

# Współczesne zoonozy – klątwa XXI wieku

Danuta Kruszewska

z Eurochit w Warszawie

Informacje na temat zoonoz są regularnie aktualizowane i udostępniane w krajowych czasopismach weterynaryjnych (1, 2). Ze względu na obserwowaną wśród wirusów łatwość przechodzenia barier międzygatunkowych zakażenia wirusowe uważa się obecnie za najczęstszą przyczynę tych odzwierzęcych zakażeń. Alarmujące są notowane ostatnio przypadki występowania nieznanych dotąd chorób spowodowanych kontaktami człowieka z zakażonymi zwierzętami lub ze zwierzętami będącymi rezerwuarem patogenów. Uważa się nawet, że 75% nowo zgłaszanych chorób zakaźnych jest pochodzenia zwierzęcego, ze źródłem w dzikiej przyrodzie. Nieprzewidywalny początek i szybkie rozprzestrzenianie się infekcji wśród wrażliwych osobników ogranicza możliwość zapobiegania zakażeniom, ponieważ źródła ich pojawiania się czy nawrotów są złożone i należy ich szukać nie tylko w ewolucji genetycznej, w zmianach demograficznych, warunkach środowiskowych czy w zmianach klimatu wpływających na określony ekosystem, z którego niesie się zakażenie.

W związku z ogłoszeniem w Polsce (13 marca 2020 r.) stanu zagrożenia epidemiologicznego związanego z pojawieniem się zakażeń potwierdzanych pozytywnym wynikiem testów laboratoryjnych na obecność nowego koronawirusa SARS-CoV-2 celowe

## Contemporary zoonoses – a curse of XXI century

Kruszewska D., Eurochit, Warsaw

This paper presents a review of most important zoonotic diseases that are threatening human world population in the first 20 years of XXI century. Zoonoses diseases naturally transmitted through several modes from vertebrate animal hosts to humans. SARS-CoV-2 - severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, was identified as the cause of an outbreak of COVID-2 pandemic in humans in 2019/2020. Coronavirus positive Chinese bats and an unrecognized yet natural reservoir of emerging SARS-2, are indicated as a primary source of infection. So far, there is no evidence that companion or farm animals can become infected by contact with a sick/infected person, so SARS-2 virus strains isolated from humans are not zoonotic.

This review contains a description of SARS-2 virus structure, genetic diversity, structure and function of viral proteins, including class I viral fusion protein S. The review also includes an assessment of epidemiology of SARS-2 infection, criteria and epidemiological interactions, perspectives on emerging zoonotic disease research in contact with public health service. More closed cooperation between different services, including Veterinary Services, with WHO and OIE international standards, as e.g. One Health partnership, is essential to avoid or minimize risk of new infections in future.

**Keywords:** SARS-2 viruses, zoonoses, epidemiology.

jest odniesienie się do wcześniej rejestrowanych zakażeń koronawirusowych, przebiegających w różnym nasileniu wśród ludzi i zwierząt.

W Chinach w 2003 r. wybuchła epidemia wywołana przez wirus SARS-CoV – sprawcę zespołu ciężkiej ostrej niewydolności oddechowej (severe acute respiratory syndrome). Zgodnie z danymi Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) w ciągu sezonu choroba rozprzestrzeniła się w 29 krajach, zakażeniu uległo 8096 osób, śmierć poniosło 774 zakażonych. Ze względu na przebieg zakażenia SARS-CoV udało się w krótkim czasie przeciąć drogi szerzenia epidemii, izolując zakażonych (3).

Wprawdzie zakażenia ludzi koronawirusami spowodowane przez HCoV-229E oraz HCoV-OC43 znane były wcześniej, bo już od lat 60. (np. Tecumseh, Michigan), jednak przebieg choroby był łagodny z dominacją objawów miejscowych zakażeń górnych dróg oddechowych, a więc typowy dla tzw. przeziębienia (4).

Później, w latach 2004–2005, dzięki użyciu technik molekularnych, w Europie (Holandia) i USA zidentyfikowano dwa inne gatunki koronawirusów: najpierw HCoV-NL63, a rok później HCoV-HKU1. Po przeanalizowaniu przechowywanych w laboratoriach próbek krwi osób z chorobami układu oddechowego okazało się, że swoiste przeciwciała przeciwko tym szczepom występowały wiele lat wcześniej, zanim je scharakteryzowano strukturalnie. Wskazuje to na naszą niepełną wiedzę w odniesieniu do listy patogenów ludzi i zwierząt odpowiedzialnych czy współodpowiedzialnych za wywołanie rozmaitych zakażeń układowych lub narządowych. W ostatnich dwóch dekadach dochodzi do zaostrzenia się przebiegu zakażeń koronawirusami. Niekiedy infekcje manifestują się jako szybko postępująca choroba, której nasilenie odpowiada lokalizacji zakażenia (4, 5).

Niedługo po epidemii SARS-CoV, w latach 2003–2009, na skutek wirusa grypy typu A (rodzina *Orthomyxoviridae*) doszło do wymarcia milionów ptaków, w tym drobiu fermowego, szczególnie chowanego w dużych skupiskach, w nieodpowiednich warunkach sanitarnych. W 2006 r. zanotowano przypadki choroby o ostrym przebiegu wywołane wyjątkowo zjadliwymi szczepami H5 i H7. Szczep H5N1 spowodował zakażenia ludzi i ptaków. Wirusy grypy krążą stale wśród ptaków domowych i wodnych. Działania na rzecz profilaktyki zakażeń, w tym ograniczające kontakt z zakażonymi ptakami lub ich surowym mięsem, są skuteczną obroną przed wirusem.

Obserwowane w latach 1999–2014 kolejne odzwierzęce wirusowe zakażenia lokalizowane w Azji Południowo-Wschodniej i Południowej nazwano chorobą Nipah. Wywołujący zapalenie mózgu wirus Nipah (rodzina *Paramyxoviridae*) jest czynnikiem etiologicznym zakażenia świń i ludzi (1).

W latach 2014–2016 i 2018–2019 notowano w Afryce Zachodniej i Środkowej inne epidemie, w tym spowodowane śmiertelnością wirusem Ebola (rodzina *Filoviridae*).

W 2012 r. potwierdzono wybuch zakażeń wirusem MERS-CoV, określanym jako bliskowschodni zespół niewydolności oddechowej MERS (Middle East respiratory syndrome). Wirus ten jest wprawdzie mniej zjadliwy niż SARS-CoV, jednak osoby cierpiące na choroby przewlekłe najczęściej przechodzą zakażenie nim.

## Wirus SARS-CoV-2 – zróżnicowanie genetyczne, budowa i funkcje białek

Klinicznie i epidemiologicznie zakażenie wirusem SARS-CoV-2, nazwane chorobą COVID-19, o której 31 grudnia ub.r. chińskie władze powiadomiły WHO, wydaje się przypominać zakażenie SARS-CoV.

Uporządkowanie genomu SARS-CoV-2 jest homologiczne z organizacją SARS-CoV i z pokrewnymi koronawirusami występującymi wśród nietoperzy.

Genom wirusa SARS-CoV-2 tworzy pojedynczą nić RNA o dodatniej polarności (+ssRNA), którą otula nukleoproteina (białko N). Białko to, w części silnie fosforylowane, zwiększa powinowactwo do RNA, a jako element nukleokapsydu jest włączane w uwalnianie wirusowego RNA poza nukleokapsyd (6). Całość tej struktury pokrywa osłonka o budowie lipidowej z zakotwiczonymi w niej białkami: osłonkowymi (białko E), membranowymi (białko M), czyli transbłonową glikoproteiną (7, 8). Glikoproteinowe wypustki bogate w białko S (spike) nadają wirusowi charakterystyczny kształt w obrazie z mikroskopu elektronowego (9).

Niść +ssRNA, zaopatrzoną w czapkę oraz z ogonem poli-A na końcu 3', cechuje zarówno to, że jako mRNA może bezpośrednio brać udział w translacji, a jako genomowy RNA być przepisywany na nić komplementarną. Proces replikacji zachodzi w pęcherzykach utworzonych z błon siateczki śródplazmatycznej, te natomiast powstają przy udziale białek niestrukturalnych. W trakcie replikacji powstaje dwuniciowa RNA (dsRNA), przepisane następnie na genomowe RNA (+ssRNA) lub mRNA. W ten sposób są syntetyzowane nowe cząstki genomowego RNA oraz nowe mRNA.

Genom wirusa zawiera informację genetyczną niezbędną w kodowaniu białek strukturalnych, białek niestrukturalnych wykorzystywanych w replikacji oraz tzw. białek pomocniczych. W genomach SARS-CoV-2, SARS-CoV, HCoV-229E i HCoV-NL63 nie występuje gen kodujący esterazę hemaglutyniny (białko HE), w przeciwieństwie do genomów HCoV-OC43 i HCoV-HKU1, które ten enzym kodują (10).

Zgodnie z danymi National Center for Biotechnology Information w genomie SARS-CoV-2 zidentyfikowano 10 genów potencjalnie kodujących 26 białek (nr dostępu: NC\_045512). Jeden długi gen *orf1ab* (5') koduje poliproteinę ciętą przez proteazy na 16 białek, będących częścią tej kompozycji. Z otwartej ramki odczytu *orf1ab* oprócz proteaz kodowana jest polimeraza RNA oraz inne czynniki powiązane z kopiowaniem genomu w komórce gospodarza, w tym egzonukleaza korygująca błędy i kilka odrębnych białek niestrukturalnych (11).

Pozostałe geny kodują głównie elementy strukturalne wirusa: fuzyjne białko wypustek S, które wiąże się z receptorem komórki gospodarza, odpowiada z białkiem N za fuzyję z błoną pęcherzyków endocytarynych i wniknięcie wirusa do komórek, nukleoproteinę (białko N) upakowującą genom oraz dwa białka błonowe. Chociaż poznano już rolę białek pomocniczych biorących udział w cyklu życia wirusa, to daleko jeszcze do określenia funkcji biochemicznych i cech strukturalnych wszystkich produktów kodowanych przez genom SARS-CoV-2.

Białko S, o masie 150 kD, to silnie N-glikozylowane fuzyjne białko wirusowe klasy I (12). Występuje jako trymer w części szczytowej, na powierzchni wypustki. Ułatwia przyłączenie receptora i fuzję otoczki wirusa z błoną zewnętrzną zakażonej komórki, aby bezkolidywnie wprowadzić materiał genetyczny do komórki gospodarza. Białka fuzyjne oprócz wyraźnych różnic charakteryzuje homologia strukturalna, w budowie drugo- jak i trzeciorzędowej. Często białko S jest cięte przez proteazę gospodarza podobną do furyny (13). Jedna z domen funkcjonalnych (S1) uczestniczy w wiązaniu receptora, druga (S2) wspiera strukturalnie (trzcienie) białko S.

Białko M jako dimer o masie 25–30 kD występuje obficie w wirionie, nadając mu kształt. Wyróżnia się w nim trzy domeny transbłonowe, w tym N-kończącą ektodomenę i C-kończącą endodomenę. Natomiast niewielkie (8–12 kD) białko E, również transbłonowe, ma podobne do białka M usytuowanie końców oraz zachowuje aktywność kanału jonowego (14).

Różnice w tempie rozprzestrzeniania się wirusów SARS-CoV i SARS-CoV-2 można łączyć z różną budową ich białka S. Również interakcja między białkiem S i jego receptorem jest związana za specyfiką gatunkową gospodarza i tropizmem wirusa do określonej tkanki gospodarza. Jak wiadomo, przyłączenie wirionu do powierzchni komórki gospodarza jest ułatwione przez białko S i jego receptor. W różnych miejscach znajduje się domena wiążąca receptor (RBD; 15), w koronawirusie myszy jest ona zlokalizowana w obrębie N-końca domeny S1, a w SARS-CoV leży na C-końcu tej samej domeny białka S (16, 17, 18, 19).

Dla wielu koronawirusów receptorem komórkowym są peptydazy. Koronawirusy alfa rozpoznają aminopeptydazę N (APN), a dla SARS-CoV, SARS-CoV-2 oraz HCoV-NL63 receptorem komórkowym jest ACE2 (20). W domenie RBD S1 białka S 14 reszt aminokwasowych wiąże się z ACE2, wśród nich 8 charakteryzuje białko S wirusa SARS-CoV-2. Koronawirus myszy MHV wiąże się z CEACAM1, a wirus MERS-CoV z dipeptydylopeptydazą 4 (DPP4; 21).

Po osadzeniu się na powierzchni komórki gospodarza wirus wchodzi do cytozolu przy pomocy proteaz, takich jak katepsyna czy TMPRSS2 (transmembrane serine protease 2; 22). Zależne od odczynu środowiska proteazy rozpoczynają cięcie białka S. Cięcie białka S odbywa się w dwóch różnych pozycjach w domenie S2, najczęściej w endosomie. Pierwsze cięcie oddziela RBD i domeny fuzyjne, a drugie cięcie odsłania peptyd fuzyjny. Peptyd fuzyjny wstawia się do błony plazmatycznej, a pozostałe struktury łączą się w sześciowarstwowy pakiet przypominający śrubę. Takie uformowanie ułatwia fuzję (23).

Wykazano, że wewnętrzny peptyd fuzyjny białek SARS-CoV-2 i SARS-CoV jest w identyczny sposób formowany, co ciekawe – oba koronawirusy cechuje wspólny mechanizm fuzji i wnikania genomów do komórek gospodarza. W białku S wirusa SARS-CoV-2 i SARS-CoV występują identyczne furynopodobne miejsca cięcia. Podkreślić należy fakt, że proteazy serynowe klanu SB produkowane przez komórki gospodarza decydują o skuteczności wejścia wirusa do organizmu i ostatecznie o patogenności wirusa.

W wirusie MERS-CoV cięcia dokonują proteazy: elastyna, katepsyna L i TMPRS komórek docelowych, w niezmienniej, konserwowanej sekwencji białka S (24, 25).

W sekwencji kodującej białko S wirusa SARS-CoV-2 występuje 12 dodatkowych nukleotydów powyżej pojedynczego miejsca cięcia, w ten sposób tworzy się sekwencja podobna do kanonicznego miejsca cięcia dla furyny. Obecność miejsc rozpoznawalnych przez furynę w SARS-CoV-2 może zwiększyć rozprzestrzenianie się SARS-CoV-2 w porównaniu z innymi koronawirusami beta. Stąd łatwo przychodzi myśl o tym, że inhibitory furyn mogą być świetnymi kandydatami do zwalczania koronawirusów.

Jednak rola biologiczna furyn jest różnorodna, a nawet skrajna, głównie regulująca wiele procesów komórkowych. Furyny aktywują prekursorzy białkowe, które uczestniczą w działaniu hormonów, enzymów, cząsteczek sygnałowych, czynników wzrostu i embriogenezy. Natomiast w procesach patologicznych furyna, jako produkt wzmożonej ekspresji lub o nadmiernej aktywności, promuje rozwój nowotworów i chorób metabolicznych. Oprócz wskazanych powyżej aktywacji powierzchniowych glikoprotein koronawirusów furyna aktywuje również białkowe egzotoksyny bakteryjne, co w obu przypadkach przyczynia się do rozprzestrzeniania groźnych infekcji.

Poszukiwanie inhibitorów furyny stanowi nadal problem, ponieważ mimo tego, że wiele efektywnych inhibitorów, zarówno peptydowych, jak i niskocząsteczkowych, zostało już odkrytych i opisanych, to przeszkadza w ich stosowaniu nieodpowiednia selektywność działania. Tłumaczyć to należy koekspresją furyny z innymi aktywnymi cząsteczkami i dodatkowo jest zauważalne duże podobieństwo strukturalne furyny do innych konwertaz probiałkowych (26, 27).

Warte uwagi są pewne dane liczbowe związane z SARS-Cov-2, które mogą umknąć uwadze, w natłoku informacji i w masowym napływie kolejnych. Posługując się oryginalną metodą badawczą, uporządkowano podstawowe dane stanowiące wyniki recenzowanych badań przeprowadzonych ostatnio na całym świecie (28). Okazuje się, że zgodność sekwencyjna między genomem SARS-Cov-2 a genomem innych koronawirusów jest zróżnicowana, występuje 96% zgodności z jednym z genomów koronawirusa, którego wykrywa się u nietoperzy, 91% zgodności z genomem koronawirusa występującym wśród łuskowców, 80% zgodności z SARS-CoV, 55% zgodności z MERS-CoV, a jedynie 50% zgodności z koronawirusem wywołującym u ludzi przeziębienia.

Można znaleźć informacje na temat wyliczeń prawdopodobnej liczby cząstek SARS-CoV2 znajdujących się m.in. w pneumocytach, makrofagach, komórkach nabłonka nosa i gardła. Również można poznać inne dane przydatne w opracowaniu założeń nowych szczepionek i produktów farmaceutycznych, które miałyby blokować zdolność wirusa do przylegania i penetracji komórki gospodarza. Dostępne są także informacje określające sposób obliczenia akumulacji mutacji wirusa. Te wartości trzeba brać pod uwagę, jeśli będzie się szacować szansę (ryzyko) tego, że wirus uniknie w założeniu ochronnego działania aktualnie badanych

szczepionek i powróci, aby ponownie zakażać nieskutecznie uodpornionych. Stopień akumulacji mutacji SARS-CoV-2 jest stosunkowo wolny w porównaniu z tempem akumulacji mutacji wirusów grypy (29).

Pojawienie się ostatniej epidemii wywołanej przez koronawirusa wskazuje, że wirusy te mogą mutować lub rekombinować, i w ten sposób nabywać cechy patogenne, przekraczając bariery gatunkowe i wywoływać zakażenia wśród ludzi i zwierząt. W związku z tym, że modyfikacje genetyczne w strukturze koronawirusów są nieuniknione i stanowią element ich procesu ewolucyjnego, można przypuszczać, że w przyszłości będą się pojawiać nowe zakażenia. Wirusy RNA mają wysoką zdolność do mutacji w porównaniu z wirusami DNA, szczególnie ze względu na niską zdolność korekty zależnej od RNA polimerazy RNA, która kontroluje replikację.

### Ocena sytuacji epidemiologicznej zakażeń SARS, kryteria i powiązania epidemiologiczne

Zakażenie SARS-CoV-2 rozprzestrzenia się wciąż pandemicznie. Z danych Ministerstwa Zdrowia i Głównego Inspektoratu Sanitarnego oraz WHO wynika, że pod koniec kwietnia odnotowano 2 810 325 potwierdzonych przypadków COVID-19 w 213 krajach, w których poniosło śmierć 193 837 zakażonych (30).

Przyglądając się wynikom analizy filogenetycznej nowo pojawiających się wirusów, czyli sekwencjonowanych izolatów SARS-CoV-2, należy zauważyć, że początkowy moment, w którym najprawdopodobniej doszło do rozprzestrzeniania się wirusa w jednym miejscu (Wuhan, Chiny) wskazuje na listopad 2019 r. Wtedy rozpoczęła się transmisja wirusa z człowieka na człowieka, zapewne po wprowadzeniu wirusa SARS-CoV-2 do nowego miejsca, a możliwe nawet regionu geograficznego, w następstwie przekazania wirusa człowiekowi, tak jak to się uważało dotychczas, przez nietoperze lub inną drogą, z udziałem być może autochtonicznego gospodarza pośredniego (31, 32, 33). Jednak wraz z trwaniem pandemii i analizy zwiększającej się stale liczby nowo izolowanych genomów pochodzących z różnych krajów świata, nie pojawiły się dowody na to, że nowe przypadki COVID-19 są wywoływane przez wirusa pochodzącego od zwierząt stanowiących ich rezerwuuar. Bez wątplenia są one przenoszone z człowieka na człowieka, przynajmniej od grudnia 2019 r. Analizujący stwierdzają, że gdyby w chwili obecnej i wcześniej wprowadzenie wirusa zachodziło z udziałem zwierząt, wówczas zsekwencjonowane genomy bardziej różniłyby się między sobą. Jeśli nawet wirus mógłby zasiedlać jeden lub więcej gatunków zwierząt wolno żyjących, globalnie nie będzie to nieść poważniejszych konsekwencji dla zdrowia publicznego, dopóki nie zostaną opanowane czy samoistnie nie wygasną obecne przypadki zakażeń.

Na platformie GISAIID (<https://www.gisaid.org/>) jest obecnie 12 384 molekularnych sekwencji SARS-CoV-2, w tym pełne sekwencje genetyczne obejmują 3122 izolatów, wśród nich znajdują się sekwencje zgłoszone z Polski (15). Wyniki badań wskazują na pewne czynniki sprzyjające powstaniu międzygatunkowej transmisji wirusów w zdobywaniu nowego gospodarza,

nie są jednak nadal uchwytne te okoliczności, które wyzwalają przejście bariery międzygatunkowej. Jak dotąd, mimo intensywnych poszukiwań, nie została znaleziona żadna populacja nietoperzy, które mogłyby być rezerwuarem wirusów SARS-CoV, MERS-CoV lub wirusa Ebola. Wydaje się, że wirus będący kodem źródłowym krąży w małych, izolowanych populacjach tych albo innych zwierząt, niekoniecznie ssaków. Dochodzenia epidemiologiczne służące do wykrywania zachorowań, identyfikacji czynnika etiologicznego oraz określania przyczyn, źródeł, rezerwuarów i mechanizmów szerszenia się zakażenia wyjaśniły źródła infekcji ludzi i udział w nich wielu gatunków zwierząt, a niektóre gatunki zaliczono do grupy gospodarzy głównych – wielbłądy dla MERS-CoV, gospodarzy pomostowych – świnię w przypadku wirusa Nipah, ssaki naczelnne w przypadku wirusa Ebola, czy gospodarzy incydentalnych odgrywających rolę tzw. ślepej uliczki epidemiologicznej.

Kluczowa w powstaniu nowego wirusowego odzwierzęcego zakażenia jest chwila przeskoku wirusa na nowego gospodarza (człowiek) i jego zdolność przenoszenia się wśród ludzi. Łańcuch powiązań wynika najczęściej z potrzeb człowieka, czyli popytu na produkty pochodzenia zwierzęcego lokalnie uznawane za żywność, na środki o znaczeniu leczniczym czy nawet magicznym (afrodyzjaki).

Istnieje przekonanie, że w przypadku wirusów SARS to targi, gdzie handlowano żywymi czy martwymi zwierzętami dzikimi i gospodarskimi, były swoistą wylęgarnią wirusów i przyczyną pojawiania się SARS w populacji ludzkiej. Znaczenie przez wirusy gospodarza pośredniego, jakim mogły być łaskuny chińskie, jenoty azjatyckie, łuskowce poławiane lokalnie ze względu na smaczne mięso i wykorzystywane w tradycyjnej chińskiej medycynie tradycyjnej np. jako środek przeciwnowotworowy, przybliżyło wybuch zoonozy. Na podstawie śledzenia obecności swoistych przeciwciał indukowanych różnymi szczepami SARS-CoV można uznać, że dzięki funkcjonalnym białkom wirusa otworzyły się dla niego wrota do organizmu łaskunów chińskich (*Paguma larvata*) czy jenotów azjatyckich (*Nyctereutes procyonoides*). Przejście wirusa na człowieka i przenoszenie go z jednej osoby na kolejną pozostało więc tylko kwestią czasu (34). Analiza porównawcza sekwencji wirusów izolowanych od łaskunów wskazywała na podobieństwo do izolatów SARS-CoV. Ponadto notowano wysoką seroprewalencję przeciwciał przeciwko SARS-CoV wśród sprzedawców łaskunów, co sugeruje wcześniejsze zdarzenia przenoszenia międzygatunkowego wirusa bez koniecznej transmisji z człowieka na człowieka, zanim nastąpił wybuch zakażeń wśród ludzi (35). Z drugiej strony wieloletnie obserwacje wskazują na powiązanie zakażenia wirusem Ebola w Afryce z dietą tubylców bogatą w białko zwierzęce pozyskiwane od zwierząt żyjących na wolności, będących rezerwuarem wirusa.

Wystąpienie zakażeń ludzi i zwierząt wirusem Nipah należy skojarzyć z uprawą drzew palmowych zanieczyszczanych wydaliniami owocożernych nietoperzy. Karmienie trzody chlewnej surowym słodkim sokiem palmowym z tych drzew skutkuje tym,

że świnie oprócz nietoperzy stają się głównym rezerwuarem wirusa Nipah.

Z kolei zakażenia MERS są związane z hodowlą wielbłądów jednogarbnych. Jeśli przeanalizuje się ich hodowlę, ubój oraz konsumpcję pozyskiwanych produktów żywnościowych, okazuje się, że istnieje wiele luk higienicznych, które stwarzają wysokie ryzyko nadejścia i rozprzestrzeniania zakaźnych chorób odzwierzęcych.

Jak wiadomo, wirus grypy H5N1 pojawił się w wyniku ewolucji różnych wirusów bytujących wśród ptaków domowych i dzikich, aby ostatecznie przenieść się na ludzi i rozwinąć w postaci ptasiej grypy.

Czy ekspansja SARS-CoV-2 wynika z kontaktu człowieka ze zwierzętami nosicielami, w tym przypadku na rynku owoców morza i zwierząt w Wuhan, jest pytaniem, na które jeszcze nie znamy odpowiedzi.

Różnorodność genetyczna i różnorodność gospodarzy prawdopodobnie są związane z wysoką częstotliwością mutacji i niestabilnością RNA koronawirusów (CoV). To sprawia, że wirusy CoV potencjalnie zagrażają zdrowiu publicznemu w związku z przewidywaniem wystąpienia wśród ludzi i zwierząt przyszłych ognisk choroby. Wirus dostaje się do tkanki płucnej, korzystając z receptora enzymu konwertującego angiotensynę 2 (ACE2), który jest receptorem zarówno dla SARS-CoV-2, jak i SARS-CoV. Aby określić potencjalny wykaz gospodarzy SARS-CoV-2, przeanalizowano kluczowe reszty ACE2 biorące udział w rozpoznawaniu białka, stwierdzono za pomocą modelowania homologii, że większość badanych ssaków ( $n = 42$ ), w tym zwierzęta domowe (pies i kot), łuskowiec i chomikowate, ma taką budowę ACE2, która umożliwia skojarzenie z białkiem S wirusów SARS-CoV i SARS-CoV-2 (36). Z drugiej strony wyniki badań krwi 35 gatunków zwierząt wykazały, że w próbkach surowic nie wykryto swoistych przeciwciał przeciwko SARS-CoV-2, co może wykluczać te zwierzęta jako gospodarza pośredniego dla SARS-CoV-2 (37).

Nie można jednak pominąć pewnych faktów. Stworzono hybrydową wersję koronawirusa SARS nietoperza, co wzbudziło w świecie naukowym dyskusję na temat inżynierijnej modyfikacji wirusów o możliwym potencjale pandemicznym (38). Zbadany został np. wirus o nazwie SHC014, z którego utworzono wariant chimeryczny złożony z białka powierzchniowego SHC014 i szkieletu wirusa SARS, następnie przystosowano go do namnażania u myszy tak, aby naśladował proces wywoływania choroby u ludzi. Powstała chimerą udało się zakazić komórki izolowane z dróg oddechowych człowieka, co dowodzi, że białko powierzchniowe SHC014 ma strukturę niezbędną do wiązania się z receptorem na komórkach gospodarza i ich zakażenia. Udało się wywołać również u myszy zakażenie bez efektu letalnego.

Chociaż wiele koronawirusów nietoperzy badanych przy użyciu narzędzi genetycznych nie posiadało zdolności do wiązania się z ludzkim receptorem SHC014, to w 2013 r. u pewnego koronawirusa izolowanego od nietoperza wykazano taką właściwość. Tym samym potwierdzono podejrzenie, że koronawirusy nietoperzy są zdolne do bezpośredniego zakażenia ludzi bez udziału pośredniego gospodarza

zwierzęcego (39, 40). Teza ta uznana została przez niektórych za koncepcję kontrowersyjną i nieuprawnioną do wskazania potencjalnego ryzyka, jakie niesie kontakt człowieka z nietoperzem. Jednak gdyby stworzony przez naukowców nowy wirus, dobrze rozwijający się w ludzkich komórkach, opuścił ściany laboratorium, nie można byłoby przewidzieć jego dróg szerzenia się. Trzeba pamiętać o tym, że w USA zabroniono badań z udziałem organizmów o cechach chimer. Rozgorzała wówczas debata, czy zezwalać na badania laboratoryjne, które zwiększają zjadliwość, łatwość rozprzestrzeniania się lub zakres niebezpiecznych patogenów, czyli na tzw. badania nad mutacjami typu wzmocnienia funkcji genu (gain of function – GOF). W 2014 r. nałożono moratorium na federalne finansowanie takich badań nad wirusami wywołującymi SARS, MERS, grypę H5N1. Zanim wstrzymano takie testowanie, w niektórych laboratoriach przekroczone już wtedy pewien etap ewentualnej radiacji ewolucyjnej, ponieważ zgodnie z powszechną wiedzą wirus dzikich nietoperzy musiałby ewoluować, aby stanowić jakiegokolwiek zagrożenie dla ludzi. Taka zmiana mogłaby nigdy nie nastąpić, chociaż nie można było jej wykluczyć. Po zrekonstruowaniu dzikiego wirusa z jego sekwencji genomu (brak dostępu do żywego izolatu!) odkryto, że słabo namnaża się w hodowlach ludzkich komórek i nie wywołuje choroby u myszy.

Przed wstrzymaniem dalszych eksperymentów stworzono w laboratorium nowe, nienaturalne ryzyko poprzez rozwój konstrukcji i testowanie wirusów chimerycznych, wskazujące, które z dzikich patogenów należy traktować szczególnie pod kątem możliwości rozwijania dalszej myśli badawczej. Modelowanie molekularne wstrzymane w USA w odniesieniu do SARS nie wstrzymało badań w innych krajach.

Nie jest oczywiście prawdą, że wirus SHC014 odpowiada za obecny stan epidemii, ale ścieżki i protokoły, jakie opracowano w trakcie tych badań, mogły być ułatwieniem do zbudowania nowego konstruktów, który niewykluczone, że wymknął się niezamierzenie poza ściany nawet najbardziej monitorowanego laboratorium BSL-4. W połączeniu ze zdolnością przetrwania koronawirusów nawet do kilku dni w środowisku poza wrażliwym organizmem być może mogło to być wystarczające, aby taki uciekinier dotarł do nowych gospodarzy (rynek w Wuhan?).

Dwie dekady temu zapoczątkowano, po tym jak ustalono skład genomu człowieka (2001 r.), intensywne badania genetyczne technikami odmiennymi od tradycyjnych. W klasycznym ujęciu fenotypowo manifestująca się mutacja skłaniała do klonowania odpowiedzialnego za nią genu, tak, aby następnie dokonać jego analizy klonu. Aktualnie skupia się na tych sekwencjach wskazujących na kodujące określony gen, czy też na sekwencjach podobnych do tych, które kodują geny już zbadane, tak, aby interesujące odcinki wyselekcjonować z sekwencji, np. całego genomu. Poprzez proces inaktywacji genu w końcowym etapie można analizować powstały nowy fenotyp, czyli mutant, w odniesieniu do organizmu modelowego. Inaktywację genów można przeprowadzać na wiele sposobów, np. poprzez rekombinację, prowadzić inaktywację warunkową (np. modele transgeniczne) czy

interferencję RNA. W ten sposób, porównując genomy, można wnioskować o biologii organizmu. Takie techniki stosowano w odniesieniu do sekwencji koronawirusów identyfikowanych wśród nietoperzy czy szczepów epidemicznych (SARS-CoV, MERS-CoV).

Ostatnie obserwacje w konfrontacji z badaniami, jakie prowadzi się nad koronawirusami, budzą pewien niepokój. Do niedawna sądzono, że poszczególne koronawirusy zakażają jedynie jeden gatunek gospodarza lub gatunki blisko ze sobą spokrewnione. Nawet nazwy poszczególnych gatunków koronawirusów odnoszą się do organizmów, w których się zasiedlają, wywołując określone objawy zakażenia lub wskazują na atakowane narządy – np. PEDV oznacza koronawirusa wywołującego biegunkę świnia, natomiast FIPV – koronawirusa kotów wywołującego zapalenie otrzewnej.

W warunkach eksperymentalnych niektóre koronawirusy wywołujące zachorowania u jednych gatunków mogą namnażać się także w organizmach innych gospodarzy, np. koronawirusy psa (CCoV) oraz koronawirusy kota (FCoV) mogą namnażać się w organizmie świnia i powodować objawy kliniczne, takie jak w przebiegu zakażenia TGEV, czyli zakażenia koronawirusem wywołującym zapalenie żołądka i jelit świnia. W połączeniu z powszechnym stosowaniem „odwrotnych technik genetycznych” sprawa nie jest jednak jednoznaczna.

Model zwierzęcy jest ważnym narzędziem w badaniu chorób zakaźnych. ACE2 myszy nie może wchodzić w interakcję z wirusem SARS-CoV-2, więc nie można ich użyć jako zwierzęcego modelu zakażenia SARS-CoV-2. W przeszłości w badaniach nad SARS-CoV wygenerowano myszy transfekowane ludzkim ACE2 jako modele do badania SARS-CoV i te myszy można również teraz wykorzystać jako modele zwierzęce do zakażenia SARS-CoV-2. Obecnie badacze chińscy informują o możliwości stworzenia modelu dla SARS-CoV-2 na chomikach.

Powracając do danych określających cechy SARS-CoV-2 w odniesieniu do jego właściwości biologicznych, należy przyjąć, że opracowany wykaz będzie aktualizowany w miarę pojawiania się nowych danych z laboratoriów, ośrodków klinicznych czy z centrów zdrowia publicznego z całego świata. Bez wątpienia dostęp do takich wyselekcjonowanych danych może wzbudzić powstanie nowych koncepcji na temat tego, w jaki sposób należałoby stymulować układ odpornościowy człowieka do eliminacji SARS-Cov-2. Nadal nie jest w pełni wyjaśnione, w jakim stopniu SARS-CoV-2 jest podobny lub różny od innych wirusów, przeciwko którym już istnieją strategie zapobiegawcze. Dokładniejsze pomiary liczby kopii cząstek wirusowych w tkankach i narządach mogą pomóc w projektowaniu zestawów diagnostycznych przeznaczonych do weryfikacji zakażeń o przebiegu bezobjawowym.

### Perspektywy rozwoju badań nad zoonozami a zdrowie publiczne

Określenie czynników wpływających na szybkość rozprzestrzeniania się COVID-19 będzie mogło prowadzić do opracowania skutecznych procedur ochrony populacji ludzi na całym świecie. Rozprzestrzenianie się

COVID-19 wskazuje na to, że niezależnie od tego, czy wirus zakaża pojedynczego człowieka, czy ma miejsce fala zakażeń występujących na wielu kontynentach, należy odpowiedzieć na naiwne na pozór pytania obejmujące np. kwestie tego, ile czasu trzeba, aby jedna zakażona osoba mogła przenieść zakażenie na milion następnych albo jak długo SARS-CoV-2 pozostaje stabilny na powierzchniach, czy też jak skuteczne w powstrzymaniu zakażenia jest zachowanie społecznego dystansu (samoizolacji).

Ostatnio jesteśmy świadkami akcji pozyskiwania osocza od osób, które przeszły zakażenie SARS-CoV-2. Bez wątplenia ich krew zawiera czynniki mogące stanowić podstawę opracowania nowych sposobów leczenia i spowolnić rozprzestrzenianie się wirusa. Jak wiadomo, osocze zawiera przeciwciała przeciwko wirusowi, wśród nich te, które wirusa neutralizują. SARS-CoV-2 nie wbudowuje się w DNA swojego gospodarza, a efektem interakcji wrażliwego organizmu z wirusem są zmiany patogenne obserwowane w błonach i cytoplazmie komórkowej.

Przypuszczalnie nastąpi już niebawem wysyp nanocząstek – potencjalnych kandydatów na nowe leki do zwalczania COVID-19. Niekonwencjonalne techniki obrazowania i algorytmy ich wizualizacji, modele obliczeniowe wśród metod i technik sztucznej inteligencji pozwolą na odpowiednie projektowanie *de novo* niestandardowych cząstek o nadawanym im np. odpowiednim stopniu pofałdowania przestrzennego czy o oczekiwanych funkcjach. Stworzenie eksperymentalnej platformy do obróbki próbek krwi od rekonwalescentów COVID-19 powinno być przydatne w uzyskiwaniu i optymalizacji ilości przeciwciał skierowanych przeciwko SARS-CoV-2. Stosując sekwencjonowanie genetyczne i inne techniki do klonowania genów kodujących swoiste przeciwciała, można będzie wytworzyć je biotechnologicznie. Badania pozwolą na zidentyfikowanie przeciwciał, które są najbardziej skuteczne w rozpoznawaniu, wiązaniu oraz neutralizowaniu działania białek wirusowych.

Białko S odgrywa kluczową rolę w zakażeniu komórek, w związku z tym zaprojektowane nowe nano-przeciwciała, które będą mogły wiązać się z wrażliwymi miejscami wypustki wirusa (białka S) i zatrzymać zakażenie, hamując powstanie burzy cytokinowej czy zespołu ostrej niewydolności oddechowej, to aktualnie cel pracy wielu grup badawczych. Aby skutecznie móc takie przeciwciała skonstruować (lek), wymagane są obliczenia umożliwiające konstrukcję cząstek, selekcję tych o właściwościach przeciwciał, które ściśle wiążą się z domeną receptora (RDS) białka S, blokując w ten sposób wirusa.

Kluczową kwestią, z jaką mierzy się niekiedy chory, jest dostęp do respiratorów wprowadzających powietrze do płuc. Ograniczenie polega na niedoborze aparatury utrudniającym swobodne stosowanie oddechu kontrolowanego czy wspomaganego wśród pacjentów z COVID-19 mających problemy z samodzielnym oddychaniem.

Z przebiegu zakażenia SARS-CoV wynika, że białko S i receptor molekularny ACE2 odgrywają kluczową rolę w patogenezie choroby. Wskazano, że im bardziej ACE2 ulega ekspresji w pojedynczej komórce, tym

większe jest prawdopodobieństwo jej zakażenia. Nie jest wykluczone, że wśród osób starszych zwiększona obecność komórek, które utraciły zdolność do szybkiego dzielenia się, może też być czynnikiem sprzyjającym zakażeniu SARS-CoV-2. Nie jest ponadto wykluczone, że starzejące się komórki mogą wytwarzać cząsteczki hamujące lub zakłócające działanie ochronne układu odpornościowego. Jeśli takie rozumowanie jest prawidłowe, to być może zastosowanie preparatów zmniejszających liczbę starzejących się komórek byłoby celowe w ochronie zdrowia ludzi starszych. To jedynie przykład, w jakim kierunku mogłyby iść kolejne badania doświadczalne, których wyniki wyjaśnią podatność ludzi starszych do manifestowania ciężkiego przebiegu COVID-19.

Innym sposobem zwalczania COVID-19 mógłby być preparat neutralizujący SARS-CoV-2 – rekombinowane białko o podwójnym zastosowaniu, jednocześnie działające jako szczepionka oraz jako lek, które po przyłączeniu się do wirusa i fizycznej jego neutralizacji może wykrywać komórki zakażone wirusem i rekrutować układ odpornościowy do ich zabicia.

Wielu pacjentów z COVID-19 wraz z gorączką, kaszlem i dusznością zgłasza również chwilową utratę węchu. W niektórych krajach, np. we Francji, pacjent, który twierdzi, że nagle utracił węch, jest diagnozowany jako zakażony SARS-CoV-2. W związku z tym pewnym rozwiązaniem mogłaby być platforma internetowa, która umożliwi samokontrolę zmysłu węchu zainteresowanego w celu wykrycia wczesnych oznak COVID-19 lub w przypadku braku innych objawów pokaże unikalny węchowy odcisk (fingerprinting) wczesnego wykrywania COVID-19. Test taki umożliwiłby monitorowanie nagłych zmian w odczuwaniu zapachu, które mogą być wczesnym rozpoznaniem COVID-19. Gdyby zaistniała zależność między stopniem utraty węchu a profilem genetycznym zakażającego wirusa, test zapachowy z opracowanym kwestionariuszem mógłby być pomocny do rozróżniania genotypów, których dotąd wykryto 8, natomiast chińscy uczeni w nierecenzowanej publikacji donoszą ostatnio o krążących na świecie 30 zakaźnych szczepach SARS-CoV-2.

Z internetowej bazy badań dotyczących SARS-CoV-2 wynika, że obecnie (koniec kwietnia 2020 r.) na świecie zarejestrowano ponad 800 takich badań, z czego 275 w Europie, w tym najwięcej – 110 – we Francji. W Polsce jedna z klinik (Bydgoszcz) uczestniczy w badaniu fazy drugiej i trzeciej amiodaronu – inhibitora izoenzymów CYP2C9 oraz werapamilu pod kątem oceny stopnia zakłócania wejścia do komórki i amplifikacji w niej koronawirusa. Spodziewany efekt można osiągnąć poprzez blokowanie kanałów jonowych. Celem badania klinicznego będzie porównanie przebiegu zakażenia z uwzględnieniem planowanej interwencji medycznej z przebiegiem zakażenia opartego na standardowej opiece hospitalizowanych pacjentów z potwierdzonym COVID-19 (41).

Można zadać pytanie, jak doszło w kilka miesięcy po wybuchu masowych zakażeń w Wuhan do skierowania do badań klinicznych preparatów, które zazwyczaj mają blokować aktywność białka S wirusa

SARS-CoV-2, skoro właśnie odmiennosć sekwencji kodujących wskazane białko różni genomy tego wirusa, i obserwuje się niską zgodność tych sekwencji w odniesieniu do homologicznych sekwencji innych koronawirusów. Oczywiście pewną wskazówką jest to, że już od ponad dekady badano środki zabezpieczające przed SARS-CoV, jednak te badania nie zostały zakończone nawet prototypami takich leków ze względu na ograniczanie z roku na rok ich finansowania. Jak się okazuje, projekty szczepionki przeciwko wcześniejszemu wirusowi epidemicznemu SARS można aktualnie wykorzystać, gdy trwa epidemia SARS-CoV-2. Wprawdzie krążą w przyrodzie wirusy bardziej śmiertelne niż SARS, to fakt, który czyni je groźnymi dla zdrowia i życia, nie wiąże się z ich masowym zabójczym działaniem, ale z tym, że zakażenia koronawirusem są trudne do zarejestrowania ze względu na brak objawów czy skąpoobjawowość wśród zakażonych.

Poznanie interakcji, które warunkują pojawianie się nieznanych dotąd zakażeń lub ich nawrotów, może zapewnić jedynie dobrze funkcjonująca sieć struktur zdrowia publicznego ukierunkowana na szybkie identyfikowanie wczesnych oznak wspomnianych zagrożeń, zawiązana po to, aby wskazać i wdrożyć skuteczne środki zaradcze, niepodlegające wpływom decydentów.

Rozpoznanie przyczyn chorób odzwierzęcych, charakterystyka czynnika etiologicznego, wskazanie jego gospodarzy musi wynikać ze wspólnej pracy ekspertów z różnych dziedzin. W obecnych strukturach nie ma możliwości wspólnego działania fachowców z różnych dyscyplin – lekarzy medycyny, lekarzy weterynarii, ekologów, ekspertów zdrowia publicznego czy inspektorów urzędowej kontroli żywności. Trudno doszukać się roboczej współpracy między lekarzami weterynarii i lekarzami medycyny pracy, a ci z kolei nie znajdują się w układzie powiązań służbowych z lekarzami pierwszego kontaktu a do których jako pierwsze trafiają osoby zakażone.

Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) przed laty wyszła z inicjatywą programu „Jedno zdrowie” (One Health) w celu rozwinięcia koncepcji działania na styku człowiek – zwierzę – środowisko (42, 43). Jednak jest to niewystarczające, aby zaradzić problemom zakażeń odzwierzęcych, nie tylko o etiologii wirusowej (44), chociaż potrzeba rozwinięcia tego programu nie może budzić wątpliwości.

Wysoka śmiertelność wśród zakażonych SARS-CoV-2, zapewne wysoki wskaźnik DALY (disability adjusted life-years – lata życia skorygowane niesprawnością), będący kryterium określającym stan zdrowia społeczeństwa (co odzwierciedla suma liczby utraconych lat życia oraz lat przeżytych w niesprawności pozwalająca stwierdzić, w jaki sposób określone choroby wpływają na długość życia i jego jakość), to jedna strona społecznego obciążenia wciąż trwającej zoonozy. Nieznane są jeszcze koszty gospodarcze wynikające ze strat ekonomicznych i z zachwiania gospodarki, jakie trzeba będzie płacić każdemu z nas, w wymiarze indywidualnym, państwowym czy globalnie, z powodu zoonoz, zwłaszcza tej wywołanej wirusem SARS-CoV-2. Wiadomo, że wymagane będą

inwestycje w działania profilaktyczne, aby zachować zdrowie ludzi i zwierząt.

Należy skupić również szczególną uwagę na rozwikłaniu przyczyn rozpowszechniania w przyrodzie nowych patogenów izolowanych od zwierząt domowych i żyjących w niewoli, nie pomijając sposobu, w jaki produkty pochodzenia zwierzęcego stają się składnikiem diety ludzi czy zwierząt gospodarskich. W naszej szerokości geograficznej, przy rozwiniętej kulturze rolnej i przetwórczej, mimo prawidłowo działającej inspekcji weterynaryjnej i sanitarnej, nie będzie to łatwe, ponieważ nie można wykluczyć pojawienia się zakażeń, których źródłem mogą być drobnoustroje pochodzące od zwierząt, takich jak np. krewetki, małże i inne z zasobów mórz i oceanów, niepoddanych skutecznej obróbce termicznej, czy od zanieczyszczonego odchodami i wydzielinami runa leśnego albo przydomowego ptactwa narażonego na bezpośredni kontakt z migrującymi gatunkami dzikich ptaków.

Nawet wyłączając udział nietoperzy w przenoszeniu na człowieka koronawirusów poprzez radykalne zakazanie handlu gatunkami dziko żyjących zwierząt, można działać prewencyjnie wśród społeczności będących odbiorcami takich produktów. Nasilenie nielegalnego handlu zwierzętami dzikimi na rynku azjatyckim można zwalczać, ograniczając popyt na określone gatunki żywych zwierząt, docierając do ich końcowych odbiorców. Należy egzekwować (regulacje prawno-administracyjne) w skali globalnej działania powstrzymujące kłusownictwo i w ten sposób eliminować te zwierzęta z czarnego rynku, identyfikować źródła pochodzenia dzikich zwierząt oferowanych na sprzedaż i prowadzić kampanie na rzecz ochrony przed wyginieciem tych, które padają ofiarą polowań.

Konieczne jest znalezienie remedium zapobiegającego rozprzestrzenianiu się wirusa wśród ludzi, zaraz po przełamaniu przez niego bariery międzygatunkowej, co nie umniejsza potrzeby opracowania szczepień chroniących przed chorobą czy wprowadzenia skutecznej terapii przeciwwirusowej. Jednak ani przyszłe szczepionki, ani środki lecznicze nie będą zapobiegać i hamować początkowej transmisji wirusa, aktywność i cechy czynnika zakaźnego są bowiem w tym czasie nieprzewidywalne.

Nagle pojawienie się nieznanego dotąd czynnika zagrażającego ludziom nie tylko rozwinęło studia nad etiologią zakażeń, ale też nasiliło badania nad znalezieniem skutecznych środków przeciwwirusowych, w tym nad szczepionką przeciw SARS-CoV. W niektórych częściach Afryki zapobieganie zakażeniom przez wirus Ebola i przyszłym zagrożeniom koronawirusami wymagać może zmiany nawyków żywieniowych lokalnych społeczności, wyeliminowania z diety surowego mięsa dzikich zwierząt, co nadal jest tam normą kulturową, i takie pożywienie bywa dostępne nawet w renomowanych afrykańskich restauracjach. Pozostaje również zachęcanie ludności tubylczej do rozwoju różnych form rolnictwa i hodowli zwierząt zapewniających źródła białka konsumpcyjnego. Na Bliskim Wschodzie ponowne ocenie powinien być poddany system kontroli hodowli wielbłądów, aby

umożliwić zwalczanie ciągle tłących się tam przypadków zakażeń MERS-CoV.

Można odnieść się do przykładu, jakim jest zahamowanie rozprzestrzeniania się wirusa Nipah. Oddzielenie ferm trzody chlewnej od upraw drzew palmowych, a tym samym od obecności nietoperzy owocożernych w środowisku hodowli świń, znacznie zmniejszyło ryzyko pojawienia się zakażeń wywołanych tym wirusem.

Jedno zjawisko związane z epidemią SARS-CoV-2 zachwyca, zauważa się bowiem globalną mobilizację ludzi nauki, którzy teraz działają niezależnie obok tradycyjnego obiegu generującego dostęp do informacji naukowej. Naukowcy przedstawiają bez ograniczeń na różnych forach internetowych i platformach swoje pomysły, komentarze i deklarują pomoc w rozwiązaniu problemów technicznych, w celu uporania się z zagrożeniem wywołanym przez koronawirusa, a nawet oferują wsparcie badawcze (nieodpłatnie!) i testowanie w swoich laboratoriach nowych leków. Nie było nigdy przedtem podobnie nośnego alertu w rozwoju nauk przyrodniczych. Ciekawe tylko, czy polscy badacze znajdą się licznie wśród tej awangardowej grupy.

Nie ma wątpliwości, że obecnie nie będzie można wykorzystać uzyskanych teraz wyników, ponieważ epidemia COVID-19, będąca jak każda inna prawem natury, wygaśnie. Największą więc szansą na wprowadzenie do praktyki leku jest wyodrębnienie z istniejących tego, który po badaniach potwierdzających okaże się skuteczny w sytuacjach klinicznych. Dlatego tak liczne jest zgłaszanie do badań klinicznych istniejących już leków, które mogą okazać się skuteczne w leczeniu Covid-19.

Spółeczność weterynaryjna powinna śledzić rozwój globalnej epidemii Covid-19, aby uaktualniać swoją wiedzę na temat identyfikowania ryzyka zakażeń zwierząt i możliwości przenoszenia się COVID-19 wśród zwierząt.

Pozostaje bez odpowiedzi pytanie, czy pojawienie się wirusa SARS-CoV-2 to ostrzeżenie przed zbyt daleko idącą globalizacją, czy lekcja pokory dla nazbyt ufnych w skuteczność mechanizmów cywilizacji zachodniej, a może jeszcze coś innego, co dosyć trudne jest do wytłumaczenia antropocentrystom.

## Podsumowanie

Choroby odzwierzęce to wspólne pole działań nauk medycznych i weterynaryjnych. Dynamika wirusowych zoonoz w ostatnich dwóch dekadach zaskakuje, a nieoczekiwane bieżące wydarzenia zagrażają zdrowiu i życiu ludzi, sprzyjając także globalnemu spowolnieniu. Ze względu na obserwowaną wśród wirusów łatwość przechodzenia barier międzygatunkowych zakażenia wirusowe uważa się obecnie za najczęstszą przyczynę zakażeń odzwierzęcych.

Dla zachowania zdrowia publicznego ważne jest szybkie i prawidłowe rozpoznanie przyczyn nowych chorób odzwierzęcych oraz pełna charakterystyka czynników etiologicznych ze wskazaniem ich gospodarzy. Na podstawie pracy ekspertów z różnych dziedzin działających w sieci struktur zdrowia publicznego można rozwikłać interakcje, które warunkują



pojawianie się nieznanymi dotąd zakażeń lub ich nawrotów. Należy skupić się na ujawnieniu przyczyn rozpowszechniania nowych patogenów izolowanych od zwierząt domowych i wolno żyjących, uwzględniając to, w jaki sposób produkty pochodzenia zwierzęcego stają się składnikiem diety ludzi.

Pojawienie się SARS-CoV-2 potwierdza fakt nieznaności pełnej listy patogenów ludzi i zwierząt odpowiedzialnych czy współodpowiedzialnych za wywoływanie rozmaitych chorób (45).

## Piśmiennictwo

- Truszczyński M., Pejsak Z.: Zoonozy wywołane przez bakterie i wirusy, których gospodarzem jest świnia. *Życie Wet.* 2016, **91**, 114–117.
- Osek J., Wiczorek K.: Choroby odzwierzęce u ludzi oraz obecność bakteryjnych czynników etiologicznych u zwierząt i w żywności w krajach Unii Europejskiej w 2016 r. *Życie Wet.* 2018, **93**, 152–156.
- <https://www.who.int/csr/sars/country/en/>
- Su S., Wong G., Shi W., Liu J., Lai A.C.K., Zhou J., Liu W., Bi Y., Gao G.F.: Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses. *Trends Microbiol.* 2016, **24**, 490–502.
- Guan Y., Zheng B.J., He Y.Q.: Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China. *Science* 2003, **302**, 276–278.
- Chang C.K., Sue S.C., Yu T.H.: Modular organization of SARS coronavirus nucleocapsid protein. *J. Biomed. Sci.* 2006, **13**, 59–72.
- Armstrong J., Niemann H., Smeekens S., Rottier P., Warren G.: Sequence and topology of a model intracellular membrane protein, E1 glycoprotein, from a coronavirus. *Nature*. 1984, **308**, 751–752.
- Nal B., Chan C., Kien F., Siu L., Tse J., Chu K., Kam J., Staropoli I., Crescenzo-Chaigne B., Escriou N., van der Werf S., Yuen K.Y., Altmeyer R.: Differential maturation and subcellular localization of severe acute respiratory syndrome coronavirus surface proteins S, M and E. *J. Gen. Virol.* 2005, **86**, 1423–1434.
- Sturman L.S., Holmes K.V., Behnke J.: Isolation of coronavirus envelope glycoproteins and interaction with the viral nucleocapsid. *J. Virol.* 1980, **33**, 449–462.
- Klauegger A., Strobl B., Regl G., Kaser A., Luytjes W., Vlasak R.: Identification of a coronavirus hemagglutinin-esterase with a substrate specificity different from those of influenza C virus and bovine coronavirus. *J. Virol.* 1999, **73**, 3737–3743.
- Millet J.K., Whittaker G.R.: Host cell proteases: critical determinants of coronavirus tropism and pathogenesis. *Virus Res.* 2015, **202**, 120–134.
- Bosch B.J., van der Zee R., de Haan C.A., Rottier P.J.: The coronavirus spike protein is a class I virus fusion protein: structural and functional characterization of the fusion core complex. *J. Virol.* 2003, **77**, 8801–8811.
- Coutard B., Valle C., de Lamballerie X., Canard B., Seidah N.G., Decroly E.: The spike glycoprotein of the new coronavirus 2019-nCoV contains a furin-like cleavage site absent in CoV of the same clade. *Antiviral Res.* 2020, **176**, 104742.
- Nieto-Torres J.L., Dediego M.L., Verdía-Baguena C., Jiménez-Guardado J.M., Regla-Nava J.A., Fernández-Delgado R., Castaño-Rodríguez C., Alcaraz A., Torres J., Aguilera V.M., Enjuanes L.: Severe acute respiratory syndrome coronavirus envelope protein ion channel activity promotes virus fitness and pathogenesis. *PLoS pathogens*. 2014, **10**, e1004077.
- Cheng P.K., Wong D.A., Tong L.K., Ip S.M., Lo A.C., Lau C.S., Yeung E.Y., Lim W.W.: Viral shedding patterns of coronavirus in patients with probable severe acute respiratory syndrome. *Lancet.* 2004, **363**, 1699–1700.
- Beniac D.R., Andonov A., Grudski E., Booth T.F.: Architecture of the SARS coronavirus prefusion spike. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2006, **13**, 751–752.
- Delmas B., Laude H.: Assembly of coronavirus spike protein into trimers and its role in epitope expression. *J. Virol.* 1990, **64**, 5367–5375.
- Abraham S., Kienzle T.E., Lapps W., Brian D.A.: Deduced sequence of the bovine coronavirus spike protein and identification of the internal proteolytic cleavage site. *Virology*. 1990, **176**, 296–301.
- de Groot R.J., Luytjes W., Horzinek M.C., van der Zeijst B.A., Spaan W.J., Lenstra J.A.: Evidence for a coiled-coil structure in the spike proteins of coronaviruses. *J. Mol. Biol.* 1987, **196**, 963–966.
- Li W., Moore M.J., Vasilieva N., Wong S.K., Berne M.A., Somasundaran M., Sullivan J.L., Luzuriaga K., Greenough T.C., Choe H., Farzan M.: Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature*. 2003, **426**, 450–454.
- Wan Y., Shang J., Graham R., Baric R.S., Li F.: Receptor recognition by novel coronavirus from Wuhan: an analysis based on decade-long structural studies of SARS. *J. Virol.* 2020, **94**, e00127–20.
- Bosch B.J., Bartelink W., Rottier P.J.M.: Cathepsin L functionally cleaves the severe acute respiratory syndrome coronavirus class I fusion protein upstream of rather than adjacent to the fusion peptide. *J. Virol.* 2008, **82**, 8887–8890.
- Belouzard S., Chu V.C., Whittaker G.R.: Activation of the SARS coronavirus spike protein via sequential proteolytic cleavage at two distinct sites. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2009, **106**, 5871–5886.
- Matsuyama S., Nagata N., Shirato K., Kawase M., Takeda M., Taguchi E.: Efficient activation of the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein by the transmembrane protease TMPRSS2. *J. Virol.* 2010, **84**, 12658–12664.
- Mille J.K., Whittaker G.R.: Host cell entry of Middle East respiratory syndrome coronavirus after two-step, furin-mediated activation of the spike protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2014, **111**, 15214–15219.
- Seidah N.G., Prat A.: The biology and therapeutic targeting of the proprotein convertases. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2012, **11**, 367–383.
- Bosch B.J., Bartelink W., Rottier P.J.M.: Cathepsin L functionally cleaves the severe acute respiratory syndrome coronavirus class I fusion protein upstream of rather than adjacent to the fusion peptide. *J. Virol.* 2008, **82**, 8887–8890.
- Bar-On Y.M., Flamholz A., Phillips R., Milo R.: SARS-CoV-2 (COVID-19) by the numbers. *Elife* 2020, **31**, 9.
- Maslov S., Sneppen K.: Severe population collapses and species extinctions in multihost epidemic dynamics. *Phys. Rev.* 2017, **96**, 1–5.
- <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>
- Rembaut A. Phylodynamic Analysis | 176 genomes | 6 Mar 2020 <http://virological.org/t/phylodynamic-analysis-176-genomes-6-mar-2020/356>
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/MN908947>
- Paraskevis D., Kostaki E.G., Magiorkinis G., Panayiotakopoulos G., Sourvinos G., Tsiodras S.: Full-genome evolutionary analysis of the novel coronavirus (2019-nCoV) rejects the hypothesis of emergence as a result of a recent recombination event. *Infect. Genet. Evol.* 2020, **79**, 104212.
- Yu M., Stevens V., Berry J.D., Cramer G., McEachern J., Tu C., Shi Z., Liang G., Weingartl H., Cardosa J., Eaton B.T., Wang L.F.: Determination and application of immunodominant regions of SARS coronavirus spike and nucleocapsid proteins recognized by sera from different animal species. *J. Immunol. Methods.* 2008, **29**, 1–12.
- Wu D., Tu C., Xin C., Xuan H., Meng Q., Liu Y., Yu Y., Guan Y., Jiang Y., Yin X., Cramer G., Wang M., Li C., Liu S., Liao M., Feng L., Xiang H., Sun J., Chen J., Sun Y., Gu S., Liu N., Fu D., Eaton B.T., Wang L.F., Kong X.: Civets are equally susceptible to experimental infection by two different severe acute respiratory syndrome coronavirus isolates. *J. Virol.* 2005, **79**, 2620–2625.
- Letko M., Marzi A., Munster V.: Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses. *Nat. Microbiol.* 2020, **5**, 562–569.
- Deng J., Jin Y., Liu Y., Sun J., Hao L., Bai J., Huang T., Lin D., Jin Y., Tian K.: Serological survey of SARS-CoV-2 for experimental, domestic, companion and wild animals excludes intermediate hosts of 35 different species of animals. *Transbound Emerg. Dis.* 2020, **17**, doi: 10.1111/tbed.13577
- Cagliani R., Forni D., Clerici M., Sironi M.: Computational inference of selection underlying the evolution of the novel coronavirus, SARS-CoV-2. *J. Virol.* 2020, on-line.
- Menachery V.D., Yount B.L. Jr., Debbink K., Agnihothram S., Gralinski L.E., Plante J.A., Graham R.L., Scobey T., Ge X.Y., Donaldson E.F., Randell S.H., Lanzavecchia A., Marasco W.A., Shi Z.L., Baric R.S.: A SARS-like cluster of circulating bat coronaviruses shows potential for human emergence. *Nat. Med.* 2015, **21**, 1508–1513.
- Ge X.Y., Li J.L., Yang X.L., Chmura A.A., Zhu G., Epstein J.H., Mazet J.K., Hu B., Zhang W., Peng C., Zhang Y.J., Luo C.M., Tan B., Wang N., Zhu Y., Cramer G., Zhang S.Y., Wang L.F., Daszak P., Shi Z.L.: Isolation and characterization of a bat SARS-like coronavirus that uses the ACE2 receptor. *Nature*. 2013, **503**, 535–538.
- <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT04351763?cond=COVID&cntry=PL&draw=2&rank=1>
- <https://www.who.int/features/qa/one-health/en/>
- Truszczyński M., Pejsak Z.: „Jedno Zdrowie” – koncepcja łącząca działalność naukową i praktyczną z zakresu ochrony zdrowia człowieka i zwierząt. *Życie Wet.* 2015, **90**, 280–283.
- Karesh W.B., Dobson A., Lloyd-Smith J.: Ecology of zoonoses: natural and unnatural histories. *Lancet.* 2012, **380**, 1936–1945.
- Fehr A.R., Perlman S.: Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol. Biol.* 2015, **1282**, 1–23.

Dr hab. Danuta Kruszevska, emerytowany prof. KUL,  
e-mail: dk@eurochit.com