 26 -
5. Materiál	- 27 -
6. Metodika	- 27 -
6.1 Získávání podkladů pro literární rešerši.....	- 27 -
6.2 Získávání a zpracování sekvencí SARS-CoV-2	- 27 -
6.3 Zpracování statistické analýzy	- 28 -
7. Výsledky	- 29 -
8. Diskuse	- 34 -
9. Závěr	- 36 -
10. Reference	- 37 -

Seznam obrázků a grafů:

Obrázek 1: Fylogenetický a genomický přehled SARS-CoV-2	- 7 -
Obrázek 2: Struktura viru SARS-CoV-2	- 10 -
Obrázek 3: Možný původ SARS-CoV-2	- 13 -
Obrázek 4: Databáze EpiCoV provozovaná iniciativou GISAID	- 28 -
Graf 1: Nejčastější kmeny SARS-CoV-2 u kočky domácí	- 30 -
Graf 2: Nejčastější kmeny SARS-CoV-2 u psa	- 31 -
Graf 3: Nejčastější kmeny SARS-CoV-2 u lva pustinného	- 31 -
Graf 4: Nejčastější kmeny SARS-CoV-2 u norka amerického	- 32 -
Graf 5: Nejčastější kmeny SARS-CoV-2 u jelence běloocasého	- 33 -

Seznam tabulek:

Tabulka 1: Počet získaných zvířecích metadat	- 29 -
---	--------

Seznam zkratek použitých v práci:

ACE	Angiotensin konvertující enzym
ACE2	Angiotensin konvertující enzym 2
Arg319	Arginin v pozici 319 (klíčová oblast proteinu S)
BANAL	Kmen SARS-CoV-2
BWCoV-SW1	Koronavirus kytovců SW1
CD	Spojovací doména
CoV	Koronavirus
CoV-HKU19	Koronavirus volavek
CoV-HKU20	Koronavirus holubů
COVID-19	Koronavirové onemocnění 2019
CT	Cytoplazmatický ocásek
CTD1, CTD2	C-Terminální domény
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
E protein	Obalový protein
FIPV	Virus infekční peritonitidy koček
FP	Fúzní peptid
FPPR	Proximální oblast fúzního peptidu
hACE2	Lidský angiotensin konvertující enzym 2
HCoV-229E	Lidský koronavirus-229E
HCoV-HKU1	Lidský koronavirus-HKU1
HCoV-NL63	Lidský koronavirus-NL63
HCoV-OC43	Lidský koronavirus-OC43
HR1, HR2	Heptadové repetice
CH	Centrální šroubovice
M protein	Membránový protein

MERS-CoV	Koronavirus způsobující blízkovýchodní respirační syndrom
MERS	Blízkovýchodní respirační syndrom
MRSA	Methicillin-rezistentní zlatý stafylokok
Např.	Například
N protein	Nukleokapsidový protein
Nsp	Nestrukturální proteiny
NTD	N-Terminální doména
PCR	Polymerázová řetězová reakce
PEDV	Virus prasečího průjmu
Phe541	Fenylalanin v pozici 541 (klíčová oblast proteinu S)
RBD	Doména vázající receptor
RNA	Ribonukleová kyselina
RT-PCR	Polymerázová řetězová reakce s reverzní transkripcí
RTC	Replikačně-transkripční komplex
S protein	Spike (hrotový) protein
S1, S2	Funkční podjednotky glykoproteinu
SARS-CoV	Koronavirus způsobující těžký akutní respirační syndrom
SARS	Těžký akutní respirační syndrom
SARS-CoV-2	Koronavirus způsobující těžký akutní respirační syndrom 2
TM	Transmembránový segment
TMPRSS2	Transmembránová serinová proteáza 2
USA	Spojené státy americké
WHO	Světová zdravotnická organizace

1. Úvod

SARS-CoV-2 je vysoce přenosný a patogenní koronavirus, který se poprvé objevil v čínském Wu-chanu v prosinci 2019 a způsobil celosvětovou pandemii respiračního onemocnění nazvaného COVID-19 (Hu et al. 2020). Z taxonomického hlediska se SARS-CoV-2 řadí do podrodu *Sarbecovirus*, rodu *Betakoronavirus* čeledi Coronaviridae a řádu Nidovirales. Genom koronaviru SARS-CoV-2 je tvořen jednou jednovláknovou molekulou RNA pozitivní polarity obdobně jako u jeho příbuzných SARS-CoV a MERS-CoV, což jsou původci onemocnění SARS a MERS (Ludwig & Zarbock 2020). Virion SARS-CoV-2 se skládá ze čtyř hlavních strukturních proteinů: hrotového (S), membránového (M), nukleokapsidového (N) a obalového (E) proteinu (Yu et al. 2021). Primárním receptorem pro SARS-CoV-2 u lidí a několika živočišných druhů je angiotensin-konvertující enzym-2 známý pod zkratkou ACE2 (Hoffmann et al. 2020). Protein S (známý také pod anglickým názvem spike protein) na povrchu SARS-CoV-2 rozpoznává ACE2 jako buněčný receptor a zprostředkovává spojení virové a hostitelské buněčné membrány během infekce (Yan et al. 2021). Doména vázající receptor (RBD) virového obalového proteinu S se váže na ACE2, nezávisle na jeho katalytickém enzymatickém místě. Protein S v SARS-CoV-2 má klíčovou roli ve virové infekci a patogenezí. Skládá ze dvou podjednotek, podjednotka S1 obsahuje receptorovou vazebnou doménu, která se spojuje s receptorem hostitelské buňky ACE2, zatímco podjednotka S2 zprostředkovává fúzi mezi virovým obalem a membránou hostitelské buňky (Korath et al. 2022).

SARS-CoV-2 má zoonotický původ, přičemž sekvence nejbližšího známého viru, která je v současné době k dispozici pochází od vrápenců (*Rhinolophidae*) z jeskyní severního Laosu. Dosud nejbližší příbuzným virem SARS-CoV-2 se staly kmeny BANAL-52, BANAL-103 a BANAL-236, jejichž genomická podobnost je doposud nejbližší pandemickému SARS-CoV-2. Sekvence proteinu S, která váže ACE2 je shodná s těmito netopýřními koronaviry na více než 95 procent (Temmam et al. 2022). Několik nových betakoronavirů příbuzných se SARS-CoV-2 bylo také detekováno u malajských luskounů (*Manis javanica*), kteří byli nelegálně převezeni do provincií v jižní Číně (Zhang et al. 2020). Koronaviry luskounů jsou velmi podobné ve vztahu k SARS-CoV-2 zejména v doméně proteinu S vázající receptor, včetně aminokyselinových zbytků, u kterých se předpokládá, že zprostředkovávají vazbu na ACE2 (Xiao et al. 2020). Je proto možné, že i luskouni hrají svou roli ve vývoji SARS-CoV-2 (Zhou et al. 2020). Je velmi pravděpodobné, že SARS-CoV-2 může mít široké spektrum hostitelů. Kromě potvrzených případů o přelévání SARS-CoV-2 mezi zvířaty a lidmi na farmách s norky v Nizozemsku, bylo také zjištěno, že domácí kočky a psi, stejně jako třeba tygři, lvi nebo další šelmy v zoologických zahradách, byli přirozeně infikováni SARS-CoV-2 od lidí (Michelitsch et al. 2021). Doposud však neexistuje žádný důkaz, že mohou infikovat lidi (Zhou & Shi 2021). Většina zvířat infikovaných SARS-CoV-2 nevykazuje zjevné klinické symptomy a infekce je tak bez laboratorní analýzy nerozpoznatelná. Do dnešního dne existují pouze omezené důkazy o přenosu SARS-CoV-2 ze zvířete na člověka s výjimkou norka (Koley et al. 2021) a jelence běloocasého (Kuchipudi et al. 2022). Nabízí se tedy otázka, zda se u zvířat statisticky častěji vyskytuje nějaký specifický kmen SARS-CoV-2, abychom snáze předpověděli potenciální hostitelský rozsah, který by mohl virus udržovat a představovat riziko budoucího zpětného šíření na člověka.

2. Cíle literární rešerše

- Shrnout poznatky o infekci SARS-CoV-2 u různých druhů zvířat.
- Specifikovat možné genetické adaptace SARS-CoV-2.
- Vyhodnotit rizikové faktory oboustranného přenosu SARS-CoV-2 mezi lidmi a zvířaty.

3. Literární rešerše

3.1 Zoonotické patogeny

3.1.1 Historicky známé zoonózy

Podle Světové zdravotnické organizace (WHO) je jako zoonóza klasifikována každá infekční nemoc nebo i infekce bez klinických příznaků, která je přirozeně přenosná z obratlovců na člověka nebo z člověka na zvíře (World Health Organization. 2020). Je známo, že za zoonózy jsou zodpovědné jak DNA, tak RNA viry, avšak ve srovnání s DNA viry jsou RNA viry se zoonózami spojovány častěji (Bae & Son 2011). Patogeny mohou být ze zvířat přenášeny přímo nebo nepřímo. Infekce přenášené přímo ze zvířat prostřednictvím médií, jako je například vzduch, se označují jako přímo přenášené zoonózy (Mortimer 2019). Jedním z klasických příkladů přímých zoonóz je ptačí chřipka způsobená virem z čeledi *Orthomyxoviridae*, což je infekční agens, který může zapříčinit virové onemocnění, které se může dále šířit ze zvířat na člověka kapénkami nebo fomity (Huang et al. 2019). Fomitem se rozumí neživé předměty, které můžeme také nazvat pasivními přenašeči, kteří mohou přenášet a šířit nemoci nebo infekční agens (Lois Zoppi 2021). Infikovaná zvířata mohou také přímo přenášet patogeny na vnímavé lidi prostřednictvím kousnutí, jako je tomu v případě vztekliny, která je jednou z nejmrtelnějších zoonóz. Způsobuje ji virus vztekliny, který spadá do čeledi *Rhabdoviridae* (Huang et al. 2019). V mnoha případech může přenos onemocnění či infekce vyžadovat více než jednoho hostitele. Mezi hostitele mohou patřit jak volně žijící, tak domestikovaná zvířata, přičemž některá z nich vedou k zoonózám přenášeným potravinami (Goel 2015). Domácí zvířata hrají významnou roli při přenosu různých nemocí na člověka a v mnoha případech fungují jako šířitelé patogenů, které se vyskytují u volně žijících zvířat (Morand et al. 2014).

3.1.2 Faktory ovlivňující vznik zoonóz

Nově se objevující (emergentní) zoonóza je zoonóza, která je nově rozpoznána, nově se vyvinula nebo se vyskytovala již dříve, ale vykazuje zvýšený výskyt nebo geografické rozšíření (Rahman et al. 2020). Za posledních 70 let bylo na seznam nově se objevujících zoonóz zařazeno nejméně 250 zoonóz. Některá tato onemocnění se rychle rozšířila po celém světě a jejich výskyt se zvyšuje spolu s geografickým rozsahem (Grace et al. 2012). Člověk je postižen v důsledku úzkého kontaktu se zvířaty, která fungují jako rezervoáry pro nově se objevující a znovu se objevující (reemergentní) zoonózy (Woolhouse & Gowtage-Sequeria 2005). Mezi spouštěcí faktory vzniku zoonóz se řadí zvýšený kontakt nebo interakce mezi člověkem a zvířetem v důsledku změn v chování lidí a zvířat, životního prostředí, ekologie, biologie vektorů, adaptability patogenů, změny zemědělských postupů, systémů živočišné výroby, bezpečnosti potravin, urbanizace, odlesňování a změny klimatu (Lindahl & Grace 2015). Je známo, že velká část majitelů domácích zvířat pouští své mazlíčky do ložnic, což také může vést ke zvýšenému výskytu zoonóz (Chomel & Sun 2011). V posledních desetiletích se počet domácích zvířat a zvířat v zájmových chovech rapidně zvýšil (Halsby et al. 2014). Zvýšená obliba domácích a společenských zvířat, změna stravovacích návyků, růst a pohyb populace, celosvětový obchod s potravinami, změny v systémech výroby potravin, změna klimatu, pronikání člověka do před tím neobydlených oblastí (deforestace), zvýšená informovanost a lepší diagnostické nástroje (Broglia & Kapel 2011) jsou některé z hlavních faktorů, které hrají svou roli v oblasti lidského zdraví vzhledem k možnému šíření infekcí. V mnoha domácnostech se dnes vedle běžných domácích zvířat chovají i zvířata exotických druhů. Obrovské množství lidí je proto vystaveno riziku nákazy od domácích mazlíčků, společenských a exotických zvířat novou zoonózou (Halsby et al. 2014). Volně žijící zvířata mohou působit jako zdroj nebo rezervoár pro nově se objevující a znovu se objevující patogeny zoonóz (Kruse et al. 2004). Když jsou volně žijící zvířata úzce propojena s lidmi, domestikovanými zvířaty a složkami životního prostředí, přímo přispívají k přenosu a udržování různých infekčních onemocnění (Thompson & Polley 2014). Globalizace, ničení biotopů, klimatické změny, úbytek druhů a biodiverzity narušují ekologické vztahy mezi složkami jednoho zdraví, což v konečném důsledku vyvolává vznik zoonotických patogenů a způsobuje změny ve způsobech jejich přenosu (Akter et al. 2020).

Patogeny přenášené volně žijícími zvířaty mohou mít dopad na zdraví lidí a zvířat, snižovat zemědělskou produkci nebo fungovat jako další stresor volně žijících zvířat (Bengis et al. 2004). Zapojení volně žijících zvířat do epidemiologie a přenosu zoonóz je alarmující. Způsoby přenosu zoonóz z volně žijících zvířat jsou ovlivněny povahou příslušného patogenu a klimatickými parametry, jako je teplota, vlhkost a srážky (Kruse et al. 2004). Vznik a opěťovaný výskyt těchto patogenů závisí na způsobech jejich přenosu mezi volně žijícími zvířaty, domácími zvířaty a lidmi. Mezi faktory, které tyto procesy ovlivňují se řadí rychlý nárůst lidské populace, snadné místní i celosvětové cestování, zvýšená expozice lidí vůči zvířatům a živočišným produktům, chov volně žijících zvířat, lov, manipulace a přeprava volně žijících zvířat s omezenými bezpečnostními opatřeními, dále pak konzumace masa volně žijících zvířat a rozdíly v zemědělských postupech (Rahman et al. 2020). V mnoha případech fungují volně žijící zvířata jako rezervoáry původců zoonotických onemocnění, kteří mohou zůstat dlouho neaktivní, dokud se nespustí. Přítomnost původců v neobvyklých hostitelích může někdy zvýšit pravděpodobnost chyb v procesu replikace RNA, které mohou vést k mutacím. To může vést ke vzniku nových kmenů nebo druhů, které mohou být virulentnější a odolnější (Cupertino et al. 2020). Mezi hlavní nově se objevující zoonózy se řadí například ptací chřipka, bovinní spongiformní encefalopatie, kočičí neštovice, rotavirové infekce, norovirové infekce, západonilská horečka, nemoc z kočičího škrábnutí, infekce MRSA, těžký akutní respirační syndrom SARS a MERS a nejnověji COVID-19 koronavirové onemocnění způsobené infekcí SARS-CoV-2 (Rahman et al. 2020).

3.1.3 Pandemické vlastnosti zoonotických virů

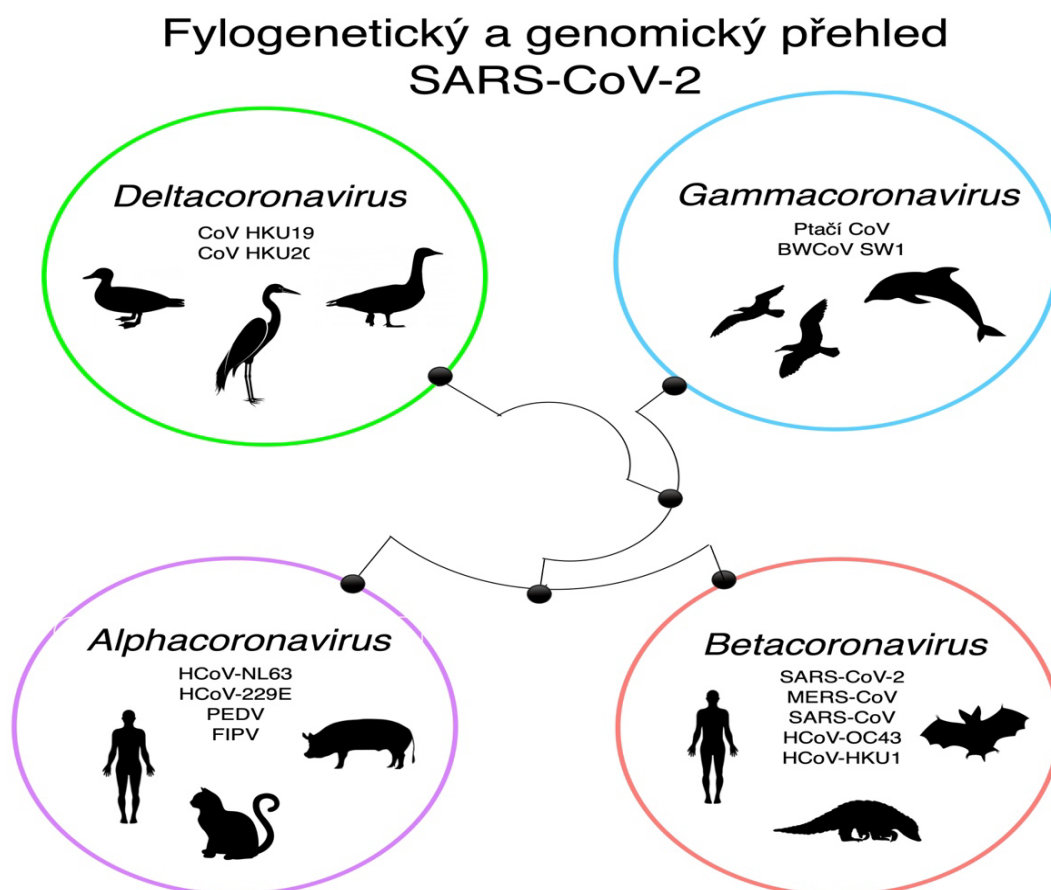
Nedávný výskyt a šíření zoonotických virů v lidské populaci, ukazuje, že viry pocházející ze zvířat představují pro celosvětové veřejné zdraví velmi reálnou hrozbu (Grange et al. 2021). Studie zaměřené na objevování virů odhalily statisíce nových zvířecích virů s neznámým zoonotickým rizikem (Edgar et al. 2022). Je známo něco přes 250 zoonotických virů, které se dříve přenesly ze zvířat na lidi a způsobily u nich onemocnění (Mollentze & Streicker 2020). Předpokládá se, že u savců a ptáků existuje přibližně 1,67 milionu nepopsaných virů, z nichž až polovina má podle odhadů potenciál přenosu na člověka (Carroll et al. 2018).

Volně žijící zvířata byla označena za zdroj přenosu onemocnění na člověka u naprosté většiny zoonotických virů, což dále potvrzuje, že rozmanitost volně žijících zvířat na naší planetě poskytuje bohatý zdroj virů, z nichž se část úspěšně adaptovala k infikování člověka. Vysoká hostitelská plasticita některých virů je důležitým znakem, který předpovídá pandemický potenciál virů v zoonotickém fondu, a to nejen proto, že široký hostitelský rozsah byl běžný mezi viry, které se přenesly ze zvířat na člověka, ale také proto, že tento znak byl spojen se zvýšeným přenosem z člověka na člověka s šířením v globálním měřítku (Woolhouse & Gowtage-Sequeria 2005). Lidské praktiky usnadňují zvýšený kontakt mezi taxonomicky různorodými zvířecími hostiteli a přirozený výběr virů s vysokou hostitelskou plasticitou. Zoonotické viry zaznamenané u domácích zvířat mají výrazně širší hostitelský rozsah než viry, které nejsou sdíleny domestikovanými druhy. Zvýšená hostitelská plasticita mezi viry sdílenými domácími zvířaty podporuje koncept, že chov a držení domestikovaných druhů v pravidelném těsném kontaktu s lidmi po staletí umožnil evoluční adaptivní selekci RNA virů náchylným k mutacím, které jsou schopny mezidruhového přenosu (Wolfe et al. 2007). Různorodé druhy volně žijících zvířat, která jsou držena v zoologických zahradách, rezervacích, chovaná jako domácí zvířata nebo prodávaná na trzích, jsou rovněž vystavena okolnostem, které usnadňují mezidruhový přenos virů prostřednictvím těsného kontaktu, zejména v případě zoonotických virů, které jsou již adaptovány na přenos mezi domestikovanými zvířaty (Kreuder Johnson et al. 2015). V současné době lze na základě retrospektivních epidemiologických údajů s jistotou tvrdit, že jeden z největších emergentních zoonotických potenciálů mají betakoronaviry, jako jsou SARS-CoV, MERS-CoV a SARS-CoV-2 (Sun et al. 2020).

3.1.4 Zoonotické koronaviry

Koronaviry jsou obalené viry z čeledi Coronaviridae řádu Nidovirales, jejichž genom tvoří jedna jednořetězcová molekula RNA pozitivní polarity (Li et al. 2020). Rozdělujeme je do dvou podčeledí, Letovirinae a Orthocoronavirinae. V rámci Orthocoronavirinae rozlišujeme čtyři rody: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* a *Deltacoronavirus*.

Přítom alfakoronaviry a betakoronaviry se vyskytují u savců, zatímco gamakoronaviry a deltakoronaviry zejména u ptáků (Woo et al. 2010), ačkoliv *gamakoronaviry* infikují také některé kytovce, včetně velryb běluh a delfinů skákavých (viz **Obrázek 1**) (Woo et al. 2014).



Obrázek 1: Fylogenetický a genomický přehled SARS-CoV-2 (upraveno dle Singh & Yi 2021)

Samotný název koronavirus vychází ze vzhledu virionu a odkazuje na bílkovinné hroty na jeho povrchu, které pod elektronovým mikroskopem připomínají korunu (podle latinského názvu “corona”) (Zhao et al. 2020). Nejvíce charakteristickým znakem koronavirů je velikost genomu, neboť je největší mezi všemi RNA viry (Mousavizadeh & Ghasemi 2020). Vedlejší proteiny se od hlavních strukturních proteinů (S, M, N, E) i nestrukturních (kódovaných geny ORF1a a ORF1ab) u jednotlivých koronavirů odlišují, a to i v rámci stejného klanu, a plní různé funkce včetně antagonismu hostitelské odpovědi po infekci (Liu et al. 2014; Yu et al. 2021).

Prvním známým koronavirem se stal virus infekční bronchitidy, který byl izolován z kuřecích embryí v roce 1937 (Cunningham & Stuart 1947), spolu s následnými izolacemi různých koronavirů u hlodavců, domácích zvířat a lidí (Zhao et al. 2020). Byly popsány studie o koronavirech, které způsobují respirační onemocnění u mnoha druhů zvířat, včetně potkanů, myší, kuřat, krůt, telat, psů, koček, králíků a prasat. Na základě obrovské rozmanitosti zvířecích koronavirů se dal očekávat brzký přenos viru na nový hostitelský druh a následný přenos na lidskou populaci (Kahn & McIntosh 2005). Dříve se koronaviry považovaly za relativně neškodné respirační patogeny. Změna nastala při výskytu závažných infekcí způsobených koronaviry SARS-CoV a MERS-CoV, které způsobily vysokou patogenitu a úmrtnost. To přitáhlo celosvětovou pozornost ke koronavirům (Song et al. 2019). Následný výskyt SARS-CoV-2 vedl ke globálnímu rozšíření a nákaze mnoha lidí i různým druhům zvířat, které teď mohou sloužit jako potencionální rezervoáry a ohrožovat dlouhodobé úsilí o kontrolu nad tímto virem (Fischhoff et al. 2021). Hlavním problémem při takovém sekundárním přelévání je výskyt mutantního kmene, který ovlivňuje rozsah hostitelů (Rodrigues et al. 2020) nebo vede ke zvýšené přenosnosti (Davies et al. 2021) a snížené citlivosti na neutralizační protilátky (Fischhoff et al. 2021).

3.1.5 Mechanismy vstupu SARS-CoV-2 do hostitelských buněk

Při vstupu do buněk spoléhá SARS-CoV-2 na svůj receptor a ACE2 (Shang et al. 2020). Vytvoření stabilního vazebného rozhraní mezi receptorovou vazebnou doménou (RBD) proteinu SARS-CoV-2, S proteinem a ACE2 hostitele je klíčové pro vstup viru do buňky (Nelson-Sathi et al. 2022). Obalový protein S na zralém virionu se skládá ze dvou nekovalentně asociovaných podjednotek. Podjednotka S1 se váže na ACE2 a podjednotka S2 ukotvuje protein S k membráně. Podjednotka S2 také zahrnuje fúzní peptid nezbytný pro zprostředkování membránové fúze po infekci nové hostitelské buňky (Jackson et al. 2021).

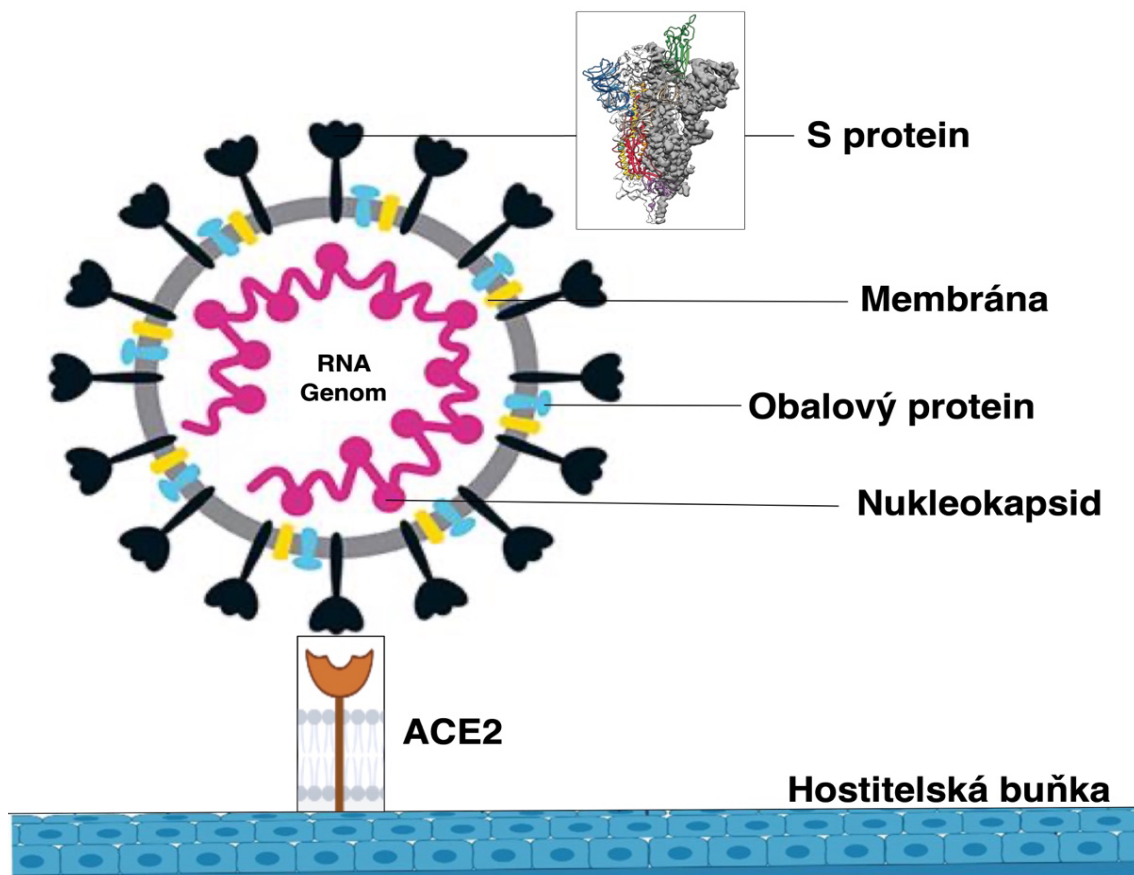
Reprodukce viru SARS-CoV-2 začíná interakcí mezi proteinem S a receptorem ACE2, která umožňuje připojení viru k hostitelské buňce. Následně může dojít ke vstupu viru endocytózou nebo splynutím virové a buněčné membrány. Dochází ke snížení pH (5,5) endocytární vakuoly vedoucí k drastické rekonfiguraci endosomu na lyzozom. V době, kdy je pH dostatečně nízké dojde ke štěpení v místě S2 a následné fúzi membrán.

Jakmile se virus dostane dovnitř, začne se překládat virová RNA za účelem produkce proteinů. Tyto proteiny následně podléhají proteolýze za vzniku nestrukturálních proteinů (Nsp), které se následně zkompletují za vzniku komplexu replikáza-transkriptáza (RTC). RTC má na starosti syntézu virové RNA (Lardone et al. 2021). Přeložené strukturní proteiny se přemísťují do membrán endoplazmatického retikula a procházejí meziprostorem ER-Golgiho, kde interakce s N-kapsidovanou, nově vytvořenou genomickou RNA vede k pučení do lumen sekrečních vezikulárních kompartmentů (V'kovski et al. 2020). Na konci procesu dochází ke štěpení virové částice a virus je uvolněn exocytózou (Lardone et al. 2021). Bylo prokázáno, že RBD během pandemie často mutuje. Ačkoliv několik mutací RBD vykazuje zvýšenou rychlost přenosu, což vede ke vzniku nových variant, které vzbuzují obavy, většina mutací RBD vykazuje neměnou vazbu na ACE2 a infekčnost viru. Zůstává však neobjasněno, jak všechny tyto mutace způsobují, že vazebné rozhraní je pro virus SARS-CoV-2 stále příznivé (Nelson-Sathi et al. 2022).

3.1.6 Struktura S proteinu

SARS-CoV-2 má čtyři strukturní a šestnáct nestrukturálních proteinů, které jsou důležité pro replikaci a šíření viru. Mezi nestrukturální proteiny se řadí Nsp 1-16, zatímco mezi strukturní proteiny patří membránový protein (M-protein), obalový protein (E-protein), nukleokapsidový protein (N-protein) a protein hrotu (S-protein) (viz **Obrázek 2**) (Gordon et al. 2020). Monomerní glykosylovaný S protein SARS-CoV-2 se ve virových membránách vyskytuje ve formě trimeru (Watanabe et al. 2020) a je zodpovědný za vstup viru do organismu (Nelson-Sathi et al. 2022). Glykoprotein hrotu SARS-CoV-2 je ukotvený k virové membráně transmembránovým segmentem a zároveň zdobí povrch virionu svou velkou ektodoménou. Váže se na receptor ACE2 na hostitelské buňce a prochází rozsáhlými strukturními změnami, které podporují fúzi membrán (Hoffmann et al. 2020). Protein je silně glykosylovaný, každý protomer obsahuje 22 N-vázaných glykosylačních míst (Watanabe et al. 2020). Tento homo-trimerní transmembránový protein je bipartitní a skládá se z podjednotek S1 a S2 (Walls et al. 2020).

STRUKTURA SARS-CoV-2



Obrázek 2: Struktura viru SARS-CoV-2 (upraveno dle Yang et al. 2020; Cascella et al. 2022)

Fragment S1 lze dále rozdělit na N-terminální doménu (NTD), doménu vázající receptor (RBD) a C-terminální domény (CTD1 a CTD2). Zatímco fragment S2 zahrnuje fúzní peptid (FP), proximální oblast fúzního peptidu (FPPR), heptadovou repetici 1 (HR1), centrální šroubovici (CH), spojovací doménu (CD), heptadovou repetici 2 (HR2), transmembránový segment (TM) a cytoplazmatický ocásek (CT) (Zhang et al. 2021). Virus využívá podjednotky S1 a S2 k vazbě na hostitelskou buňku a ke spojení s její membránou (Shang et al. 2020). V prefuzní konformaci se podjednotka S1 složí do čtyř proteinových domén ve tvaru písmene “V“ s NTD na jednom rameni a RBD, CTD1 a CTD2 na druhém rameni (Zhang et al. 2021) a obalí se kolem prefuzní podjednotky S2, která tvoří centrální helikální svazek ohýbající se zpět směrem k virové membráně (Jackson et al. 2021). Tři RBD utvářejí vrchol trimeru S, přičemž vzorkují dvě odlišné konformace “nahoru“, což představuje stav přístupný receptoru, a “dolů“, což představuje stav nepřístupný receptoru (Zhang et al. 2021).

V postfúzním stavu vedou konformační změny k odpojení podjednotky S1 od S2 a pravděpodobně k její disociaci od S2 (Jackson et al. 2021). Strukturní biologie proteinu S SARS-CoV-2 od počátečního vypuknutí COVID-19 velmi rychle pokročila. Struktury fragmentů proteinu S byly stanoveny buď kryo-elektronovou mikroskopií nebo rentgenovou krystalografií (Zhang et al. 2021). Takto získané struktury jsou do značné míry ve vzájemné shodě a odhalují jak celkovou strukturu, tak atomové detaily proteinu (Jackson et al. 2021). Celkově lze říci, že struktura proteinu S viru SARS-CoV-2 vykazuje mnoho podobností se strukturami proteinů hrotu jiných koronaviřů (Yuan et al. 2017; Li et al. 2019).

3.1.7 Proces vstupu SARS-CoV-2 do hostitelské buňky

SARS-CoV-2 napadá hostitelské buňky interakcí s receptory/koreceptory a dalšími kofaktory prostřednictvím svého S proteinu, který dále zprostředkovává fúzi mezi virovou a buněčnou membránou. Membránový protein hostitele, ACE2 je hlavním receptorem pro SARS-CoV-2 a je rozhodujícím faktorem pro mezidruhový přenos. Kromě toho se na něm podílejí také některé pomocné receptory a kofaktory, které rozšiřují tropismus SARS-CoV-2 na různé hostitele. Po zapojení receptorů jsou nutné specifické proteázy, které štěpí protein S a spouštějí jeho fuzogenní aktivitu (Sharma et al. 2021). Vstupní virové proteiny se musí sbalit do energeticky stabilního stavu a podstoupit následný konformační přechod, který poskytne dostatek energie k překonání přirozeného odporu mezi virem a buněčnými membránami. Z toho důvodu protein S přechází před membránovou fúzí do takzvaného metastabilního stavu, náchylného k transformaci do stavu s nižší energií. Tento přechod je umožněn prostřednictvím dvou kroků jeho proteolytického štěpení po zapojení ACE2 (Jackson et al. 2021). První krok proteolytického štěpení je lokalizován na hranici S1-S2 a druhý do domény S2. V případě SARS-CoV-2 je sekvence na hranici S1-S2 štěpena furinem v buňce produkující virus, zatímco štěpení místa v doméně S2 vyžaduje proteázy cílových buněk. Vstup viru SARS-CoV-2 do hostitelské buňky je tedy závislý na proteázách cílových buněk, především na TMPRSS2 a na katepsinu-L, což jsou dvě hlavní proteázy zapojené do aktivace S proteinu.

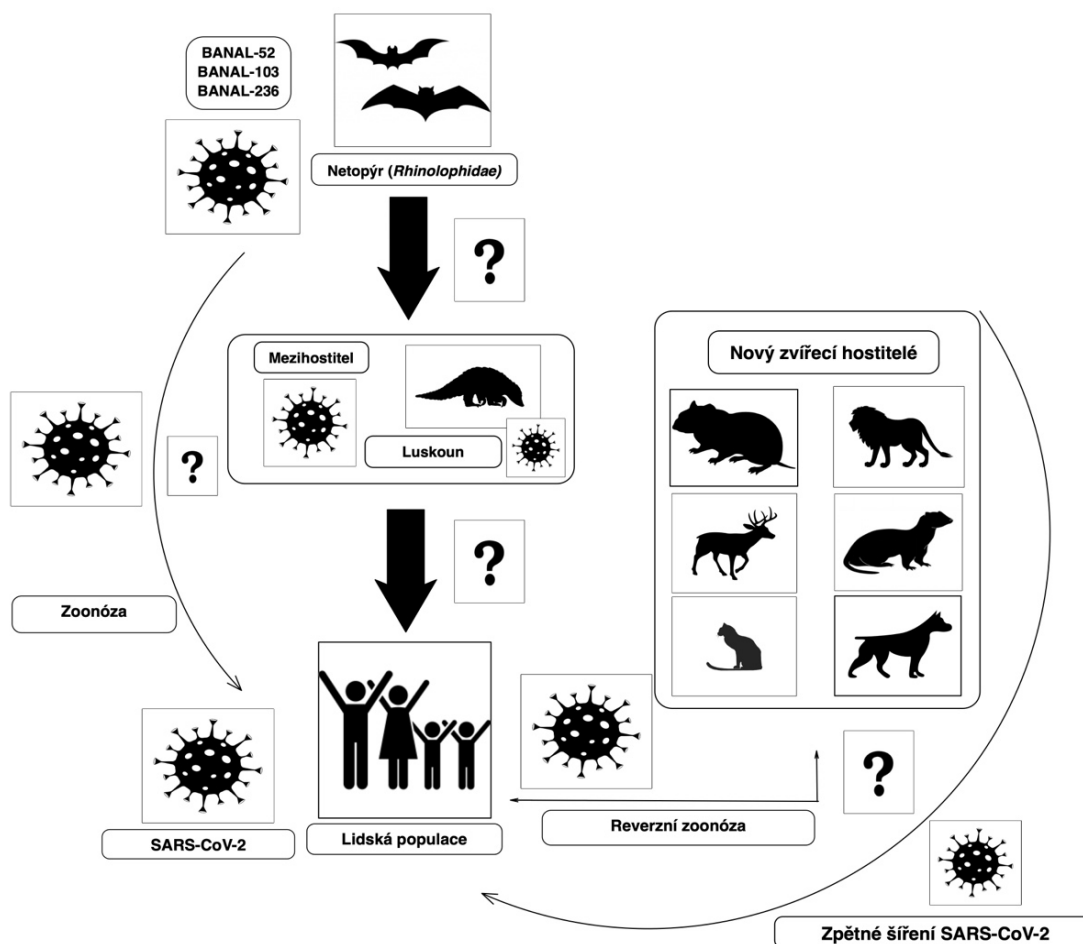
Na základě toho, že je TMPRSS2 přítomen na buněčném povrchu, k aktivaci S proteinu zprostředkované právě TMPRSS2 dochází na plazmatické membráně, zatímco k aktivaci katepsinem L dochází v endolysozomu (Jackson et al. 2021). Pro zahájení vstupu viru musí oblast v S1, která se rozprostírá od Arg319 po Phe541 a nazývá se Receptor Binding Domain (RBD), integrovat s N-terminální peptidázovou doménou angiotenzin konvertujícího enzymu-2 (hACE-2) (Nelson-Sathi et al. 2022).

3.1.8 Molekulární interakce mezi proteinem S a ACE2

Při posuzování příbuznosti koronavirů za účelem identifikace potenciálních hostitelů je důležitá aminokyselinová sekvence a struktura receptorově vazebné domény (RBD) v proteinu hrotu S, která zprostředkovává vazbu viru na buněčný povrchový protein ACE2 (Brooke & Prischi 2020). RBD netopýřího koronaviru se podstatně odlišuje od RBD lidských koronavirů, což naznačuje, že se nemusí účinně vázat na lidský receptor ACE2 (Andersen et al. 2020). Přímé přenesení infekce na člověka je tedy nepravděpodobné. Bylo navrženo několik kandidátů na potencionálního mezihostitele. Do této skupiny byli zařazeni luskouni, protože u těchto zvířat bylo identifikováno několik koronavirů příbuzných se SARS-CoV-2, včetně virů s RBD podobnou viru SARS-CoV-2 (Lam et al. 2020). Teorie o luskounech je však stále předmětem diskuse, neboť se ukázalo, že viry luskounů jsou se SARS-CoV-2 příbuzné ještě méně než v současné době netopýří koronaviry, což znamená, že sekvenční podobnost není dostatečná k potvrzení, ani k vyloučení úlohy luskounů při vzniku SARS-CoV-2 (Wacharapluesadee et al. 2021). Široká škála dalších volně žijících živočichů od druhů *Murinae* (např. myš domácí), *Cricetidae* (např. myš jelení a hrabošoví) nebo *Sciuridae* (např. veverky) až po *Serpentes* (hady), *Feliformia* (kočkovité šelmy), *Caniformia* (psovité šelmy), *Viverridae* (např. cibetky), *Cervidae* (jelenovití) a primátů mimo člověka byla analyzována jako potencionální zvířecí rezervoáry (Deng et al). Některé tyto druhy bylo možné na základě bioinformatických přístupů založených na analýze jejich receptoru ACE2 vyloučit, zatímco o jiných se stále diskutuje (Michelitsch et al. 2021).

3.1.9 Rekombinace SARS-CoV-2

Srovnání sekvencí proteinu S naznačuje, že SARS-CoV-2 mohl vzniknout z rekombinace mezi koronaviry netopýrů a luskounů (viz **Obrázek 3**). Během adaptace na člověka získal SARS-CoV-2 místo pro štěpení furinem na hranici domén S1 a S2 (Jackson et al. 2021).



Obrázek 3: Možný původ SARS-CoV-2 (upraveno dle Poudel et al. 2020)

Vložení 12-ti nukleotidů (nukleotidová inserce) na rozhraní S1/S2 v kódující sekvenci S proteinu poskytuje místo štěpení furinem, což v minulosti vyvolalo kontroverzní názory na původ viru. Jelikož nejbližší příbuzní SARS-CoV-2 toto furinové místo štěpení postrádají vyvolalo to domněnku o laboratorním vzniku tohoto viru. Pravdou je, že štěpení furinem na hrotu S1/S2 se u koronavirů vyskytovala nezávisle na sobě v minulosti již několikrát. Přirozený výskyt tohoto místa je tedy více než pravděpodobný (Wu & Zhao 2021).

Virus si podržel toto místo štěpení po celou dobu pandemie (Jackson et al. 2021). Bylo zjištěno, že vzorky odebrané z luskounů (*Manis Javanica*) byly infikovány koronaviry podobné sekvence jako SARS-CoV-2 a schopné využít lidský ACE2 jako receptor pro vstup do buňky (Liu et al. 2020). Luskouni však pravděpodobně nejsou dlouhodobým rezervoárem SARS-CoV-2, přestože většina infikovaných luskounů vykazovala vážné respirační potíže. Sekvenční homologie u koronavirů luskounů je vysoká pouze u S proteinu, ale i v tomto případě je v porovnání s kmeny BANAL pocházejících od netopýrů výrazně nižší. (Temmam et al. 2022). Je tedy nepravděpodobné, že by konkrétní koronavirus od luskounů, byl přímo spojen s epidemií SARS-CoV-2. Je však zajímavé, že přestože izoláty luskounů vykazují vysokou homologii v RBD se SARS-CoV-2 sdílí mnohem vyšší homologii mimo RBD (Lam et al. 2020). To vyvolává možnost, že RBD koronavirů luskounů, byl zaveden do S genu z jiného blízkého předka SARS-CoV-2 prostřednictvím rekombinačních událostí (Li et al. 2020). Zůstává neznámé, u kterého živočišného hostitelského druhu, pokud vůbec, k této rekombinaci došlo. Další analýzy naznačují, že SARS-CoV-2 nezískal RBD z koronaviru luskounů, ale spíše se vyvinul u netopýrů a získal schopnost infikovat lidi a luskouny (Boni et al. 2020).

3.2 Infekce SARS-CoV-2 u vybraných druhů zvířat

3.2.1 Infekce SARS-CoV-2 u koček

První kočka, která byla pozitivně testována v Hongkongu v březnu 2020, byla sedmiletá krátkosrstá kočka domácí, u níž se předpokládalo, že byla infikována od svého majitele. Výtěry odebrané z ústní a nosní dutiny a konečníku byly pozitivně testovány na SARS-CoV-2. Tato kočka nevykazovala žádné známky onemocnění (Barrs et al. 2020). Prvním hlášeným případem v Evropě byla kočka pocházející se svým majitelem z Belgie, u které se projevíly klinické příznaky jako průjem, zvracení, kašel a mělké dýchání. Kočka byla pozitivně testována na SARS-CoV-2 ze vzorků trusu a zvratků. Pozitivní výsledek RT-qPCR byl potvrzen sekvenací viru. Devátý den po nástupu klinických příznaků se stav zvířete zlepšil (Garigliany et al. 2020).

Případy infekce kočičím SARS-CoV-2 byly potvrzeny také v New Yorku americkým ministerstvem zemědělství. Kočky pocházely z rozdílných domácností a měly mírné respirační příznaky. První kočka byla testována poté, co se u ní projevíly mírné respirační příznaky, ale u žádného jedince v domácnosti nebylo potvrzeno onemocnění COVID-19. Zdrojem nákazy kočky mohl být kontakt s infikovaným člověkem v její domácnosti nebo mimo ni. Druhá kočka vykazovala příznaky respiračního onemocnění poté, co byl její majitel pozitivně testován na onemocnění COVID-19. Obě zvířata se z respiračního onemocnění plně zotavila (Newman et al 2020). Další případ infekce SARS-CoV-2 u kočky v domácnosti postižené COVID-19 se objevil ve Švýcarsku. První ze dvou koček žijící v této domácnosti vykazovala příznaky infekce horních cest dýchacích, včetně kýčání, nechutenství a apatie, zatímco druhá kočka zůstala bez příznaků. Oběma kočkám byly dvakrát odebrány výtěry z nosu, dutiny ústní, výkalů, srsti a stěrů z prostředí a analyzovány pomocí RT-qPCR na přítomnost virové RNA SARS-CoV-2. Oba nosní výtěry první kočky byly pozitivní. Kromě toho byl pozitivní i výsledek PCR testu a první výtěr z dutiny ústní u druhé kočky, která byla po celou dobu bez příznaků. Ve veterinární medicíně se používají ACE inhibitory (Lefebvre et al. 2007) nebo blokátory receptorů pro angiotenzin (Kawaguchi et al. 2019). Doposud však nejsou žádné údaje o tom, že by tyto léčivé přípravky mohly ovlivnit výsledek infekce SARS-CoV-2 u kočičích pacientů. Výtěry ze srsti a podestýlky byly taktéž pozitivní u obou koček, zatímco výtěry z trusu byly u obou negativní. Infekce první kočky byla potvrzena pozitivním testem na protilátky proti SARS-CoV-2. Sekvence virového genomu první kočky vykazovala nejtěsnější příbuznost s lidskou sekvencí z linie B.1.1.39 s jedním rozdílem v jednom nukleotidovém polymorfismu. Tento případ prokazuje nejen infekci SARS-CoV-2 u koček v domácnosti postižené COVID-19, ale také kontaminaci kočičí srsti a lůžka virovou RNA (Klaus et al. 2021). Z vybrané čínské studie bylo 15 ze 102 odebraných kočičích vzorků, odebraných v období od ledna do března 2020 ve Wuhanu, pozitivních na protilátky proti RBD, 11 koček mělo titry neutralizujících protilátek v rozmezí od 20 do 1080 (Zhang et al.2020). V Nizozemsku měly 2 z 500 testovaných koček protilátky na RBD (ProMED 2020). V Rio de Janeiru bylo v období od května do října 2020 testováno 10 koček, přičemž 4 byly infikovány nebo séropozitivní na SARS-CoV-2. Studie také ukázala, že nejvyšší rizikové faktory pro infekci domácích zvířat představuje kastrace či sdílená postel se zvířetem (Calvet et al. 2021).

3.2.2 Infekce SARS-CoV-2 u psů

Koronavirem SARS-CoV-2 se mohou nakazit taktéž psi, respektive se stanou pozitivní na RT-qPCR. Vylučují virus a vytvářejí si protilátky. V porovnání s kočkou domácí jsou však méně náchylní k infekci a šíření viru je méně časté. Psi infikovaní virem obvykle zůstávají bez klinických příznaků. Z několika zemí bylo publikováno několik případů pozitivních psů na SARS-CoV-2, kteří byli pravděpodobně infikováni lidmi infikovanými SARS-CoV-2 (Morais et al. 2020). V březnu 2020 bylo v Hongkongu testováno 15 psů z domácností se známými případy COVID-19. Během tohoto období se u dvou psů prokázaly pozitivní výsledky na SARS-CoV-2. V prvním případě se jednalo o 17-ti letého kastovaného psa německého trpasličího špice, kterému byly odebrány výtěry z nosu, dutiny ústní, z konečníku a vzorek trusu. Nákaza SARS-CoV-2 byla zjištěna pomocí kvantitativní PCR s reverzní transkripcí. Rektální a fekální vzorky byly testovány negativně. Pokusy o kultivaci viru ze psa byly neúspěšné, pravděpodobně kvůli nízké virové náloži. Další vzorky pro detekci viru byly psovi odebrány při šesti dalších příležitostech. U tohoto případu, byla potvrzena řada předchozích onemocnění, včetně srdečního šelestu II. stupně, systémové a plicní hypertenze, chronického onemocnění ledvin, hypotyreózy a předchozího hyperadrenokorticismu. Po celou dobu karantény zůstal pes bystrý a čilý, bez zjevné změny klinického stavu (Sit et al. 2020). Několik dní po opakovaném negativním vyšetření na SARS-CoV-2 nakonec zemřel. Majitel odmítl jakoukoli nekropsii, ale příčina smrti jednoznačně souvisela s předchozím onemocněním srdce a ledvin postihujícím toto staré zvíře (Decaro et al. 2021). Ve druhém případě se jednalo o 2,5letého psa německého ovčáka v dobrém zdravotním stavu z domácnosti, u jehož majitele byl diagnostikován COVID-19. V průběhu března 2020, bylo u tohoto psa odebráno šest vzorků. Výtěry z dutiny ústní a nosní byly v prvních dvou případech pozitivní na SARS-CoV-2. Rektální výtěry byly pozitivní ve čtyřech ze šesti testů, všechny s nižší virovou náloží, než výtěry získané z ústních a nosních výtěrů. Dalšímu psovi smíšeného plemene chovanému v této domácnosti s infikovaným ovčákem, byly v průběhu března odebrány vzorky při čtyřech příležitostech a ve všech čtyřech testech byly negativní na přítomnost SARS-CoV-2. Virová RNA ze vzorku nosního stěru odebraná od prvního psa byla sekvenována přímo z klinického vzorku a porovnána s virem nalezeným v klinických vzorcích od majitele a sekundárních případů.

Úplná sekvence genomu viru byla získána z indexového případu i ze sekundárních případů. Virové sekvence z indexového případu a dvou sekundárních případů byly identické v celém genomu. Virová RNA z nosních výtěrů u druhého psa a lidského indexového případu ze stejné domácnosti byla na základě sekvenace prokazatelně identická v celém genomu. Viry z obou domácností však byly jasně odlišné (Sit et al. 2020). Tyto dva případy z Hongkongu prokazatelně naznačují, že psi se mohou nakazit v domácnostech s lidmi nakaženými SARS-CoV-2. Další případ pozitivně nakaženého psa se objevil v Severní Karolíně v USA. Nakažený mops vykazoval mírné respirační příznaky a žil ve vysoce kontaminované domácnosti, kde byli 3 členové rodiny pozitivní na SARS-CoV-2. Rodina se zúčastnila studie na Duke University, která zahrnovala testování členů rodiny a jejich domácích zvířat (TIME 2020). Národní laboratoře veterinárních služeb ministerstva zemědělství Spojených států však nebyly schopny potvrdit pozitivní testování tohoto mopse. První potvrzený případ infekce SARS-CoV-2 u domácího psa ve Spojených státech byl tedy hlášen až u německého ovčáka z New Yorku (APHIS & USDA 2020).

3.2.3 Infekce SARS-CoV-2 u zajícovitých druhů

Bioinformatické studie ukázaly, že sekvence proteinu ACE2, který je na povrchu savčích buněk, je i u všech zajícovců (Lagomorpha) velmi podobná té lidské a měla by tedy umožňovat infekci SARS-CoV-2 (Prezioso 2020). Studie provedená mezi listopadem 2020 a červnem 2021 ve Francii testovala 144 králíků v zájmových chovech na protilátky proti SARS-CoV-2 pomocí mikrosférické imunoanalýzy. Tato studie potvrdila přirozenou infekci SARS-CoV-2 u králíků s nízkou pozorovanou séroprevalencí, která byla pravděpodobně získána od majitele pozitivního na COVID-19. Velmi nízká séroprevalence by mohla vyplývat z nízké vnímavosti králíků k viru a obecně vzdálenějšího kontaktu mezi králíky v zájmovém chovu a jejich majiteli ve srovnání se psy a kočkami, kteří mají se svými majiteli mnohem intimnější kontakt (Fritz et al. 2022). Na základě dalších studií bylo potvrzeno, že virus se u zajícovců množí především v nosní dutině. V prvních sedmi dnech po infekci dokonce může docházet k vylučování viru prostřednictvím kýchání. V jiných tkáních se virus tvoří jen zřídka nebo vůbec. Infekce je samo limitující a do 10 až 20 dnů od infekce se zcela vytrácí z těla ven (Mykytyn et al. 2021).

Obecně lze říct, že infekce králíků jsou vzácné a že je nepravděpodobné, že by napomohly epidemickému šíření u lidí nebo poskytl životaschopný rezervoár viru, přinejmenším v nejbližší budoucnosti (Fritz et al. 2022).

3.2.4 Infekce SARS-CoV-2 u lasicovitých druhů

Norek americký a fretka jsou jediné druhy, pro které existují důkazy z experimentálních i terénních studií o náchylnosti k infekci SARS-CoV-2 (Koley et al. 2021). V Nizozemsku se potvrdil výskyt SARS-CoV-2 mezi dubnem a listopadem 2020 na norkových farmách, kde došlo k zamoření 68 ze 126 (Lu et al. 2021) farem. Všichni infikovaní norci z těchto zamořených farem byli utraceni, aby se zabránilo dalšímu šíření viru (Aart et al. 2021). Kontrolní opatření byla zavedena ihned po zjištění prvních zamořených farem. Na všechny farmy se vztahoval zákaz přepravy zvířat, živočišných odpadů a produktů. Byly zavedeny přísné hygienické protokoly a programy sledování zvířat pro včasnou detekci infekce (Lu et al. 2021). V reakci na propuknutí infekce na norkových farmách bylo provedeno hloubkové šetření kombinující sekvenování celého genomu s epidemiologickými informacemi. Výsledky šetření v období od dubna do června 2020 ukázaly, že sekvence norků z prvních 16 farem se seskupily do pěti různých shluků, které odrážejí nezávislý přenos viru od lidí k chovným norkům. Na základě těchto genetických znaků se také ukázalo, že lidé pracující na farmách byli infikováni spíše kmeny norků než kmeny cirkulujícími mezi lidmi ve stejné komunitě, což poskytlo důkaz o sekundárním přenosu SARS-CoV-2 ze zvířete na člověka (Munnink et al. 2020). Většina farem s pozitivním nálezem SARS-CoV-2 se nacházela v hustě lidmi osídlené oblasti chovu norků na jihovýchodě Nizozemska, kde bylo 43 hospodářství pozitivních v provincii North Brabant a 23 hospodářství pozitivních v Limburgu. Dvě hospodářství se nacházela v provincii Gelderland, která sousedila s jinou hustou oblastí chovu norků. Do července roku 2020 bylo pozitivně diagnostikováno v průměru 1,73 hospodářství týdně. Navzdory zavedeným opatřením a omezení činnosti zahrnující manipulaci s norky a zaměstnávání dalšího personálu se počet pozitivně diagnostikovaných farem v srpnu a září 2020 zvýšil v průměru na 3,89, následně v říjnu a listopadu klesl na 1,17 (Lu et al. 2021).

Kromě Nizozemska hlásilo infekci SARS-CoV-2 v chovech norků také Dánsko, Švédsko, Řecko, Litva a Polsko (Rabalski et al. 2021). V naprosté většině případů bylo možné jako zdroj infekce identifikovat pracovníky pozitivní na SARS-CoV-2. Stejně jako v Nizozemsku byly i v ostatních zemích hlášeny respirační příznaky u zvířat u skupiny farem, které byly spojeny se zvýšeným úhynem zvířat (OIE 2021). Patologické vyšetření zjistilo výskyt pneumonie téměř u všech odebraných vzorků norků, kteří údajně uhynuli v důsledku infekce SARS-CoV-2 (Molenaar et al. 2020).

V Dánsku byl po prvních pozitivních testech v červnu 2020 zahájen intenzivní program monitoringu, který vedl k odhalení 25 infikovaných chovatelských farem do 1.října 2020 a dalších 67 farem do 16.října 2020 (OIE 2021). Do 1.prosince 2020 se tento počet zvýšil na 289 farem, což představuje 20 % dánských chovů norků (WHO 2020). Přibližně ve třetině postižených chovech nebyly pozorovány žádné klinické příznaky. Rozsáhlý odběr vzorků z okolního prostředí a zvířat v pohybujících se v blízkosti těchto farem nevedl k žádnému jednoznačnému vysvětlení způsobu přenosu mezi farmami, s výjimkou přímého přenosu infikovaným člověkem (Boklund et al. 2021). Obzvláště znepokojující je, že na postižených farmách a zařízeních na zpracování kožešiny došlo k přenosu nákazy z norka na člověka, což mělo do listopadu 2020 za následek nejméně 982 případů nákazy lidí norky (Munnink et al. 2020). Kromě toho byla u viru SARS-CoV-2 norků zjištěna nová mutace v rámci virového genomu, která zahrnuje charakteristické změny S proteinu, následně označované jako mutace cluster V (Frutos & Devaux 2020; OIE 2021). Předpokládá se však, že tato varianta viru spojená s norky již vymizela (Mallapaty 2020). Celkově se zdá, že vysoký podíl norků v infikovaných objektech se nakazil během krátké doby, přičemž klinické příznaky se objevily pouze u části zvířat, pokud vůbec u některých (Boklund et al. 2021). Vysoká vnímavost norků i absence klinických příznaků znamenají potenciální nebezpečí pro pracovníky v chovech norků a opakované nebezpečí výskytu dalších variant SARS-CoV-2 (Koopmans 2020). Kromě toho by norek mohl hrát potenciální roli zvířecího rezervoáru nebo mezihostitele, zejména proto, že byla zaznamenána i přirozená infekce volně žijících norků (ProMED-mail 2020).

3.2.5 Infekce SARS-CoV-2 u dalších šelem

Ke konci března 2020 se u tygra malajského (*Panthera tigris jacksoni*) v newyorské zoologické zahradě Bronx City objevil kašel a sípání s následným nechutenstvím. Během následujícího týdne onemocněl také další tygr malajský, dva tygři amurští (*Panthera tigris altaica*) ve stejné budově a tři lvi (*Panthera leo krugeri*) v samostatné budově. Prvotní vyšetření a výsledky krevních testů byly bez pozoruhodností. Rentgenové vyšetření hrudníku a ultrasonografie odhalily bronchiální obraz s peribronchální manžetou a mírnou konsolidací plic s alveolárně-intersticiálním syndromem. Infekce SARS-CoV-2 byla identifikována pomocí kvantitativní PCR na vzorcích z ústního a nosního výtěru a na tekutině z výplachu průdušnice. Cytologické vyšetření výplachové tekutiny z průdušnice odhalilo nekrózu. Virová RNA byla detekována v nekrotických buňkách pomocí hybridizace in situ, což potvrdilo poškození tkáně spojené s virem. SARS-CoV-2 byl izolován z tekutiny z výplachu průdušnice indexového případu a také z trusu jednoho amurského tygra a jednoho lva. Vylučování virové RNA trusem bylo potvrzeno u všech sedmi klinických případů a u jednoho asymptomatického amurského tygra. Respirační příznaky u většiny zvířat odezněly během 1-5 dnů, ačkoliv u indexového případu přetrvávaly přerušovaně po dobu 16 dnů. Vylučování fekální RNA přetrvávalo až 35 dní po ukončení respiračních příznaků (Bartlett et al. 2021). Infekce byla pravděpodobně rozšířena asymptomaticky nakaženým chovatelem v zoo (APHIS. USDA 2020). Jedná se o první známý přirozený přenos SARS-CoV-2 z člověka na jiné kočkovité šelmy (Bartlett et al. 2021). Další případ infekce SARS-CoV-2 u divokých šelem v USA se objevil v dubnu 2021 v Zoo Virginia. Na základě symptomů u tří samců tygra malajského v podobě letargie, namáhavého dýchání, kašle, ztráty chuti a hlenovitého výtoku z nosu, byly odebrány výtěry z nosu a fekální odběry, které potvrdili přítomnost SARS-CoV-2 (Mitchell et al. 2021). V Jihoafrické republice byl zaznamenán případ pumy (*Puma concolor*), u níž byla pomocí kvantitativní PCR potvrzena infekce SARS-CoV-2. Zdroj infekce byl rovněž spojen s interakcí s ošetřovatelem v zoo, který byl pozitivní na tento virus. U tohoto zvířete však nebyly pozorovány žádné klinické příznaky (Michelitsch et al. 2021).

Další případy nákazy kočkovitých šelem byly hlášeny v zoologických zahradách ve Španělsku, Švédsku (Giralso-Ramirez et al. 2021) a v České republice. V Pražské zoologické zahradě se v únoru a březnu 2021 objevili klinické příznaky u dvou lvů, amurské levhartí kočky a sumaterského tygra. Velká většina těchto zvířat vykazovala známky vyčerpání, kašel a výtok z nosu. Během pár dnů však klinické příznaky ustoupily. Vzorky trusu odebrané u těchto zvířat v průběhu infekce vykazovaly slabou pozitivitu při stanovení kvantitativní PCR. Fylogenetické analýzy naznačily, že všechny kmeny odebrané od těchto zvířat patřily do linie B.1.1.7. Epidemiologické šetření mezi zaměstnanci zoologické zahrady ukázalo, že u dvou chovatelů divokých koček byl diagnostikován COVID-19 (Nagy et al. 2022). Další kočkovitou šelmou vnímavou k viru SARS-CoV-2 je volně žijící levhart sněžný (*Panthera uncia*). V Kentucky ve Spojených státech byly hlášeny tři potvrzené případy infekce u sněžných levhartů, kteří vykazovali respirační příznaky, jako je kašel a sípání. Doposud byly hlášeny dva případy úhynu u těchto volně žijících kočkovitých šelem v důsledku zhoršení zdravotního stavu po diagnostikování infekce SARS-CoV-2. Obecně lze říct, že v případě velkých divokých šelem je klinický obraz infekce SARS-CoV-2 velmi podobný. U většiny těchto zvířat byly hlášeny symptomy především ve formě dýchacích obtíží. Spolu s respiračními příznaky byly pozorovány i symptomy letargie a nechutenství (Giralso-Ramirez et al. 2021).

3.2.6 Infekce SARS-CoV-2 u jelenovitých

Tři druhy jelenovitých vykazují vysokou podobnost svého receptoru ACE2 s receptorem člověka. Jelenec běloocasý (*Odocoileus virginianus*), sob polární (*Rangifer tarandus*) a jelen milu (*Elaphurus davidianus*) (Damas et al. 2020). Kromě toho bylo zjištěno, že plicní buňky jelenovitých jsou citlivé na SARS-CoV-2 (Palmer et al. 2021). Volně žijící, jelenci běloocasí s rozsáhlým výskytem v Severní, Střední a Jižní Americe jsou s vysokou pravděpodobností schopni udržovat přenos SARS-CoV-2 v přírodě. Objev rozšířené infekce jelenců běloocasých započal mnohé studie po celém území USA. Mnohé z těchto studií naznačují, že se jelenci běloocasí stali potencionálními hostiteli SARS-CoV-2, což má důležité důsledky pro ekologii, dlouhodobé přetrvávání a vývoj viru, včetně možnosti přenosu na člověka (Kuchipudi et al.2022).

Pozoruhodné je, že studie probíhající ve státě Iowa ve středozápadním regionu USA prokázala, že se dokážou produktivně infikovat i nekontaktní srnčata, oddělená plexisklem, a to s největší pravděpodobností kapénkami. Virus byl izolován z nosních a rektálních výtěrů a virová RNA byla zjištěna především v horních cestách dýchacích u vakcinovaných zvířat a jelenů infikovaných kontaktem s již nakaženými zvířaty vylučující virus. V některých případech byla pozorována zvýšená tělesná teplota, ale výraznější příznaky nebyly zjevné (Palmer et al. 2021). Na základě bioinformatické studie, která ukázala, že jelenci mohou přenášet virus, bylo v severovýchodním Ohio v USA testováno 360 nosních stěrů od jelenů běloocasých, a to v období od ledna do března 2021. Pomocí PCR s reverzní transkripcí bylo detekováno 129 z 360 pozitivních testů. Jelenci byli infikováni třemi liniemi SARS-CoV-2 (B.1.2, B.1.582 a B.1.596). Viry B.1.2, které v této době dominovaly u lidí v Ohio, infikovaly jelence ve čtyřech ze šesti lokalit. Výsledky testů naznačují pravděpodobný přenos viru B.1.2, B.1.582 a B.1.596 z jelence na jelence (Hale et al. 2021). Geografické rozložení a spojení shluků linií jelenů a lidí silně naznačuje vícenásobný přenos z člověka na jelence a následné šíření z jelence na jelence (Kuchipudi et al. 2022). Nebylo pozorováno žádné zpětné šíření na člověka, ale tato zjištění ukazují, že viry SARS-CoV-2 byly v USA přeneseny mezi volně žijícími zvířaty, což potencionálně otevírá nové cesty evoluce (Hale et al. 2021).

3.2.7 Infekce SARS-CoV-2 u ostatních druhů zvířat

Mnoho dalších druhů zvířat je vnímavých k infekci SARS-CoV-2 a mohlo by sloužit jako rezervoár. Například u syrských zlatých křečků (*Mesocricetus auratus*) se při infekci SARS-CoV-2 objevily mírné klinické příznaky včetně úbytku hmotnosti, zrychleného dýchání a posturálních změn. Starší křečci vykazovali výraznější a trvalejší úbytek hmotnosti, silnější alveolární a perivaskulární edém než mladší křečci. Histopatologie také odhalila, že u mladších křečků se objevil dřívější a silnější imunitní proces než u křečků starších. (Osterrieder et al. 2020).

Vnímavost k infekci SARS-CoV-2 byla prokázána také u řady druhů primátů. Mezi nejcitlivější druhy byli zařazeni makakové rhesus (*Macaca mulatta*), dále makak jávský (*Macaca fascicularis*), marmošky obecné (*Callithrix jacchus*) (Lu et al. 2020) a gorily nížinné (*Gorilla gorilla gorilla*) (Nagy et al. 2021).

Infekce u testovaných druhů opic se pohybovaly od asymptomatických příznaků, přes mírný výtok z nosu a přechodně zvýšené tělesné teploty (Hartman et al. 2020), až po středně závažné respirační onemocnění s kašlem, úbytkem hmotnosti a posturálními změnami (Lu et al. 2020). Testované experimentální druhy primátů permissivních k infekci SARS-CoV-2 vylučují virus po dlouhou dobu a vykazují onemocnění podobné COVID-19, čímž představují vhodné zvířecí modely pro další studie COVID-19 (Munster et al. 2020). Dne 21. února 2021 byly zaznamenány klinické příznaky připomínající onemocnění COVID-19 také v pražské zoologické zahradě u gorilího samce Richarda. Byly pozorovány příznaky jako je únava, suchý kašel a ztráta chuti k jídlu. Únava trvala 4 dny a v průběhu těchto dnů se vyskytly příznaky u dalších tří goril v podobě únavy a kašle. U zbylých čtyř goril v této tlupě nebyly pozorovány klinické příznaky (Nagy et al. 2021).

V případě SARS-CoV-2 u skotu, koní, prasat a ptačích druhů neexistují žádné důkazy o tom, že by mohli být infikováni tímto virem nebo hrát významnou roli jako rezervoár či hostitel při přenosu SARS-CoV-2 (Korath et al. 2022).

3.3 Adaptace SARS-CoV-2 na nového hostitele

3.3.1 Mechanismus adaptace viru na nového hostitele

Široké hostitelské spektrum SARS-CoV-2 je částečně způsobeno tím, že ke vstupu do hostitelských buněk využívá vysoce konzervovaný buněčný povrchový receptor pro ACE2 (Letko et al. 2020), který se vyskytuje u všech hlavních skupin obratlovců (Chou et al. 2006). Je proto důležité zkoumat interakce mezi RBD a ACE2 jiných obratlovců. Všudypřítomnost ACE2 spolu s vysokou prevalencí SARS-CoV-2 v globální populaci vysvětluje četné sekundární reverzně zoonotické infekce od výskytu SARS-CoV-2 v roce 2019 (Lupala et al. 2022). Vzhledem k tomu, že nový koronavirus SARS-CoV-2 pravděpodobně vznikl u volně žijících zvířat, z nichž se přenesl na člověka a následně se rychle rozšířil do celého světa, je vytvoření rezervoárů infekce u dalších druhů volně žijících zvířat případné riziko, které by mohlo znamenat významné problémy při kontrole infekce u lidí a mohlo by ohrozit dobré životní podmínky a stav ochrany volně žijících zvířat (Banerjee et al. 2021).

Přestože existuje mnohem méně možností přenosu z člověka na volně žijící zvířata, některé činnosti zahrnující přímý kontakt mohou představovat riziko. Příkladem je rehabilitace volně žijících zvířat, terénní výzkum, praktická ochránářská činnost a některé druhy turistiky spojené s volně žijícími zvířaty. K nepřímému přenosu může dojít také tam, kde existuje možnost kontaminace životního prostředí člověkem prostřednictvím výkalů v odpadních vodách, doplňkovou potravou pro pozorování volně žijících zvířat, městským odpadem nebo fomity (např. povrchy pastí používaných při lovu) (Delahay et al. 2021). Rozsah rozšíření infekce v lidské populaci znamená, že současná role volně žijících zvířat v globální epidemiologii SARS-CoV-2 je pravděpodobně zanedbatelná. To se však časem pravděpodobně změní, protože význam rezervoárů infekce u volně žijících zvířat může vzrůst s tím, jak se bude snižovat komunitní přenos v lidské populaci v důsledku účinných kontrolních opatření. V takovém případě, by byly důsledky zpětného šíření infekce z rezervoárů v populacích volně žijících zvířat významnější. Je také možné, že cirkulace viru SARS-CoV-2 v populaci volně žijících zvířat by mohla vést k evoluci genotypových variant při adaptaci viru na nové druhy, což by mělo důsledky pro další přenos a kontrolu v lidských populacích (Banerjee et al. 2021; Delahay et al. 2021). Kromě ohrožení volně žijících a domácích zvířat mohou opakované zpětné infekce vést ke vzniku nových zvířecích hostitelů, z nichž pak může SARS-CoV-2 představovat riziko sekundárního přelévání infekce na člověka prostřednictvím zvířecího mezipřehostitele (Guth et al. 2019) nebo nově vzniklých enzootických rezervoárů (Fischhoff et al. 2021). Naopak varianty pocházející od člověka představují riziko zpětného šíření na zvířata (Bao et al. 2020). Studie založené na sekvenci předpovídají vnímavost hostitele na základě podobnosti aminokyselinových sekvencí mezi lidským (hACE2) a nehumánním ACE2 a předpokládají, že vysoký stupeň podobnosti koreluje se silnější vazbou viru, zejména na aminokyselinových zbytcích, kde hACE2 interaguje s hrotem glykoproteinem SARS-CoV-2 (Fischhoff et al. 2021). Mutace v proteinu hrotu viru SARS-CoV-2 určuje pravděpodobnost přenosu ze zvířete na člověka a následně přenos adaptované varianty přizpůsobené zvířatům zpět na člověka a dále z člověka na člověka. SARS-CoV-2 adaptovaný na zvířata nebude pro člověka představovat žádné zdravotní riziko v případě, že změněný protein hrotu nebude schopen integrovat s lidským buněčným receptorem ACE2. Pokud se však protein SARS-CoV-2 s hrotem adaptovaným na zvířata dokáže vázat na lidský ACE2, může to znamenat zvýšený přenos viru a jeho patogenitu.

Změny v proteinu hrotu SARS-CoV-2 adaptovaného na zvířata tak mohou ovlivnit vazbu protilátkové imunity (Banerjee et al. 2021). Sekundární přeskoky SARS-CoV-2 na zvířata byly zdokumentovány u různých druhů, včetně koček, psů, tygrů a lvů v zoologických zahradách a v neposlední řadě u chovaných norků a divokých jelenů v USA. Zatímco ve všech případech došlo k rozšíření hostitelského rezervoáru prostřednictvím několika nezávislých případů přelévání, pouze u norků a zřejmě i u jelenů byl doposud pozorován rozsáhlý následný přenos ze zvířete na zvíře. Bez ohledu na potenciál přenosu viru SARS-CoV-2 u různých hostitelů je to s největší pravděpodobností způsobeno tím, že společenská zvířata a zvířata v zoologických zahradách mají omezený kontakt s příbuznými svého druhu. Přestože přenosy od norků a jelenů byly identifikovány brzy, je pravděpodobné, že se SARS-CoV-2 již usadil i v jiných zvířecích rezervoárech. Vzhledem k rozšíření viru v lidské populaci a jeho schopnosti infikovat širokou škálu zejména savčích hostitelů nebude překvapivé, pokud se počet jiných, než lidských rezervoárů zvýší (Tan et al. 2022). Obecně je známo, že jedním z nejpoužívanějších laboratorních zvířat v biomedicíně je myš. V případě SARS-CoV-2 však studiím infekce u myši divokého typu brání nedostatek vhodných receptorů pro iniciaci virové infekce, protože myší ACE2 neváže účinně virový S protein (Wan et al. 2020). Tuto překážku je možné překonat buď adaptací viru na myši, nebo expresí lidského ACE2 u geneticky modifikovaných myší. Za účelem užitečného modelu pro studie přenosu a pro hodnocení vakcín pro SARS-CoV-2 byly vytvořeny geneticky modifikované myši, které exprimují lidský ACE2 a vylučují vysoké titry viru (Michelitsch et al. 2021; Bao et al. 2020). Mutace v proteinu hrotu Omicron se významně překrývají s mutacemi SARS-CoV-2, o nichž je známo, že podporují adaptaci na myší hostitele, zejména prostřednictvím zvýšené afinity proteinu hrotu k receptoru pro vstup do myší buňky. Výsledky studií naznačují, že předchůdce Omicronu přeskočil z lidí do myši, rychle nahromadil mutace vhodné pro infikování tohoto hostitele a poté přeskočil zpět do lidí, což naznačuje mezidruhovou evoluční trajektorii propuknutí Omicronu. Obecně lze říct že, sekvence hrotového proteinu Omicron, byla vystavena silnější pozitivní selekci, než sekvence všech dosud popsaných variant SARS-CoV-2 (Wei et al. 2021).

4. Cíle praktické části

- Zjistit, zdali jsou některé linie SARS-CoV-2 statisticky častěji přenášeny na některé druhy zvířat, což by mohlo naznačovat možné genetické adaptace viru na tyto hostitele.

5. Materiál

Materiálem pro výzkumnou část bakalářské práce se staly data z databáze EpiCoV provozované iniciativou GISAID, která mezinárodně sdílí údaje o různých respiračních virech (včetně SARS-CoV-2) a to jak genetické sekvence, tak i metadata popisující další informace o vzorku viru (např. místo a doba izolace viru, stav, pohlaví, věk pacienta a jiné). V současné době patří iniciativa GISAID mezi uznávané a důvěryhodné mechanismy pro rychlé sdílení publikovaných ale i nepublikovaných sekvencí respiračních virů. Podmínkou přístupu k jednotlivým údajům je bezplatná registrace a následně udělený přístup do této komunity vědců zabývajících se veřejným zdravím a zdravím zvířat.

6. Metodika

6.1 Získávání podkladů pro literární rešerši

Bakalářská práce byla strukturována a citována dle Metodického manuálu a citačních pravidel fakulty Tropického zemědělství, České zemědělské univerzity v Praze. Informace k dané problematice byly získávány z odborné literatury, především za použití klíčových slov v databázích PubMed nebo Web of Science. Další informace o průběhu infekce byly získány z relevantních internetových stránek (např. WHO, OIE), převážně v cizím jazyce nebo od chovatelů a veterinářů pečujících o takto nakažená zvířata.

6.2 Získávání a zpracování sekvencí SARS-CoV-2

Sekvence koronaviru SARS-CoV-2 byli získávány z databáze EpiCoV, provozované iniciativou GISAID (viz **Obrázek 4**). Všechny kompletní konsenzuální genomy SARS-CoV-2 u nichž bylo hostitelem nějaké zvíře, byly shromážděny k datu 12.12.2021. Byly vyloučeny všechny zvířecí vzorky, které měly neúplné datum odběru. Celkově bylo získáno 1 470 sekvencí od různých druhů zvířat. Jako srovnávací vzorky byly využity sekvence izolátů SARS-CoV-2, které cirkulovali v dané době a na daném místě v lidské populaci.

GISAID © 2008 - 2022 | Terms of Use | Privacy Notice | Contact
You are logged in as **Dominika Komárková** - [logout](#)

Registered Users | EpiFlu™ | **EpiCoV™** | My profile

EpiCoV™ | Search | Downloads | Upload

Search Reset filters

EPI_ISL ID Virus name Complete [?]

Location Host High coverage [?]

Collection 2019-12-01 to 2021-12-12 Submission to Low coverage excluded [?]

Clade all Lineage Substitutions With patient status [?]

Collection date complete [?]

Under investigation

Text Search

<input type="checkbox"/>	Virus name	Passage date	Accession ID	Collection date	Location	Originating
<input type="checkbox"/>	hCoV-19/USA/WY-WYPHL-22030837/2021	Original	EPI_ISL_11297070	2021-11-08	North America / t	Wyoming F
<input type="checkbox"/>	hCoV-19/USA/WY-WYPHL-22030835/2021	Original	EPI_ISL_11297069	2021-11-09	North America / t	Wyoming F
<input type="checkbox"/>	hCoV-19/USA/WY-WYPHL-22030820/2021	Original	EPI_ISL_11297068	2021-11-09	North America / t	Wyoming F
<input type="checkbox"/>	hCoV-19/USA/WY-WYPHL-22030790/2021	Original	EPI_ISL_11297067	2021-11-08	North America / t	Wyoming F
<input type="checkbox"/>	hCoV-19/USA/WY-WYPHL-22030761/2021	Original	EPI_ISL_11297066	2021-11-08	North America / t	Wyoming F
<input type="checkbox"/>	hCoV-19/USA/WY-WYPHL-22030789/2021	Original	EPI_ISL_11297065	2021-11-08	North America / t	Wyoming F
<input type="checkbox"/>	hCoV-19/USA/WY-WYPHL-22030758/2021	Original	EPI_ISL_11297064	2021-11-08	North America / t	Wyoming F
<input type="checkbox"/>	hCoV-19/USA/WY-WYPHL-22030843/2021	Original	EPI_ISL_11297063	2021-11-08	North America / t	Wyoming F
<input type="checkbox"/>	hCoV-19/USA/WY-WYPHL-22030798/2021	Original	EPI_ISL_11297062	2021-11-09	North America / t	Wyoming F
<input type="checkbox"/>	hCoV-19/USA/WY-WYPHL-22030905/2021	Original	EPI_ISL_11297061	2021-11-10	North America / t	Wyoming F
<input type="checkbox"/>	hCoV-19/USA/WY-WYPHL-22030812/2021	Original	EPI_ISL_11297060	2021-11-09	North America / t	Wyoming F
<input type="checkbox"/>	hCoV-19/USA/WY-WYPHL-22030824/2021	Original	EPI_ISL_11297059	2021-11-10	North America / t	Wyoming F

Total: 6,747,957 viruses

<< < 1 2 3 4 5 >

Obrázek 4: Databáze EpiCoV provozovaná iniciativou GISAID (GISAID 2022)

Celkem bylo získáno 422 512 sekvencí SARS-CoV-2 izolovaných z lidských pacientů. Metadata popisující jednotlivé sekvence byla dle datu odběru a země seřazena do tabulek a porovnána s genomy SARS-CoV-2 získanými z lidských pacientů pocházejícími ze stejné země a téhož měsíce. Na základě omezeného stahování informací z EpiCoV o velikosti maximálně 5000 sekvencí, bylo v případě většího počtu sekvencí v dané zemi hledání zúženo jen na federální stát (např. v případě USA). V některých případech, kdy ani toto nestačilo bylo zkráceno časové okno (např. na jeden týden), aby se počet sekvencí dostal pod limitních 5000. Zpracování získaných dat probíhalo prostřednictvím aplikace Excel, kde byla u všech sekvencí sledována daná (GISAID) „clades“, pomocí nichž byla vytvořena statistická analýza nejčastějších lidských a zvířecích linií, kde byly pozorovány signifikantní odlišnosti.

6.3 Zpracování statistické analýzy

Na základě sestavených kontingenčních tabulek v aplikaci Excel bylo u těch druhů zvířat, kde bylo shromážděno minimálně 50 nukleotidových sekvencí SARS-CoV-2 provedeno grafické šetření znázorňující nejčastěji se vyskytující kmeny SARS-CoV-2 k datu 12.12.2021 jednotlivě u daného druhu zvířete. Dále byly kontingenční tabulky využity k zpracování statistické analýzy, kde byl použit lineární

model regresní analýzy Poissonova regrese, a to prostřednictvím matematického softwaru R. Jedná se o matematický program specializovaný na statistiku, který se využívá ke zpracování většího množství dat. V programu R byl k modelování dat použit příkaz: `glm(breaks~wool+tension, data,family=poisson(link="log"))`, kdy jako signifikantní byly chápány ty hodnoty, které dosahovaly hodnoty $P > 0,05$.

7. Výsledky

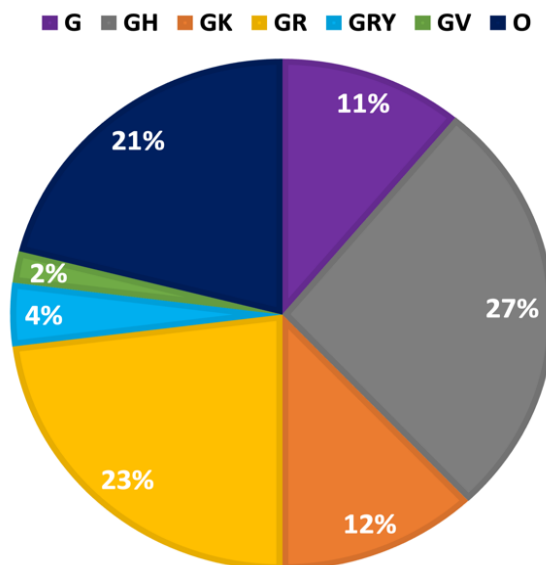
Celkově bylo k datu 12.12.2021 shromážděno 423 982 metadat z toho 1 470 tvořily kompletní genomy SARS-CoV-2 u nichž bylo hostitelem nějaké zvíře. Zvířecí genomy byly získány od 28 různých druhů zvířat (viz **Tabulka 1**) z celého světa a porovnány se zbylými 422 982 genomy SARS-CoV-2 získanými od lidských pacientů.

Tabulka 1: Počet získaných zvířecích metadat

POČET ZÍSKANÝCH METADAT K DATU 12.12.2021		
<i>Aonyx cinereus</i>	Vydra malá	8
<i>Arctictis binturong</i>	Binturong	1
<i>Canis lupus familiaris</i>	Pes	64
<i>Chlorocebus sabaues</i>	Kočkodan zelený	1
<i>Crocuta crocuta</i>	Hyena skvrnitá	1
<i>Felis catus</i>	Kočka domácí	110
<i>Gorilla gorilla</i>	Gorila	11
<i>Hippopotamus amphibius</i>	Hroch obojživelný	1
<i>Manis javanica</i>	Luskoun ostrovní	19
<i>Manis pentadactyla</i>	Luskoun krátkoocasý	1
<i>Mesocricetus auratus</i>	Křeček zlatý	2
<i>Mus musculus</i>	Myš domácí	4
<i>Mustela furo</i>	Fretka	3
<i>Neovison vison</i>	Norek americký	1004
<i>Odocoileus virginianus</i>	Jelenec běloocasý	108
<i>Panthera leo</i>	Lev pustinný	66
<i>Panthera tigris</i>	Tygr	37
<i>Panthera uncia</i>	Írbis	9
<i>Prionailurus bengalensis</i>	Kočka bengálská	1
<i>Prionailurus viverrinus</i>	Kočka rybářská	1
<i>Puma concolor</i>	Puma americká	1
<i>Rhinolophus affinis</i>	Vrápenec prostřední	1
<i>Rhinolophus malayanus</i>	Vrápenec malajský	8
<i>Rhinolophus marshalli</i>	Vrápenec Marshallův	1
<i>Rhinolophus pusillus</i>	Vrápenec nejmenší	2
<i>Rhinolophus shameli</i>	Vrápenec Shamelův	2
<i>Rhinolophus sinicus</i>	Čínský podkovář	1
<i>Rhinolophus stheno</i>	Malý hnědý podkovář	2
CELKEM		1470

U různých druhů zvířat byly dále popsány různé druhy GISAID clades neboli různé kmeny koronaviru SARS-CoV-2. U jednotlivých zvířecích hostitelů pak byla sledována míra odlišnosti četnosti daných kmenů ve stejný čas na stejném místě v porovnání s lidskou populací.

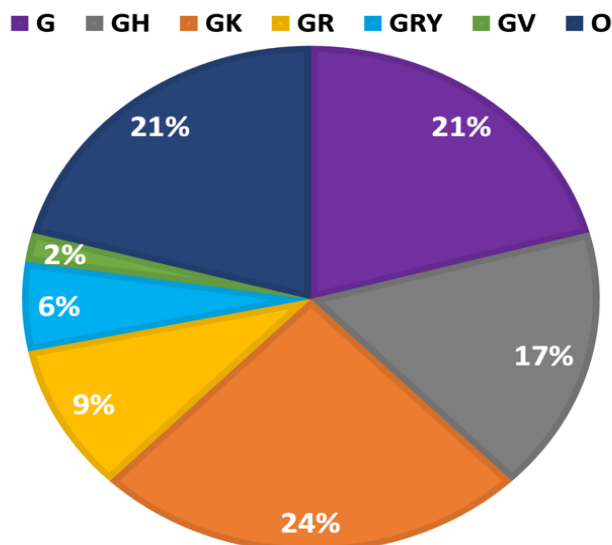
KOČKA DOMÁCÍ
NEJČASTĚJŠÍ KMENY SARS-COV-2 K DATU 12.12.2021



Graf 1: Nejčastější kmeny SARS-CoV-2 u kočky domácí

U kočky domácí bylo získáno 110 kompletních genomů SARS-CoV-2, přičemž mezi nejčastěji se vyskytující kmeny patřily GH, GR a O. Méně často se vyskytoval kmen GH. Na rozdíl od kmenů GV a GRY, které se v tomto období vyskytovaly jen zřídka. Kmeny L, S, V nebyly u tohoto druhu zaznamenány vůbec (viz **Graf 1**). Při následném porovnání frekvence výskytu jednotlivých kmenů SARS-CoV-2 vyizolovaných od koček domácích či lidí na stejném místě ve stejném časovém období, byla frekvence kmene O v kočičí populaci statisticky signifikantně vyšší, než jak by odpovídalo jeho zastoupení v lidské populaci ($p=8,81 \cdot 10^{-16}$).

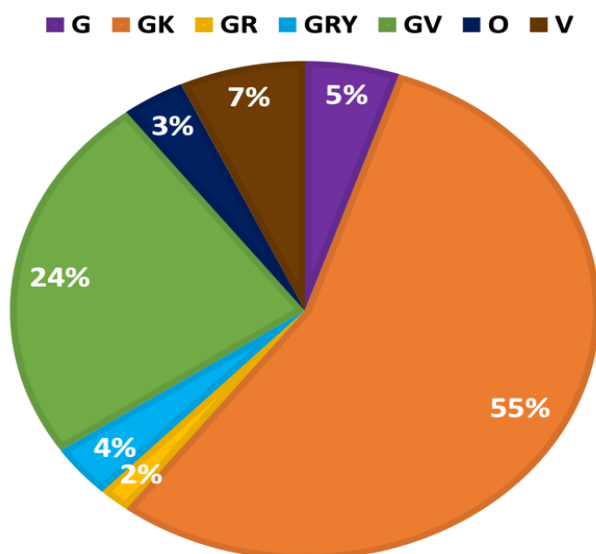
PES
NEJČASTĚJŠÍ KMENY SARS-COV-2 K DATU 12.12.2021



Graf 2: Nejčastější kmeny SARS-CoV-2 u psa

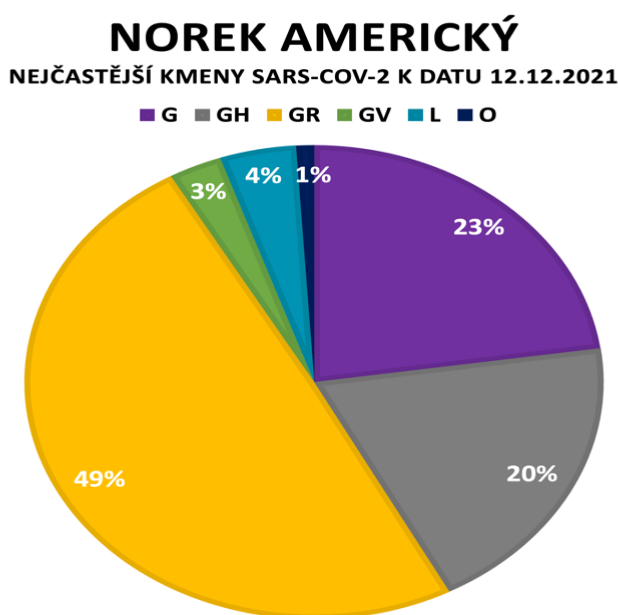
V případě psa bylo shromážděno 64 kompletních genomů SARS-CoV-2, kdy mezi nejčastěji se vyskytující patřily kmeny GK, G a O. Méně často se vyskytoval kmen GH podobně jako u kočky domácí. U několika psích jedinců se pak vyskytovaly kmeny GR, GRY a GV. Kmeny L, S, V se u psů v tomto období nevyskytovaly (viz **Graf 2**). Když jsem srovnala četnost výskytu jednotlivých kmenů SARS-CoV-2 vyizolovaných ze psů či lidí na stejném místě ve stejném čase, byla četnost kmene O ve psí populaci statisticky signifikantně vyšší, než jak by odpovídalo jeho zastoupení v lidské populaci ($p=1,80 \cdot 10^{-6}$).

LEV PUSTINNÝ
NEJČASTĚJŠÍ KMENY SARS-COV-2 K DATU 12.12.2021



Graf 3: Nejčastější kmeny SARS-CoV-2 u lva pustinného

Lev pustinný byl nejvíce genomicky bohatou divokou šelmou, u které byla celkově shromážděna metadata k 66 genomickým sekvencím. Mezi nejčastěji se vyskytující patřil kmen GK, který jednoznačně dominoval v tomto sledovaném období. Jako druhý nejčastější byl zaznamenán kmen GV a mezi ty méně časté pak patřily kmeny G, V, O, GRY, GR. Kmen GH, který byl poměrně častý u kočky domácí a psa se u lva nevyskytoval podobně jako kmeny L a S (viz **Graf 3**). Když jsem porovnála frekvenci výskytu jednotlivých kmenů SARS-CoV-2 vyizolovaných ze lvů či lidí na stejném místě a ve stejné době, byla frekvence kmene V ve lví populaci statisticky významně vyšší, než jak by odpovídalo jeho zastoupení v lidské populaci ($p=1,35 \cdot 10^{-15}$)



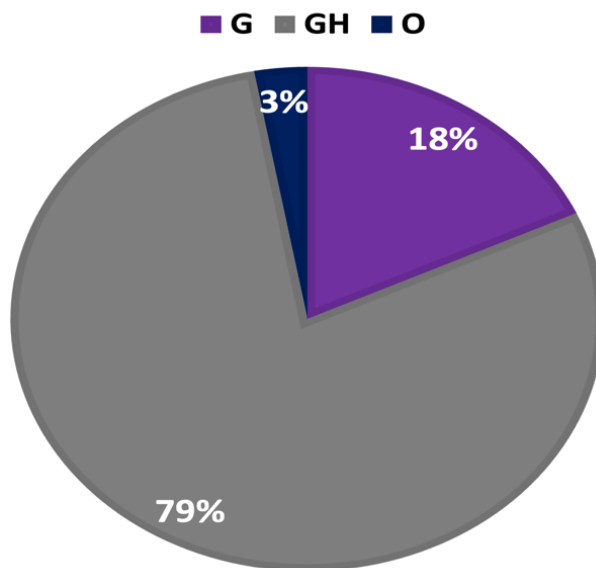
Graf 4: Nejčastější kmeny SARS-CoV-2 u norka amerického

Nejvíce nukleotidových sekvencí bylo získáno u norka amerického. Konkrétně se shromáždila metadata k 1 004 celogenomovým sekvencím. Toto číslo odráží rozsáhlou infekci norků zejména na farmách v Dánsku a Nizozemsku, ale i jinde ve světě. Mezi nejčastější kmen SARS-CoV-2 u infikovaných norků v tomto období patřil kmen GR, který se vyskytoval u téměř poloviny těchto zvířat. Dále mezi často se objevující kmeny patřily G a GH. Vzácně se potom vyskytovaly kmeny GV a L, v zanedbatelném měřítku pak kmen O. Kmeny S a V se u tohoto druhu zvířat v daném období nevyskytovaly (viz **Graf 4**).

Při porovnání četností výskytu jednotlivých kmenů SARS-CoV-2 vyizolovaných z norků či lidí na stejném místě a ve stejném časovém období, byla frekvence kmenů GH ($p=8,86 \cdot 10^{-12}$), GR ($p=2,93 \cdot 10^{-30}$), GV ($p=8,12 \cdot 10^{-14}$) a L ($p=6,51 \cdot 10^{-62}$) v populaci norků statisticky signifikantně vyšší, než jak by odpovídalo jeho zastoupení v lidské populaci.

JELENEC BĚLOOCASÝ

NEJČASTĚJŠÍ KMENY SARS-COV-2 K DATU 12.12.2021



Graf 5: Nejčastější kmeny SARS-CoV-2 u jelence běloocasého

V neposlední řadě bylo provedeno grafické šetření nejčastěji se vyskytujících kmenů SARS-CoV-2 u jelence běloocasého. U tohoto druhu bylo shromážděno celkem 108 kompletních genomů. Mezi nejčastěji se vyskytující patřil s velkou převahou kmen GH. Jako další se v menší míře vyskytoval kmen G, vzácně se potom objevoval kmen O. Celkově bylo spektrum vyskytujících se kmenů u tohoto druhu velmi úzké. Byly zaznamenány pouze tři typy kmenů vyskytující se v tomto období u jelence běloocasého. Kmeny GK, GR, GRY, GV, O, S a V nebyly k datu 12.12.2021 u tohoto zvířete zaregistrovány (viz **Graf 5**). V rámci statistického šetření pak byly porovnány frekvence výskytu jednotlivých kmenů SARS-CoV-2 vyizolovaných od jelenců a lidí na stejném místě a ve stejnou dobu, kdy se neprokázal žádný statisticky signifikantní kmen SARS-CoV-2, který by byl v populaci jelenců zastoupen ve vyšší míře, než u lidské populace.

8. Diskuse

COVID-19 je první známou pandemií způsobenou koronavirem SARS-CoV-2. Zvířata se na přenosu onemocnění COVID-19 podílejí jako rezervoáry, zvířecí sekundární hostitelé a experimentální modely (Abdel-Moneim & Abdelwhab 2020). Je známo, že má SARS-CoV-2 zoonotický původ, přičemž sekvence nejbližšího známého viru, která je v současné době k dispozici pochází od vrápenců z jeskyní severního Laosu. Jedná se o kmeny BANAL, jejichž genomická podobnost je prozatím nejbližší pandemickému koronaviru (Temmam et al. 2022). Je velmi pravděpodobné, že má SARS-CoV-2 široké spektrum zejména těch sekundárních hostitelů, díky kterým se může snáze šířit. Nedávné rozsáhlé opatření v oblasti epidemiologického sledování SARS-CoV-2 u zvířat a lidí prokázalo reverzní zoonózu, která vedla k přirozeným infekcím u řady druhů zvířat. Kromě potvrzených případů o přelévání infekce mezi lidmi a zvířaty na farmách s norky v Dánsku a Nizozemsku, bylo také zjištěno, že domácí kočky a psi, stejně jako třeba tygři lvi nebo další divoké šelmy v zoologických zahradách byli přirozeně infikováni tímto virem (Michelitsch et al. 2021). Zdrojem infekce v těchto případech jsou pravděpodobně infikovaní majitelé těchto zvířat nebo pracovníci pečující o daný druh zvířat na farmách a v zoologických zahradách (Banerjee et al. 2021).

Pandemické šíření viru v kombinaci se zvýšenou oblibou domácích a společenských zvířat po celém světě může vyvolávat obavy z přelévání infekce mezi jednotlivými druhy zvířat. Vytvoření nových rezervoárů u domácích a volně žijících zvířat by pak mohlo virus udržovat a představovat riziko budoucího zpětného šíření na člověka. Kromě toho virus SARS-CoV-2 prokázal schopnost rychle mutovat, čímž neustále vznikají nové varianty tohoto viru. Za účelem zjistit, zdali jsou některé specifické kmeny SARS-CoV-2 snáze přenositelné na různé druhy zvířecích hostitelů byly shromážděny data prostřednictvím databáze EpiCoV provozované iniciativou GISAID, která byla za pomoci statistické analýzy v matematickém programu R vyhodnocena. Bohužel ne všechny získané nukleotidové sekvence obsahovaly kompletní údaje o místě a času odběru. Z toho důvodu byly takové nukleotidové sekvence vyřazeny ze statistické analýzy.

Bylo zjištěno, že některé specifické kmeny SARS-CoV-2 jsou na některé druhy zvířat přenášeny statisticky častěji, než v daném okamžiku u lidské populace. Statistickým šetřením bylo prokázáno, že kmen O se u domácích zvířat, konkrétně v případě domácích koček a psů vyskytuje statisticky signifikantně častěji, než ve stejném čase na stejném místě v lidské populaci. V případě norků amerických, však vzhledem k vysokému podílu infikovaných jedinců ve velkochovech zejména v Dánsku a Nizozemsku, kdy bylo během pár dní infikováno virem SARS-CoV-2 velké množství těchto zvířat se nedá jednoznačně prokázat signifikantní rozdíl mezi jednotlivými kmeny SARS-CoV-2 u tohoto druhu vzhledem k lidské populaci. Nicméně skutečnost, že existuje riziko přenosu viru na osoby pracující s těmito zvířaty, jakož i na jejich kontakty, a tedy i na širší veřejnost nelze vyvrátit.

Vytvoření nových rezervoárů a další přelévání infekce mezi jednotlivými druhy zvířat by pak mohlo vést ke vzniku nových mutací s odlišnými biologickými vlastnostmi. Dále by mohlo dojít k ohrožení živočišné produkce, snížení welfare nakažených zvířat nebo v případě málo početných druhů i k ohrožení samotné existence daného druhu. Je známo, že míra rozšíření infekce SARS-CoV-2 a její průběh u zvířecích druhů je v porovnání s lidskou populací zanedbatelná, přestože k přenosu SARS-CoV-2 na zvířata dochází poměrně pravidelně. Vzhledem k tomu, že klinické příznaky jsou většinou popisovány jako mírné nebo v kontextu se závažnými zdravotními problémy zvířat, je infekce zvířat často na první pohled nerozpoznatelná. Nicméně je možné, že postupem času se tato bilance změní. Důvodem by mohl být právě již zmíněný výskyt nových zvířecích rezervoárů, který může růst s ohledem na současný pokles šíření infekce v lidské populaci v důsledku například hygienických opatření. V takovém případě, by se pak mohlo stát, že by virus začal cirkulovat primárně ve zvířecí populaci, což by dále mohlo vést k výskytu nových mutací a kmenů SARS-CoV-2, které by v konečném důsledku mohly představovat další přenos a epidemiologický problém pro lidskou populaci.

Proto je důležité porozumět epidemiologii pandemie a najít zvířecí modely, které by virus dokázaly udržovat. Kromě toho by měly být sledovány určité okolnosti, za kterých dochází k častým interakcím známých vnímavých druhů zvířat s lidmi. Tyto situace mohou být klíčem k vyhodnocení potencionálních hostitelských druhů pro SARS-CoV-2, které mohou působit jako rezervoáry pro budoucí sekundární zoonózy.

V návaznosti na tuto práci by bylo vhodné zaměřit další intenzivnější a cílenější testování vnímavých populací zvířat k infekci SARS-CoV-2 ve vztahu k majitelům a pečovatelům o tyto druhy zvířat, aby bylo možné identifikovat další nové varianty SARS-CoV-2, které by mohly být udržitelnější ve zvířecí populaci a které by mohly uniknout současným epidemiologickým strategiím.

9. Závěr

Cílem této práce bylo zhodnotit nejnovější dostupné informace o infekci SARS-CoV-2 u zvířecích hostitelů. Na základě získaných podkladů literární rešerše bylo ukázáno, že různé varianty SARS-CoV-2 jsou schopny nakazit různé druhy zvířat. Za pomoci shromážděných metadat bylo provedeno statistické šetření, které prokázalo, že u psů se statisticky signifikantně více vyskytuje kmen O, než jak by odpovídalo procentuálnímu zastoupení tohoto kmenu v lidské populaci. Podobně je tomu i u koček. U lvů se statisticky signifikantně více šířil kmen V. U norků amerických bylo sledováno více signifikantně prokazatelných kmenů, konkrétně se jednalo o kmeny GH, GR, GV a L. V případě jelenců běloocasých se v rámci statistického šetření nevyskytly žádné signifikantní kmeny SARS-CoV-2, které by se u tohoto druhu zvířat vyskytovaly ve větší četnosti, než u lidské populace. Závěrem lze s jistotou potvrdit, že některé kmeny SARS-CoV-2 se u některých druhů zvířat vyskytují statisticky signifikantně častěji, než jiné kmeny ve stejný čas na stejném místě v lidské populaci. Je tedy velmi pravděpodobně, že některé druhy zvířat jsou náchylnější k infekci daným kmenem SARS-CoV-2 nebo k snazšímu šíření daného druhu kmene ve svojí populaci.

10. Reference

Aart AE et al. 2021. SARS-CoV-2 infection in cats and dogs in infected mink farms. *Transboundary and Emerging Diseases* **68**:2998-2999.

Abdel-Moneim AS, Abdelwhab EM. 2020. Evidence for SARS-CoV-2 infection of animal hosts. *Pathogens* **9**:529.

Akter M, Islam S, Islam A, Sobur A, Jahan S, Rahman S, Nazir KHMNH, Rahman T. 2020. Migratory birds as the potential source for the transmission of *Aspergillus* and other fungus to Bangladesh. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research* **7**:338-344.

Andersen KG, Rambaut A, Lipkin WI, Holmes EC, Garry RF. 2020. The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nature Medicine* **26**:450-452.

Animal and Plant Health Inspection Service (2020) APHIS.USDA. Statement on the Confirmation of COVID-19 in a Tiger in New York. Available from https://www.aphis.usda.gov/aphis/newsroom/news/sa_by_date/sa-2020/NY-zoo-covid-19 (accessed February 2022).

APHIS, USDA. 2020. Confirmation of COVID-19 in Pet Dog in New York. USDA Animal and Plant Health Inspection Service. Available from <https://content.govdelivery.com/accounts/USDAAPHIS/bulletins/28ead4f> (accessed February 2022).

Bae S-E, Son HS. 2011. Classification of viral zoonosis through receptor pattern analysis. *BMC Bioinformatics* **12**:96-96.

Banerjee A, Mossman K, Baker ML. 2021. Zooanthroponotic potential of SARS-CoV-2 and implications of reintroduction into human populations. *Cell Host & Microbe* **29**:160-164.

Bao L et al. 2020. The pathogenicity of SARS-CoV-2 in hACE2 transgenic mice, Nature **583**:830-833.

Bao L et al. 2020. Transmission of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 via close contact and respiratory droplets among human angiotensin-converting enzyme 2 mice. The Journal of Infectious Diseases **222**:551-555.

Barrs VR, Peiris M, Tam KWS, Law PYT, Brackman CJ, To EMW, Yu VYT, Chu DKW, Perera RAPM, Sit THC. 2020. SARS-CoV-2 in quarantined domestic cats from COVID-19 households or close contacts, Hong Kong, China. Emerging Infectious Diseases **26**:3071-3074.

Bartlett SL et al. 2021. SARS-CoV-2 infection and longitudinal fecal screening in malayan tigers (*Panthera Tigris jacksoni*), amur tigers (*Panthera Tigris altaica*), and african lions (*Panthera leo krugeri*) at the bronx zoo, New York, USA. Journal of Zoo and Wildlife Medicine **51**:733-744.

Bengis RG, Leighton FA, Fischer JR, Artois M, Morner T, Tate CM. 2004. The role of wildlife in emerging and re-emerging zoonoses. Revue scientifique et technique-office international des epizooties **23**:497-512.

Boklund A et al. 2021. SARS-CoV-2 in Danish Mink Farms: Course of the epidemic and a descriptive analysis of the outbreaks in 2020. Animals **11**:164-164.

Boni MF, Lemey P, Jiang X, Lam TTY, Perry BW, Castoe TA, Rambaut A, Robertson DL. 2020. Evolutionary origins of the SARS-CoV-2 sarbecovirus lineage responsible for the COVID-19 pandemic. Nature microbiology **5**:1408-1417.

Brogli A, Kapel C. 2011. Changing dietary habits in a changing world: Emerging drivers for the transmission of foodborne parasitic zoonoses. Veterinary Parasitology **182**:2-13.

Brooke GN, Prischi F. 2020. Structural and functional modelling of SARS-CoV-2 entry in animal models. *Scientific reports* **10**:1-11.

Calvet GA et al. 2021. Investigation of SARS-CoV-2 infection in dogs and cats of humans diagnosed with COVID-19 in Rio de Janeiro, Brazil. *PLoS One* (e0250853) DOI: 10.1371/journal.pone.0250853.

Carroll D, Daszak P, Wolfe ND, Gao GF, Morel CM, Morzaria S, Pablos-Méndez A, Tomori O, Mazet JAK. 2018. The global virome project. *Science* **359**:872-874.

Cascella M, Rajnik M, Aleem A, Dulebohn SC, Napoli RD. 2022. NCBI. StatPearls Publishing. Features, evaluation, and treatment of coronavirus (COVID-19). Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554776/> (accessed February 2022).

Cunningham CH, Stuart HO. 1947. Cultivation of the virus of infectious bronchitis of chickens in embryonated chicken eggs. *Journal of Veterinary Research* **8**:209-12.

Cupertino MC, Resende MB, Mayer NAJ, Carvalho LM, Siqueira-Batista R. 2020. Emerging and re-emerging human infectious diseases: A systematic review of the role of wild animals with a focus on public health impact. *Asian Pac J Trop Med* **13**:99-106.

Damas J et al. 2020. Broad host range of SARS-CoV-2 predicted by comparative and structural analysis of ACE2 in vertebrates. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **117**:22311-22322.

Davies NG et al. 2021. Estimated transmissibility and impact of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 in England. *Science* **372**:6538-6538.

Decaro N, Balboni A, Bertolotti L, Martino PA, Mazzei M, Mira F, Pagnini U. 2021. SARS-CoV-2 infection in dogs and cats: Facts and speculations. *Frontiers in Veterinary Science* **8**:619207-619207.

Delahay RJ et al. 2021. Assessing the risks of SARS-CoV-2 in wildlife. *One health outlook* **3**:1-14.

Edgar RC et al. 2022. Petabase-scale sequence alignment catalyses viral discovery. *Nature* **602**:142-147.

Fischhoff IR, Castellanos AA, Rodrigues JPGL, Varsani A, Han BA. 2021. Predicting the zoonotic capacity of mammals to transmit SARS-CoV-2. *Proceedings of the royal society b* (e20211651) DOI: 10.1098/rspb.2021.1651.

Fischhoff IR, Castellanos AA, Rodrigues JPGLM, Varsani A, Han BA. 2021. Predicting the zoonotic capacity of mammals to transmit SARS-CoV-2. *Proceedings of the Royal Society B* (e20211651) DOI: 10.1098/rspb.2021.1651.

Fritz M, de Riols de Fronclare D, Garcia D, Beurlet S, Becquart P, Rosolen SG, Briend-Marchal A, Leroy EM. 2022. First Evidence of Natural SARS-CoV-2 Infection in Domestic Rabbits. *Veterinary Sciences* **9**:49-49.

Frutos R, Devaux CA. 2020. Mass culling of minks to protect the COVID-19 vaccines: is it rational?. *New Microbes and New Infections* **38**:100816-100816.

Garigliany M, Laere AS, Clercx C, Giet D, Escriou N, Werf S, Eloit M, Desmecht D. 2020. New natural transmission from human to cat, Belgium, March 2020. *Emerging Infectious Diseases* **26**:3069-3071.

GISAID. 2022. GISAID – Initiative. Available from <https://www.gisaid.org> (accessed April 2022).

Goel AK. 2015. Anthrax: A disease of biowarfare and public health importance. *World Journal of Clinical Cases* **3**:20-33.

Grace D et al. 2012. Mapping of poverty and likely zoonoses hotspots. Zoonoses Project 4. Report to the UK Department for International Development. Nairobi, Kenya.

Grange ZL et al. 2021. Ranking the risk of animal-to-human spillover for newly discovered viruses. Proceedings of the national academy of sciences (e2002324118) DOI: 10.1073/pnas.2002324118.

Guth S, Visher E, Boots M, Brook CE. 2019. Host phylogenetic distance drives trends in virus virulence and transmissibility across the animal-human interface. Philosophical Transactions of the Royal Society B (e20190296) DOI: 10.1098/rstb.2019.0296.

Hale VL et al. 2022. SARS-CoV-2 infection in free-ranging white-tailed deer. Nature **602**:481-486.

Halsby KD, Walsh AL, Campbell C, Hewitt K, Morgan D. 2014. Healthy animals, healthy people: Zoonosis risk from animal contact in pet shops, a systematic review of the literature. Plos one (e89309) DOI: 10.1371/journal.pone.0089309.

Hartman AL et al. 2020. SARS-CoV-2 infection of African green monkeys results in mild respiratory disease discernible by PET/CT imaging and shedding of infectious virus from both respiratory and gastrointestinal tracts. PLoS pathogens (e1008903) DOI: 10.1371/journal.ppat.1008903.

Hoffmann M et al. 2020. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. Cell **181**:271-280.

Hoffmann M, Kleine-Weber H, Pöhlmann S. 2020. A Multibasic Cleavage Site in the Spike Protein of SARS-CoV-2 IS Essential for Infection of Human Lung Cells. Molecular Cell **78**:779-784.

Hu B, Guo H, Zhou P, Shi Z. 2020. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nature Reviews Microbiology* **19**:141-154.

Huang Y-JS, Higgs S, Vanlandingham DL. 2019. Arbovirus-Mosquito Vector-Host Interactions and the Impact on Transmission and Disease Pathogenesis of Arboviruses. *Frontiers in microbiology* **10**:22-22.

Chomel BB, Sun B. 2011. Zoonoses in the Bedroom. *Emerg Infectious Diseases* **17**:167-172.

Chou C-F et al. 2006. ACE2 orthologues in non-mammalian vertebrates (*Danio*, *Gallus*, *Fugu*, *Tetraodon* and *Xenopus*). *Gene* **377**:46-55.

Jackson CB, Farzan M, Chen B, Choe H. 2021. Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells. *Nature reviews molecular cell biology* **23**:3-20.

Jackson CB, Zhang L, Farzan M, Choe H. 2021. Functional importance of the D614G mutation in the SARS-CoV-2 spike protein. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **538**:108-115.

Kahn JS, McIntosh K. 2005. History and recent advances in coronaviruses discovery. *The Pediatric Infectious Disease Journal* **24**:223-227.

Kawaguchi T, Hashimoto R, Yasukawa Y, Yamada S, Yoshimura A, Hirao D, Ohmori T, Fukushima R. 2019. The effect of telmisartan on the ventricular systolic function in dogs with experimental supraventricular tachyarrhythmia. *Journal of veterinary medical science* **81**:717-722.

Klaus J et al. 2021. Detection and genome sequencing of SARS-CoV-2 in a domestic cat with respiratory signs in Switzerland. *Viruses* **13**:496-496.

Koley T, Madaan S, Chowdhury SR, Kumar M, Kaur P, Singh TP, Ethayathulla AS. 2021. Structural analysis of COVID-19 spike protein in recognizing the ACE2

receptor of different mammalian species and its susceptibility to viral infection. *3 Biotech* **11**:1-16.

Koopmans M. 2021. SARS-CoV-2 and the human-animal interface: outbreaks on mink farms. *The Lancet Infectious Diseases* **21**:18-19.

Korath ADJ, Janda J, Untersmayr E, Sokolowska M, Feleszko W, Agache I, Seida A, Hartmann K, Jensen-Jarolim E, Pali-Schöll I. 2022. One Health: EAACI Position Paper on coronaviruses at the human-animal interface, with a specific focus on comparative and zoonotic aspects of SARS-CoV-2. *Allergy* **77**:55-71.

Kreuder Johnson et al. 2015. Spillover and pandemic properties of zoonotic viruses with high host plasticity. *Scientific Reports* **5**:1-8.

Kruse H, Kirkemo AM, Handeland K. 2004. Wildlife as source of zoonotic infections. *Emerg Infectious Diseases* **10**:2067-2072.

Kuchipudi SV et al. 2022. Multiple spillovers from humans and onward transmission of SARS-CoV-2 in white-tailed deer. *Proceedings of the National Academy of Sciences* (e2121644119) DOI: 10.1073/pnas.2121644119.

Kuchipudi SV et al. 2022. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* (e2121644119) DOI: 10.1073/pnas.2121644119.

Lam TTY et al. 2020. Identifying SARS-CoV-2-related coronaviruses in Malayan pangolins. *Nature* **583**:282-285.

Lardone RD, Garay YC, Parodi P, de la Fuente S, Angeloni G, Bravo EO, Schmider AK, Irazoqui Fj. 2021. How glycobiology can help us treat and beat the COVID-19 pandemic. *Journal of Biological Chemistry* **296**:100375-100375

Lefebvre HP, Brown SA, Chetboul V, King JN, Pouchelon JL, Toutain PL. 2007. Angiotensin-converting enzyme inhibitors in veterinary medicine. *Current Pharmaceutical Design* **13**:1347-1361.

Li G et al. 2020. Coronavirus infections and immune responses. *Journal of Medical Virology* **92**:424-432.

Li X, Giorgi EE, Marichannegowda MH, Foley B, Xiao C, Kong X-P, Chen Y, Gnanakaran S, Korber B, Gao F. 2020. Emergence of SARS-CoV-2 through recombination and strong purifying selection. *Science Advances* **6**:27-27.

Li Z, Tomlinson ACA, Wong AHM, Zhou D, Desforges M, Talbot PJ, Benlekbir S, Rubinstein JL, Rini JM. 2019. The human coronavirus HCoV-229E S-protein structure and receptor binding. *Elife* (e51230) DOI: 10.7554/eLife.51230.

Lindahl JF, Grace D. 2015. The consequences of human actions on risks for infectious diseases: a review. *Infection Ecology & Epidemiology* **5**:30048-30048.

Liu DX, Fung TS, Chong KK-L, Shukla A, Hilgenfeld R. 2014. Accessory proteins of SARS-CoV and other coronaviruses. *Antiviral Research* **109**:97-109.

Liu P et al. 2020. Are pangolins the intermediate host of the 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2)? *PLOS Pathogens* (e1009664) DOI: 10.1371/journal.ppat.1009664.

Lois Zoppi. 2021. News Medical & Life Sciences: What are fomites?. Available from <https://www.news-medical.net/health/What-are-Fomites.aspx> (accessed February 2022).

Lu L et al. 2021. Adaptation, spread and transmission of SARS-CoV-2 in farmed minks and associated humans in the Netherlands. *Nature Communications* **12**:1-12.

Lu R et al. 2020. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *The Lancet* **395**:565-574.

Ludwig S, Zarbock A. 2020. Coronaviruses and SARS-CoV-2: A Brief Overview. *Anesthesia & Analgesia* **131**:93-96.

Lupala CS, Kumar V, Su Xd, Wu Ch, Liu H. 2022. Computational insights into differential interaction of mammalian angiotensin-converting enzyme 2 with the SARS-CoV-2 spike receptor binding domain. *Computers in Biology and Medicine* **141**:105017-105017.

Mallapaty S. 2020. COVID mink analysis shows mutations are not dangerous—yet. *Nature* **587**:340-342.

Michelitsch A, Wernike K, Ulrich L, Mettenleiter TC, Beer M. 2021. SARS-CoV-2 in animals: From potential hosts to animal models. *Advances in Virus Research* **110**:59-102.

Mitchell PK, Martins M, Reilly T, Caserta LC, Anderson RR, Cronk BD, Murphy J, Goodrich EL, Diel DG. 2021. SARS-CoV-2 B.1.1.7 Variant Infection in Malayan Tigers, Virginia, USA. *Emerging infectious diseases* **27**:3171-3173.

Molenaar RJ et al. 2020. Clinical and Pathological Findings in SARS-CoV-2 Disease Outbreaks in Farmed Mink (*Neovison vison*). *Veterinary Pathology* **57**:653-657.

Mollentze N, Streicker DG. 2020. Viral zoonotic risk is homogenous among taxonomic orders of mammalian and avian reservoir hosts. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **117**:9423-9430.

Morais HA, Santos AP, Nascimento NC, Kmetiuk LB, Barbosa DS, Brandão PE, Guimarães AMS, Pettan-Brewer Ch, Biondo AW. 2020. Natural infection by

SARS-CoV-2 in companion animals: A review of case reports and current evidence of their role in the epidemiology of COVID-19. *Frontiers in veterinary science* (e591216) DOI: 10.3389/fvets.2020.591216.

Morand S, McIntyre KM, Baylis M. 2014. Domesticated animals and human infectious diseases of zoonotic origins: Domestication time matters. *Infection, Genetics and Evolution* **24**:76-81.

Mortimer PP. 2019. Influenza: the centennial of a zoonosis. *Reviews in Medical Virology* (e2030) DOI: 10.1002/rmv.2030.

Mousavizadeh L, Ghasemi S. 2021. Genotype and phenotype of COVID-19: Their roles in pathogenesis. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* **54**:159-163.

Munnink BBO et al. 2020. Transmission of SARS-CoV-2 on mink farms between humans and mink and back humans. *Science* **371**:172-177.

Munster VJ et al. 2020. Respiratory disease in rhesus macaques inoculated with SARS-CoV-2. *Nature* **585**:268-272.

Mykytyn AZ et al. 2021. Susceptibility of rabbits to SARS-CoV-2. *Emerging Microbes & Infections* **10**:1-7.

Nagy A, Stara M, Vodička R, Černíková L, Jiřincová H, Křivda V, Sedlák K. 2021. Reverse-Zoonotic Transmission of SARS-CoV-2 Lineage Alpha (B.1.1.7) to Great Apes and Exotic Felids in a Zoo in the Czech Republic. Available from <https://assets.researchsquare.com/files/rs-1159691/v1/c73786ca-0014-4fd2-94dc-a9d975df4ba3.pdf?c=1641829656> (accessed March 2022).

Newman A et al. 2020. First reported cases of SARS-CoV-2 infection in companion animals-New York, March-April 2020. *MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report* **69**:710-713.

OIE world organisation for animal health. 2021. COVID-19. Available from <https://www.oie.int/en/what-we-offer/emergency-and-resilience/covid-19/> (accessed January 2022).

Osterrieder N, Bertzbach LD, Dietert K, Abdelgawad A, Vladimirova D, Kunec D, Hoffmann D, Beer M, Gruber AD, Trimpert. 2020. Age-dependent progression of SARS-CoV-2 infection in Syrian hamsters. *Viruses* **12**:779-779.

Palmer MV et al. 2021. Susceptibility of white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) to SARS-CoV-2. *Journal of virology* (e00083-21) DOI: 10.1128/JVI.000083-21.

Poudel U, Subedi D, Pantha S, Dhakal S. 2020. Animal coronaviruses and coronavirus disease 2019: Lesson for One. *Open Veterinary Journal* **10**:239-251.

Preziuso S. 2020. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Exhibits High Predicted Binding Affinity to ACE2 from Lagomorphs (Rabbits and Pikas). *Animals* **10**:1460-1460.

Program for Monitoring Emerging Diseases (2020) ProMED-mail. Available from <https://promedmail.org/promed-post/?id=7730463> (accessed February 2022).

ProMED-Mail. Coronavirus Disease 2019 update (536): Animal, USA (UT) Wild Mink, 1st Case. 2020. Available from <https://promedmail.org/promed-post/?id=8015608> (accessed March 2022).

ProMED-Mail. Coronavirus Disease update (382): Netherlands, animal, farmed mink, spread, control. 2020. Available from <https://promedmail.org/promed-post/?id=7730463> (accessed February 2022).

Rabalski L, Kosinski M, Smura T, Aaltonen K, Kant R, Sironen T, Szewczyk B, Grzybek M. 2021. Detection and molecular characterisation of SARS-CoV-2 in farmed mink (*Neovision vision*) in Poland. *Emerging Infectious Diseases* **27**:2333-2339.

Rahman T, Sobur A, Islam S, Levy S, Hossain J, Zowalaty ME, Rahman T, Ashou M. 2020. Zoonotic diseases: etiology, impact, and control. *Microorganisms* **8**:1405.

Rodrigues JPGLM, Barrera-Vilarmau S, Teixeira JMC, Sorokina M, Seckel E, Kastiris PL, Levitt M. 2020. Insights on cross-species transmission of SARS-CoV-2 from structural modeling. *PLOS Computational Biology* (e1008449) DOI: 10.1371/journal.pcbi.1008449.

Shang J, Wan Y, Luo Ch, Ye G, Geng Q, Auerbach A, Li F. 2020. Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **117**:11727-11734.

Shang J, Ye G, Shi K, Wan Y, Luo Ch, Aihara H, Geng Q, Auerbach A, Li F. 2020. Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2. *Nature* **581**:221-224.

Sharma D, Licatalosi DD, Jankowsky E. 2021. Kinetics of RNA-protein interactions in cells. *Trends in Biochemical Sciences* **46**:861-862.

Singh D, Yi SV. 2021. On the origin and evolution of SARS-CoV-2. *Experimental & Molecular Medicine* **53**:537-547.

Sit THC et al. 2020. Infection of dogs with SARS-CoV-2. *Nature* **586**:776-778.

Song Z, Xu Y, Bao L, Zhang L, Yu P, Qu Y, Zhu H, Zhao W, Han Y, Qin C. 2019. From SARS to MERS, Thrusting Coronaviruses into the Spotlight. *Viruses* **11**:59-59.

Sun et al. 2020. COVID-19: Epidemiology, Evolution, and Cross-Disciplinary Perspectives. *Trends in Molecular Medicine* **26**:483-495.

Tan CCS, Lam SD, Richard D, Berchtold D, Orengo Ch, Nair MS, Kuchipudi SV, Kapur V, Dorp L, Balloux F (2022) Transmission of SARS-CoV-2 from humans to animals and potential host adaptation. Available from https://assets.researchsquare.com/files/rs-1305015/v1_covered.pdf?c=1645116240 (accessed February 2022).

Temmam S et al. 2022. Bat coronaviruses related to SARS-CoV-2 and infectious for human cells. *Nature* **2022**:1-10.

Thompson RCA, Polley L. 2014. Parasitology and one health. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* **3**:A1-A2.

TIME. 2020. North Carolina pet believed to be first dog in the U.S to test positive for virus that causes COVID-19 in humans. Available from <https://time.com/5828413/dog-coronavirus> (accessed February 2022).

V'kovski P, Kratzel A, Steiner S, Stalder H, Thiel V. 2020. Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. *Nature Reviews Microbiology* **19**:155-170.

Wacharapluesadee S et al. 2021. Evidence for SARS-CoV-2 related coronaviruses circulating in bats and pangolins in Southeast Asia. *Nature Communications* **12**:1-9.

Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Veesler. 2020. Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell* **181**:281-292.

Wan Y, Shang J, Graham R, Baric RS, Li F. 2020. Receptor recognition by the novel coronavirus from Wuhan: an analysis based on decade-long structural studies of SARS coronavirus. *Journal of Virology* (e00127-20) DOI: 10.1128/JVI.00127-20.

Watanabe Y, Allen JD, Wrapp D, McLellan J, Crispin M. 2020. Site-specific glycin analysis of the SARS-CoV-2 spike. *Science* **369**:330-333.

Wei Ch, Shan KJ, Wang W, Zhang S, Huan Q, Qian W. 2021. Evidence for a mouse origin of the SARS-CoV-2 Omicron variant. *Journal of Genetics and Genomics* **48**:1111-1121.

Wolfe ND, Dunavan CP, Diamond J. 2007. Origins of major human infectious diseases. *Nature* **447**:279-283.

Woo PCY, Huang Y, Lau SKP, Yuen K-Y. 2010. Coronavirus genomics and bioinformatics analysis. *Viruses* **2**:1804-1820.

Woo PCY, Lau SKP, Lam CSF, Tsang AKL, Hui SW, Fan RYY, Martelli P, Yuen KY. 2014. Discovery of a novel bottlenose dolphin coronaviruses reveals a distinct species of marine mammal coronavirus in *Gammacoronavirus*. *Journal of Virology* **88**:1318-1331.

Woolhouse MEJ, Gowtage-Sequeria S. 2005. Host range and emerging and reemerging pathogens. *Emerg Infectious Diseases* **11**:1842-1847.

World Health Organization. 2020. Mink Associated Variant Strain-Denmark. Available from <https://www.who.int/csr/don/03-december-2020-mink-associated-sars-cov2-denmark/en/> (accessed March 2022).

World Health Organization. 2020. Zoonoses. World health organization. Available from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/zoonoses> (accessed January 2022).

Wu Y, Zhao S. 2021. Furin cleavage sites naturally occur in coronaviruses. *Stem Cell Research* **50**: 102115-102115.

Xiao K et al. 2020. Isolation of SARS-CoV-2 related coronavirus from Malayan pangolins. *Nature* **583**:286-289.

Yan R, Zhang Y, Li Y, Ye F, Guo Y, Xia L, Zhong X, Chi X, Zhou Q. 2021. Structural basis for the different states of the spike protein of SARS-CoV-2 in complex with ACE2. *Cell Research* **31**:717-719.

Yang J, Petitjean AJL, Koehler M, Zhang Q, Dumitru AC, Chen W, Derclaye S, Vincent SP, Soumillion P, Alsteens D. 2020. Molecular interaction and inhibition of SARS-CoV-2 binding to the ACE2 receptor. *Nature Communications* **11**:1-10.

Yu A, Pak AJ, He P, Monje-Galvan V, Casalino L, Gaieb Z, Dommer AC, Amaro RE, Voth GA. 2021. A multiscale coarse-grained model of the SARS-CoV-2 virion. *Biophysical Journal* **120**:1097-1104.

Yuan Y et al. 2017. Cryo-EM structures of MERS-CoV and SARS-CoV spike glycoproteins reveal the dynamic receptor binding domains. *Nature Communications* **8**:1-9.

Zhang J, Xiao T, Cai Y, Chen B. 2021. Structure of SARS-CoV-2 spike protein. *Current Opinion in Virology* **50**:173-182.

Zhang Q et al. 2020. A serological survey of SARS-CoV-2 in cat in Wuhan. *Emerging Microbes & Infections* **9**:2013-2019.

Zhang X et al. 2020. Epidemiological, clinical characteristics of cases of SARS-CoV-2 infection with abnormal imaging findings. *International Journal of Infectious Diseases* **94**:81-87.

Zhao X, Ding Y, Du J, Fan Y. 2020. 2020 update on human coronaviruses: One health, one world. *Medicine in Novel Technology and Devices* **8**:100043-100043.

Zhou P et al. 2020. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* **579**:270-273.

Zhou P, Shi Z-L. 2021. SARS-CoV-2 spillover events. *Science* **371**:120-122.

Přílohy

Seznam příloh:

Příloha 1: Seznam získaných genomických sekvencí SARS-CoV-2

Příloha 2: Přehled kontingenčních tabulek ke statistickému šetření

Příloha 3: Výsledná data nejčastěji se vyskytujících kmenů u kočky domácí

Příloha 4: Výsledná data nejčastěji se vyskytujících kmenů u psa

Příloha 5: Výsledná data nejčastěji se vyskytujících kmenů u jelence běloocasého

Příloha 6: Výsledná data nejčastěji se vyskytujících kmenů u norka amerického

Příloha 7: Výsledná data nejčastěji se vyskytujících kmenů u lva pustinného