

Emergentne zoonoze uzrokovane koronavirusima

Emergent Zoonoses Caused by Coronaviruses



Taraš, M.^{1*}, Lj. Barbić²

Sažetak

Emergentne zoonoze sve su učestalije, a ovaj je trend uvjetovan razvojem današnjeg društva. U najvažnije čimbenike emergencije pripadaju socio-demografske promjene, klimatske promjene te čovjekov utjecaj na okoliš, kao i prilagodba mikroorganizama. Tipičan je primjer emergentnih zoonoza pojava emergentnih koronavirusa koji su po gotovo identičnim obrascima u posljednja dva desetljeća uzrokovali SARS, MERS i COVID-19. Koronavirusi uzrokuju bolesti u različitim vrsta životinja i ljudi te su skloni mutacijama. Zbog toga je njihov međuvrtni prijenos stalna opasnost što se i potvrdilo u nastanku ovih bolesti. Štoviše, za sva tri uzročnika rezervoari su bili šišmiši, te su se preko neke životinjske vrste, koja je imala ulogu međudomaćina, prilagodili i uspješno prenijeli na čovjeka. Nakon toga su se nastavili širiti među ljudima uzrokujući oboljenja s primarno respiratornim kliničkim znakovima i znatnom smrtnošću. Uz sve trenutačne mjere, koje se provode zbog suzbijanja jedne od najvećih pandemija u povijesti čovječanstva, istraživanja je potrebno usmjeriti u što ranije otkrivanje novih potencijalnih pandemijskih virusa kako ne bismo ponovno bili nespretni na ponavljajući obrazac pojave emergentnih koronavirusa, kao i drugih zoonotskih uzročnika u budućnosti.

Abstract

Emergent zoonoses are appearing more and more frequently, which is the result of the development of modern society. The most important factors of their emergence include socio-demographic changes, climate change, and human impact on the environment, as well as the adaptation of microorganisms. A typical example of emergent zoonoses is the appearance of the emergent coronaviruses that have caused SARS, MERS, and COVID-19 in almost identical patterns in the last two decades. Coronaviruses cause diseases in various species of animals and humans, and are extremely prone to mutations so their interspecific transmission is a constant danger, which has been confirmed in the development of these diseases. Moreover, for all three causative agents, the reservoirs were bats, and they adapted and were successfully transmitted to humans via an animal species that acted as an intermediate host. They then continued to spread among humans, causing diseases with primarily respiratory clinical signs and substantial mortality. Alongside all the current measures being taken to control one of the largest pandemics in human history, researchers should focus on detecting new potential pandemic viruses as early as possible, so mankind can prepare better for the recurring pattern of emerging coronaviruses and other zoonotic agents in the future.

¹Mario Taraš, dr. med. vet, Salvus d. o. o., Toplička cesta 100, 49 240 Donja Stubica
²prof. dr. sc. Ljubo Barbić, Zavod za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

*e-adresa: taras.mario@gmail.com

Ključne riječi: emergentne zoonoze, koronavirus, SARS, MERS, COVID-19

Key words: emergent zoonoses, coronavirus, SARS, MERS, COVID-19

UVOD

Emergentne zarazne bolesti definirane su kao one čija je incidencija u ljudi porasla u posljednja dva desetljeća ili se u bliskoj budućnosti očekuje njihova veća pojavnost (Hui, 2006.). One su jedan od najvećih javnozdravstvenih problema, a njihovu je pojavu gotovo nemoguće u potpunosti predvidjeti. Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije oko 75 % emergentnih bolesti koje su se pojavile u ljudi u posljednjih desetak godina uzrokovano je patogenim organizmima koji potječu od životinja ili od proizvoda životinjskog podrijetla. Velik broj tih bolesti ima potencijal za širenje na različite načine i na velike udaljenosti, te vrlo lako mogu postati globalni problem (Gebreyes i sur., 2014.). Koronavirusi su poznati kao uzročnici bolesti već desetljećima, ali su na važnosti dobili tek u 21. stoljeću, izbijanjem epidemije teškog akutnog respiratornog sindroma (engl. *severe acute respiratory syndrome*, SARS) u ljudi te velikim ekonomskim gubicima uzrokovanim koronavirusom, koji su pogodili svinjogojstvo. Koronavirusi obično uzrokuju dišne i crijevne infekcije životinja i ljudi. U humanoj su se medicini smatrali relativno bezopasnim uzročnicima blagih respiratornih bolesti sve do pojave SARS-a 2002. godine u Kini (Weiss i Navas-Martin, 2005.). Desetljeće poslije još je jedan koronavirus, uzročnik bliskoistočnog respiratornog sindroma (engl. *Middle East respiratory syndrome*, MERS), izdvojen iz bolesnika s upalom pluća u zemljama Bliskog istoka. Nedavno se, krajem 2019. godine u Wuhanu, Kina, pojavio novi koronavirus, SARS-CoV-2, koji je trenutačno globalni zdravstveni problem. Zajedničko je svim trima virusima podrijetlo iz šišmiša te da su u ljudsku populaciju uneseni preko životinjskog međudomaćina (Guarner, 2020.).

KORONAVIRUSI

Koronavirusi su pripadnici porodice *Coronaviridae* te su zajedno s porodicama *Arteriviridae*, *Roniviridae* i *Mesoniviridae* svrstani u red *Nidovirales*. Članovi porodice *Coronaviridae* se na temelju genetskih i antigenskih značajki mogu podijeliti u četiri roda: *Alphacoronavirus* (α -Cov), *Betacoronavirus* (β -Cov), *Gamacoronavirus* (γ -Cov) i *Deltacoronavirus* (δ -Cov). Najviše pažnje znanstvene javnosti izazivaju pripadnici

roda *Betacoronavirus* zbog činjenice da svi poznati koronavirusi koji uzrokuju teške kliničke slike u čovjeka pripadaju upravo ovom rodu. Unutar njega nalaze se tri najpoznatije vrste koronavirusa ljudi: SARS-CoV, MERS-CoV i SARS-CoV-2 (Rehman i sur., 2020.). Osim ovih najpoznatijih, još četiri koronavirusa uzrokuju blagu prehladu u ljudi, a to su HCoV-OC43 i HCoV-HKU1, koji također pripadaju rodu *Betacoronavirus*, te HCoV-NL63 i HCoV-229E, pripadnici roda *Alphacoronavirus* (Weiss i Navas-Martin, 2005.). Osim humanih koronavirusa, u veterinarskoj su medicini velik problem koronavirusi koji inficiraju različite vrste životinja. Među najvažnijim takvim virusima jesu virus zaraznog bronhitisa (engl. *infectious bronchitis virus*, IBV), virus transmisivnog gastroenteritisa svinja (engl. *transmissible gastroenteritis virus*, TGEV), virus epizootskog proljeva u svinja (engl. *porcine epidemic diarrhea virus*, PEDV) te, u posljednje vrijeme, virus sindroma akutnog proljeva svinja (engl. *swine acute diarrhoea syndrome coronavirus*, SADS-CoV) (Banerjee i sur., 2019.).

TEŠKI AKUTNI RESPIRATORNI SINDROM – SARS

Infekcija virusom SARS-CoV uzrokovala je prvu emergentnu koronavirusnu zoonozu u ovom tisućljeću. Prvi slučajevi atipične pneumonije u ljudi zabilježeni su u Kini 2002. godine, a bolest je zbog kliničkih značajki nazvana teškim akutnim respiratornim sindromom. Za naziv bolesti češće se upotrebljava pokratak SARS koja je nastala od prvih slova naziva bolesti na engleskom jeziku *Severe Acute Respiratory Syndrome*.

Etiologija

SARS-CoV je okruglasta oblika, složene simetrije. Veličina virusne čestice s ovojnicom je 80 – 120 nm. Virusni je genom jednolančana pozitivno usmjerena ribonukleinska kiselina okružena ovojnicom koja sadržava virusne glikoproteine. U građi SARS-CoV bitna su tri glikoproteina: nukleokapsidni glikoprotein (N), koji je povezan s RNK i sudjeluje u oblikovanju nukleokapside, transmembranski protein (M), koji se tri puta prožima kroz ovojnicu te je izrazito hidrofoban, i glikoprotein (S) koji je izdanak ovojnice, a po kojemu su koronavirusi i dobili

ime. Uloga glikoproteina (S) u patogenezi jest vezanje virusa na stanične receptore (Weiss i Navas-Martin, 2005.).

Epidemiologija i epizootiologija

SARS je prva emergentna bolest 21. stoljeća koja je predstavljala znatnu prijetnju zdravlju ljudi te imala globalni epidemijski potencijal. Od prve pojave bolesti do sekvenciranja genoma virusa proteklo je dva mjeseca, kad je ustanovljeno da je uzročnik SARS-a potpuno novi koronavirus. Epidemija koja je nastala krajem 2002. godine i trajala do srpnja 2003. godine rezultirala je s 8422 zabilježena slučaja zaraze, među kojima je 916 (11 %) oboljelih preminulo (Chan-Yeung i Xu, 2003.). Zbog sve većeg bliskog kontakta ljudi i divljih životinja nametalo se pitanje je li došlo do prelaska virusa sa životinje na čovjeka te je bilo važno utvrditi prvotni rezervoar bolesti. Istraživanja provedena na tržnici na kojoj je izbila epidemija dokazala su uzročnika SARS-a u obrisku nosa azijskih cibetki palmašica (*Paradoxurus hermaphroditus*), koje se otađa smatraju najvažnijim međudomaćinom ovog emergentnog zoonotskog uzročnika (Banerjee i sur., 2019.). Prijenos virusa među ljudima događa se kapljično ili indirektnim dodiranjem, dolaškom u kontakt s površinama kontaminiranim virusom (Peiris i sur., 2003.).

Klinička slika

Inkubacija traje 2 – 10 dana i u pravilu bolest započinje povišenom tjelesnom temperaturom, malaksalošću, kašljem, mijalgijom i osjećajem zimice. Gubitak daha, tahipneja i pleuritis pojavljuju se tek u kasnijem stadiju bolesti. Limfopenija je zabilježena u 98 % slučajeva, a u nekih pacijenata i trombocitopenija te popratno s tim povišene vrijednosti D-dimera i produljeno aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme (engl. *activated partial thromboplastin time*, APTT) (Hui i sur., 2003.).

Liječenje i dijagnostika

Liječenje SARS-a je kompleksno. Razlozi za to nepredvidiv tijek bolesti te još uvijek nedovoljno razjašnjena patogeneza bolesti (Tsang i Lam, 2003.). U početnoj fazi bolesti liječenje se sastojalo od primjene inhibitora proteaze (lopinavir/ritonavir) u kombinaciji s ribavirinom. Lo-

pinavir i ritonavir su lijekovi koji se upotrebljavaju u liječenju HIV-a, a istraživanja su dokazala njihovu učinkovitost *in vivo* u kombinaciji s ribavirinom (Chu i sur., 2004.). Osim toga u liječenju SARS-a primjenjivao se interferon i plazma pacijenata koji su se oporavili od SARS-a (Cinatl i sur., 2003.). Laboratorijska metoda izbora za dokaz SARS-CoV jest lančana reakcija polimerazom u stvarnom vremenu (engl. *real-time*, RT-PCR), dok je dokaz specifičnih protutijela kod SARS-CoV moguć imunoenzimnim testom (ELISA) ili imunofluorescencijom. Istraživanja su potvrdila da se unutar 28 dana od početka bolesti u gotovo svih bolesnika razvije detektibilan titar protutijela (Hui i sur., 2003.).

Dokaz infekcije SARS-CoV u životinja

Na temelju epidemioloških izvještaja prvih pacijenata u provinciji Guangdong, primijećena je njihova izloženost divljim životinjama držanima na tržnici i posluživanima u restoranima. U želji da se identificira izvor SARS-CoV-a, u provinciji Guangdong istraživao je velik broj različitih vrsta životinja. Na temelju istraživanja virus koji je genetski i antigenski sličan ljudskom SARS-CoV-u utvrđen je RT-PCR metodom u brisu nosa i izmeta azijskih cibetki palmašica i kunopsa (*Nyctereutes procyonoides*). Serološki dokaz infekcije, osim u njih, utvrđen je i u kineskih tvor-jazavaca (*Melogale moschata*) (Guan i sur., 2003.). Iako su prvotna istraživanja sugerirala da su azijska cibetka palmašica i rakun (*Procyon lotor*) izvor virusa za čovjeka, kasnijim je istraživanjima dokazano da su oni međuvrsta u prijenosu uzročnika. Istraživanja koronavirusa u šišmiša dokazala su da su šišmiši roda potkovnjaka (*Rhinolophidae*) primarni rezervoari virusa SARS-CoV. Virus se iz šišmiša uspio replicirati na staničnim kulturama podrijetlom iz čovjeka, šišmiša i svinje. Provedeno je istraživanje uputilo i na mogućnost izravnog prijenosa virusa SARS-CoV sa šišmiša na ljude, bez posredstva azijske cibetke palmašice kao međudomaćina (Banerjee i sur., 2019.). Od eksperimentalnih životinja za praćenje imunogenosti i učinkovitosti potencijalnih cjepiva korišteni su javanski maki (*Macaca fascicularis*) i afrički zeleni majmun (*Cercopithecus aethiops sabeus*) kao prijemljivi domaćini s kliničkim očitovanjem sličnim kao u ljudi (Gong i Bao, 2018.).

BLISKOISTOČNI RESPIRATORNI SINDROM – MERS

Bliskoistočni respiratorni sindrom bolesti je uzrokovana emergentnim koronavirusom koji se prvi put pojavio 2012. godine na Bliskom istoku, gdje i danas uzrokuje oboljenja u ljudi. Ovaj je novi uzročnik nazvan MERS-CoV, a ime je dobio od prvih slova engleskog naziva za bolest, *Middle East Respiratory Sindrom*, te nastavka CoV koji označuje da se radi o koronavirusu.

Etiologija

MERS-CoV je šesti otkriveni koronavirus koji inficira ljude. Slično kao i kod ostalih koronavirusa, on je ovijeni virus koji sadržava vrlo veliku, 28 – 32 kb, jednostruku pozitivno usmjerenu RNK. Da bi ušao u stanicu domaćina, veže se na receptor dipeptidil-peptidaza 4 (DPP4) (Arabi i sur., 2017.). Virus je izrazito stabilan, za razliku od većine ostalih virusa u istim vanjskim uvjetima. MERS-CoV dodan u mlijeko ostao je stabilan 72 sata pri temperaturi od 4 °C te 48 sati pri temperaturi od 22 °C, dok proces pasterizacije potpuno inaktivira virus. U okolišu na temperaturi od 30 °C i relativnoj vlažnosti od 30 % virus ostaje infektivan 24 sata (Mackay i Arden, 2015.).

Epidemiologija i epizootologija

Do sada je zabilježeno 2499 slučajeva infekcije u 27 država te je zabilježeno najmanje 858 smrtnih slučajeva (34,3 %) povezanih s infekcijom MERS-CoV. Otprilike 80 % prijavljenih slučajeva dolazi iz Saudijske Arabije koja je najviše pogođena epidemijom. Prijenos virusa sa životinja na čovjeka još nije u potpunosti razjašnjen, ali se smatra da je i ovaj virus podrijetlom od šišmiša, dok se međudomaćinom smatraju jednogrbe deve koje su i glavni izvor infekcije za ljude (Zumla i sur., 2015.). Iako put prijenosa ostaje nepoznat, izgleda da je konzumacija nepasteriziranog mlijeka i termički neobrađenog mesa mogući izvor infekcije za čovjeka. Osim toga MERS je respiratorna zarazna bolest u jednogrbih deva (*Camelus dromedarius*), stoga je vrlo vjerojatno širenje infekcije kapljicama sekreta oboljelih životinja (Gong i Bao, 2018.). Prijenos virusa među ljudima primarno se događa bliskim kontaktom s pacijentima u bolnicama kojima je potvrđen MERS, i to kapljičnim šire-

njem. Osim toga kontaminacija površina i predmeta u sobi u kojoj su pacijenti također može rezultirati širenjem virusa. Stoga je većina slučajeva prijenosa virusa među ljudima posljedica njegova širenja u bolnicama (Arabi i sur., 2017.).

Klinička slika

Inkubacija bolesti traje od 2 do 13 dana. Klinička slika može biti od asimptomatske infekcije do razvoja izražene pneumonije, s pojavom akutnog respiratornog distresnog sindroma, septičkog šoka i multiorganskog zatajenja koje rezultira smrću (Malik i sur., 2016.). MERS u pravilu počinje porastom temperature, suhim kašljem, bolovima u mišićima i zglobovima, upalom grla, osjećajem zimice koji prati dispneja s naglim razvojem upale pluća u prvih tjedan dana od početka bolesti. Koncentracija virusa u gornjem dišnom sustavu niža je nego u uzorcima uzetim iz pluća, te se smatra da ovo ima određenu ulogu u manjoj transmisiji virusa među ljudima za razliku od virusa SARS-CoV i SARS-CoV-2 (Zumla i sur., 2015.).

Liječenje i dijagnostika

Specifičnog liječenja i etiološkog lijeka za MERS nema, a istraživani su učinci različitih lijekova. Klorokin, klorpromazin, loperamid i lopinavir inhibiraju replikaciju virusa *in vitro* u učinkovitim dozama, ali njihova učinkovitost u ljudi zasad nije poznata. Ljudska monoklonska neutralizacijska protutijela i konvalescentna plazma također su jedan od mogućih načina liječenja koji su se pokazali uspješnima i u liječenju SARS-a (Zumla i sur., 2015.). Osim toga interferon u kombinaciji s ribavirinom ima pozitivan učinak na smanjeno oštećenje pluća i pad titra virusa u plućima prema istraživanju koje je provedeno na javanskim makakijima (Falzarano i sur., 2013.). MERS može biti potvrđen serološki ili molekularno. Pri dokazivanju MERS-a molekularnom metodom radi se RT-PCR. Za potvrđivanje infekcije dokazom protutijela primjenjuje se načelo parnih seruma, a najčešće su serološke metode dijagnostike ELISA i imuno fluorescencija. Rezultati serološkog pretraživanja moraju biti oprezno interpretirani jer postojí mogućnost križne reakcije s ostalim koronavirusima (Zumla i sur., 2015.).

Dokaz infekcije MERS-CoV u životinja

Početna su istraživanja identificirala šišmiša kao izvor zaraze zbog virusa dokazanih u nekoliko vrsta šišmiša za koje je sekvenciranjem genoma dokazana visoka srodnost s virusom MERS-CoV. Osim istraživanja uloge šišmiša u epidemiologiji virusa MERS-CoV provedena su i serološka testiranja drugih životinja kojima je ustanovljeno da je i do 100 % jednogrbih deva u Omanu te 14 % na Kanarskim otocima pozitivno na MERS-CoV. Naknadna su istraživanja potvrdila općenito visok postotak seropozitivnih deva na Arapskom poluotoku. S obzirom na visoku seroprevalenciju, dokaz protutijela na MERS-CoV u deva smatra se jednim od glavnih dokaza zbog kojih se deve smatraju međudomaćinom virusa MERS-CoV za prijenos na ljude, ali i najvažnijim izvorom infekcije za čovjeka (Reusken i sur., 2013.). Također, istraživanje provedeno u Kataru 2015. godine dokazalo je infekciju virusom MERS-CoV u alpaka koje su držane u zajedničkom uzgoju s devama (Hemida i sur., 2013.).

COVID-19

Krajem 2019. godine zabilježena je prva pojava trećeg emergentnog zoonotskog koronavirusa u 21. stoljeću, koji je zbog srodnosti s virusom SARS-CoV nazvan SARS-CoV-2. Od prvog slučaja do danas ovaj je uzročnik izazvao globalnu pandemiju bolesti nazvane COVID-19, koja je do sada rezultirala s više od 590 milijuna oboljelih osoba, od kojih je umrlo više od šest milijuna.

Etiologija

Slično kao i kod ostalih betakoronavirusa, veličina genoma iznosi 29,9 kb, virus je ovišen, ima nukleokapsidu te pozitivno usmjerenu jednolančanu RNK. Filogenetskom analizom genoma utvrđeno je da SARS-CoV 2 virus djeli 79,5 % genoma s virusom SARS-CoV, odnosno 50 % s virusom MERS-CoV (Jin i sur., 2020.). SARS-CoV-2 gubi svoju infektivnost pod djelovanjem UV zraka i na temperaturi od 56 °C tijekom 30 minuta. Također, pokazalo se da je virus SARS-CoV-2 otporniji od virusa SARS-CoV u istim uvjetima okoliša (Van Doremalen i sur., 2020.). Ključan protein u infekciji stanice jest površinski izdanak ovojnice, S-protein. Njegovim vezanjem na stanični receptor ACE2 dolazi

do kaskade koja omogućuje fuziju virusne i stanične membrane (Jin i sur., 2020.). Zbog svojstava uzročnika i intenziteta pandemije dolazi do znatnih izmjena u cirkulirajućim sojevima te su u ovom trenutku poznata četiri soja nastala genskim izmjenama od početka pandemije koja su imenovana, prema redosljedu dokazivanja, grčkim slovima od alfa do delta. Evolucija virusa SARS-CoV-2 nastaje genskim mehanizmom homologne rekombinacije tako da se nastanak novih sojeva može očekivati i u bliskoj budućnosti (Wang i sur., 2021.).

Epidemiologija i epizootiologija

Za sada se pretpostavlja da su izvor pandemijskog virusa SARS-CoV-2 šišmiši, dok se najvjerojatnijim međudomaćinom smatra malajski ljuskavac (*Manis javanica*) zbog sličnosti u sekvenciji genoma koronavirusa izdvojenog iz njega (Liu i sur., 2020.). Prvotna istraživanja koja su provedena nakon izbijanja pandemije bila su usmjerena i na istraživanje zmija koje bi mogle biti potencijalni rezervoar infekcije (Ji i sur., 2020.), no do danas nije dokazana mogućnost rezervoara koronavirusa u drugih životinjskih vrsta osim sisavaca i ptica (Bassetti i sur., 2020.). Neovisno o rezervoaru i međudomaćinu, glavni su izvor infekcije za COVID-19 bolesne osobe. Teže oboljele osobe smatraju se zaraznijima od osoba s blažom infekcijom. Glavni je način širenja infekcije među ljudima kapljičnim putem i bliskim izravnim dodirnom. Također, moguće je i širenje infekcije aerosolom u zatvorenom prostoru u kojemu je zabilježena visoka koncentracija aerosola dulje vrijeme (Guo i sur., 2020.).

Klinička slika

COVID-19 smatra se samolimitirajućom raznom bolešću, kod koje većina bolesnih pokazuje blage kliničke znakove i od koje se u potpunosti oporave za jedan do dva tjedna. Postoji pet različitih tipova infekcije COVID-19 prema kliničkoj slici: asimptomatske osobe (1,2 %), blagi do umjereni slučajevi (80,9 %), teži slučajevi (13,8 %), kritični slučajevi (4,7 %) i smrtni slučajevi (2,3 %) od svih zabilježenih slučajeva u svijetu. Inkubacija bolesti traje od 1 do 13 dana, a prosjek je 4 do 7 dana. Najčešći su klinički simptomi bolesti COVID-19 povišena tjelesna temperatura, umor i suhi kašalj. Atipični klinič-

ki simptomi uključuju glavobolju, hemoptizu, mučninu, proljev i povraćanje. Disfunkcija osjetila, ponajprije gubitak osjeta okusa i mirisa, povezana je s infekcijom, ali se u pravilu osjet povrti za 2 do 4 tjedna (Jin i sur., 2020.). Za razliku od ovih početnih podataka, praćenjem kliničkih značajki bolesti COVID-19 uočeno je sve više različitih kliničkih slika koje su izravno povezane s infekcijom SARS-CoV-2. Tako se COVID-19 vrlo brzo prestao smatrati samo primarno respiratornom infekcijom i smatra se multisistemskom bolešću s varijabilnim kliničkim znakovima (Gupta i sur., 2020.).

Liječenje i dijagnostika

Trenutačno se liječenje bolesti COVID-19 sastoji od provođenja simptomatske i potporne terapije koliko je potrebno za kritične pacijente (Guo i sur., 2020.). Akutna infekcija dokazuje se molekularnom detekcijom specifične virusne RNA RT-PCR testom u obriscima nazofarinksa, ždrijela, uzorcima ispljuvka, aspirata traheje ili bronhoalveolarnom lavažom. Serološko testiranje dokazom protutijela ne služi za dokaz akutne infekcije, osim eventualno u osoba koje su imale simptome COVID-19, ali su bile negativne na RT-PCR-u (Sethuraman i sur., 2020.). Zbog potrebe za brzom i pouzdanom dijagnostikom od početka pandemije razvijene su brojne dijagnostičke metode za dokaz antigena i humoralnog odgovora, a u novije se vrijeme razvijaju i testovi za dokaz stanične imunosti u dijagnostici infekcija virusom SARS-CoV-2 (Mangsbo i sur., 2021.).

Dokaz infekcije virusom SARS-CoV-2 u životinja

Kao i za prethodne dvije emergentne zoonoze uzrokovane koronavirusom, i za ovaj novi emergentni koronavirus, SARS-CoV-2, smatra se da su prirodni rezervoar infekcije šišmiši (Ludwig i Zarbock, 2020.). Istraživanja koja su do sada provedena radi utvrđivanja podrijetla virusa SARS-CoV-2, otkrila su sličnost genoma s koronavirusom šišmiša od 96,2 %, a koji u šišmiša ne uzrokuje kliničke znakove bolesti ni patološke promjene (Flores-Alanis i sur., 2020.). Stoga se smatra da je velika vjerojatnost da su upravo šišmiši prirodni rezervoari SARS-CoV-2. Kako su u pravilu staništa šišmiša daleko od ljudske civilizacije te između njih

i ljudi nije učestao izravan dodir, pretpostavlja se da se prijenos virusa na čovjeka dogodio preko međudomaćina, kao što je to bio slučaj kod SARS-a i MERS-a. Istraživanja koja su do sada provedena utvrdila su sličnost u sekvenciji genoma kod malajskog ljuskavca (*Manis javanica*) od čak 85 do 92 % (Zhang i sur., 2020.). Također, mnoga se istraživanja diljem svijeta provode u svrhu pronalaska potencijalnih domaćina za SARS-CoV-2, što je iznimno važno za razumijevanje bolesti COVID-19 kao i za njezinu prevenciju i kontrolu. Od ostalih životinja prirodne su infekcije do sada dokazane u pasa, mačaka, tigrova, lavova i krznaša. Prvi slučaj zaraze psa virusom SARS-CoV-2 potvrđen je u Hong Kongu 27. veljače 2020. godine u 17 godina starog pomeranca koji nije pokazivao kliničke znakove bolesti, a čiji je vlasnik bio pozitivan na koronavirus (Almendros, 2020.). Otada su provedena mnoga istraživanja, a uloga kućnih ljubimaca opsežno je istraživana i u Hrvatskoj. Od ukupno 654 nasumično odabranih uzoraka seruma pasa tijekom prvog vala epidemije bolesti COVID-19 u Hrvatskoj su serološkim pretraživanjem mikroneutralizacijskim testom dva uzorka bila pozitivna, a od 172 uzorka testirana imunoenzimnim testom (ELISA) čak je 13 uzoraka bilo pozitivno. Slično je istraživanje provedeno i u mačaka kojima su protutijela u niskom titru dokazana u jednom uzorku seruma od njih 131 koji su pretraženi mikroneutralizacijskim testom (Stevanović i sur., 2021.a). U drugom istraživanju, nakon drugog vala u Hrvatskoj, dokazan je znatno veći postotak serološki pozitivnih pasa testiranih ELISA testom, koji je u općoj populaciji bio 14,69 %, a u kućanstvima s pozitivnim ljudima čak 43,9 %, od kojih su u 25,64 % dokazana i neutralizacijska protutijela (Stevanović i sur., 2021.b). Uz to je istim istraživanjem uočen znatno veći postotak neuroloških bolesti u serološki pozitivnih pasa, što svakako treba dodatno istražiti.

Bez obzira na navedene rezultate u kućnih ljubimaca, u ovom se trenutku epidemiološki najvažnijim smatraju infekcije krznaša virusom SARS-CoV-2. Prvi slučajevi zaraze među krznašima pojavili su se u travnju 2020. na dvije farme za intenzivni uzgoj američkih vidrica (*Neovison vison*) u Nizozemskoj. Pretpostavlja se da su radnici bili izvor zaraze za vidrice koje su pokazivale različite kliničke znakove bolesti, koji su uključivi

vali serozni iscjedak iz nosa do akutnog respiratornog distresnog sindroma i kliničkih znakova poremećaja probavnog sustava (Oreshkova i sur., 2020.). Bolest se brzo proširila farmom te je radi sprečavanja daljnjeg širenja bolesti donesena odluka o eutanaziji desetak tisuća američkih vidrica (Enserink, 2020.). Tako se danas krznaši smatraju najprijemljivijim životinjama u kojih SARS-CoV-2 može uzrokovati masovna oboljenja i teške kliničke slike (Fenollar i sur., 2021.).

ZAKLJUČAK

Prikazane osnovne značajke infekcija ljudi s tri koronavirusa zoonotskog podrijetla u posljednja dva desetljeća jasno potvrđuju obrazac pojavljivanja ovih emergentnih zoonoza. Sva su tri uzročnika podrijetlom od šišmiša te su se preko neke druge životinjske vrste, kao međudomaćina, prilagodile infekciji čovjeka i širenju među ljudima. Znanstvena i stručna javnost bila je visoko svjesna ovakvih obrazaca pojavljivanja emergentnih koronavirusnih zoonoza. Tako su iz znanstvene zajednice upućena ozbiljna upozorenja o riziku od ovakve pandemije vrlo brzo nakon završetka epidemije SARS-a, dakle godinama prije pandemije bolesti COVID-19 (Webster, 2004.; Cheng i sur., 2007.), uz isticanje visokog epidemiološkog rizika na kineskim mokrim tržnicama. Nažalost, čak ni pojavom MERS-a 2012. godine ovakvi apeli nisu izazvali potrebnu senzibilizaciju javnosti koja bi dovela do intenziviranja istraživanja u skladu s inicijativom *Jedno zdravlje*. Zbog toga danas svjedočimo najvećoj pandemiji u povijesti čovječanstva koja je potpuno promijenila dosadašnje društvo i način života. Stoga nije pitanje jesmo li mogli biti pripremljeniji na pandemiju bolesti COVID-19, jer odgovor je vrlo jasan, nego hoće li se barem nakon njezine pojave prihvatiti nužnost intenzivnih istraživanja potencijalnih zoonotskih uzročnika kako ne bismo uskoro svjedočili nekoj novoj globalnoj pandemiji. Od pojave SARS-a do MERS-a prošlo je devet godina, od MERS-a do bolesti COVID-19 sedam, a koliko će proći do iduće ovisi o povjerenju sustava u znanost i spremnošću da odgovorimo izazovima globalnog modernog doba, u čemu i veterinarska struka zasigurno ima nezamjenjivu ulogu.

LITERATURA

- ALMENDROS, A. (2020): Can companion animals become infected with Covid-19? *Vet. Rec.* 186, 388-389.
- ARABI, Y. M., H. H. BALKHY, F. G. HAYDEN, A. BOUCHAMA, T. LUKE, J. K. BAILLIE, A. AL-OMARI, A. H. HAJEER, M. SENG, M. R. DENISON, J. S. NGUYEN-VAN-TAM, N. SHINDO, A. BERMINGHAM, J. D. CHAPPELL, M. D. VAN KERKHOVE, R. A. FOWLER (2017): Middle East Respiratory Syndrome. *N. Engl. J. Med.* 376, 584-594.
- BANERJEE, A., K. KULCSAR, V. MISRA, M. FRIEMAN, K. MOSSMAN (2019): Bats and Coronaviruses. *Viruses* 11, 41.
- BASSETTI, M., A. VENA, D. R. GIACOBBE (2020): The novel Chinese coronavirus (2019-nCoV) infections: Challenges for fighting the storm. *Eur. J. Clin. Invest.* 50, e13209. doi: <https://doi.org/10.1111/eci.13209>. (9.10.2021.)
- CHAN-YEUNG, M., R. H. XU (2003): SARS: epidemiology. *Respirology* 8, 9-14.
- CHENG, V. C., S. K. LAU, P. C. WOO, K. Y. YUEN (2007): Severe acute respiratory syndrome coronavirus as an agent of emerging and reemerging infection. *Clin. Microbiol. Rev.* 20, 660-694.
- CHU, C. M., V. C. CHENG, I. F. HUNG, M. M. WONG, K. H. CHAN, K. S. CHAN, R. Y. KAO, L. L. POON, C. L. WONG, Y. GUAN, J. S. PEIRIS, K. Y. YUEN (2004): Role of lopinavir/ritonavir in the treatment of SARS: initial virological and clinical findings. *Thorax* 59, 252-256.
- CINATL, J., B. MORGENSTERN, G. BAUER, P. CHANDRA, H. RABENAU, H. DOERR (2003): Treatment of SARS with human interferons. *Lancet* 362, 293-294.
- ENSERINK, M. (2020): Coronavirus rips through Dutch mink farms, triggering culls. *Science* 368, 1169.
- FALZARANO, D., E. DE WIT, A. L. RASMUSSEN, F. FELDMANN, A. OKUMURA, D. P. SCOTT, D. BRINING, T. BUSHMAKER, C. MARTELLARO, L. BASELER, A. G. BENECKE, M. G. KATZE, V. J. MUNSTER, H. FELDMANN (2013): Treatment with interferon- α 2b and ribavirin improves outcome in MERS-CoV-infected rhesus macaques. *Nat. Med.* 19, 1313-1317.

- FENOLLAR, F., O. MEDIANNIKOV, M. MAURIN, C. DEVAUX, P. COLSON, A. LEVASSEUR, P. E. FOURNIER, D. RAOULT (2021): Mink, SARS-CoV-2, and the Human-Animal Interface. *Front. Microbiol.* 12, 663815. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.663815>. (9.10.2021.)
- FLORES-ALANIS, A., L. SANDNER-MIRANDA, G. DELGADO, A. CRAVIOTO, R. MORALES-ESPINOSA (2020): The receptor binding domain of SARS-CoV-2 spike protein is the result of an ancestral recombination between the bat-CoV RaTG13 and the pangolin-CoV MP789. *BMC Res. Notes.* 13, 398.
- GEBREYES, W. A., J. DUPOUY-CAMET, M. J. NEWPORT, C. J. OLIVEIRA, L. S. SCHLESINGER, Y. M. SAIF, S. KARIUKI, L. J. SAIF, W. SAVILLE, T. WITTUM, A. HOET, S. QUESSY, R. KAZWALA, B. TEKOLA, T. SHRYOCK, M. BISESI, P. PATCHANEE, S. BOONMAR, L. J. KING (2014): The global one health paradigm: challenges and opportunities for tackling infectious diseases at the human, animal, and environment interface in low-resource settings. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 8, e3257. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003257>. (9.10.2021.)
- GONG, S. R., L. L. BAO (2018): The battle against SARS and MERS coronaviruses: Reservoirs and Animal Models. *Animal Model Exp. Med.* 1, 125-133.
- GUAN, Y., B. J. ZHENG, Y. Q. HE, X. L. LIU, Z. X. ZHUANG, C. L. CHEUNG, S. W. LUO, P. H. LI, L. J. ZHANG, Y. J. GUAN, K. M. BUTT, K. L. WONG, K. W. CHAN, W. LIM, K. F. SHORTRIDGE, K. Y. YUEN, J. S. M. PEIRIS, L. L. M. POON (2003): Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China. *Science* 302, 276-278.
- GUARNER, J. (2020): Three Emerging Coronaviruses in Two Decades. *Am. J. Clin. Pathol.* 153, 420-421.
- GUO, G., L. YE, K. PAN, Y. CHEN, D. XING, K. YAN, Z. CHEN, N. DING, W. LI, H. HUANG, L. ZHANG, X. LI, X. XUE (2020): New Insights of Emerging SARS-CoV-2: Epidemiology, Etiology, Clinical Features, Clinical Treatment, and Prevention. *Front. Cell Dev. Biol.* 8, 410.
- GUPTA, A., M. V. MADHAVAN, K. SEHGAL, N. NAIR, S. MAHAJAN, T. S. SEHRAWAT, B. BIKDELI, N. AHLUWALIA, J. C. AUSIELLO, E. Y. WAN, D. E. FREEDBERG, A. J. KIRTANE, S. A. PARIKH, M. S. MAURER, A. S. NORDVIG, D. ACCILI, J. M. BATHON, S. MOHAN, K. A. BAUER, M. B. LEON, H. M. KRUMHOLZ, N. URIEL, M. R. MEHRA, M. S. V. ELKIND, G. W. STONE, A. SCHWARTZ, D. D. HO, J. P. BILEZIKIAN, D. W. LANDRY (2020): Extrapulmonary manifestations of COVID-19. *Nat. Med.* 26, 1017-1032.
- HEMIDA, M. G., R. A. PERERA, P. WANG, M. A. ALHAMMADI, L. Y. SIU, M. LI, L. L. POON, L. SAIF, A. ALNAEEM, M. PEIRIS (2013): Middle East Respiratory Syndrome (MERS) coronavirus seroprevalence in domestic livestock in Saudi Arabia, 2010 to 2013. *Euro Surveill.* 18, 20659. doi: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES2013.18.50.20659>. (9.10.2021.)
- HUI, E. K. (2006): Reasons for the increase in emerging and re-emerging viral infectious diseases. *Microbes Infect.* 8, 905-916.
- HUI, D. S., P. C. WONG, C. WANG (2003): SARS: clinical features and diagnosis. *Respirology* 8, 20-24.
- JI, W., W. WANG, X. ZHAO, J. ZAI, X. LI (2020): Cross-species transmission of the newly identified coronavirus 2019-nCoV. *J. Med. Virol.* 92, 433-440.
- JIN, Y., H. YANG, W. JI, W. WU, S. CHEN, W. ZHANG, G. DUAN (2020): Virology, Epidemiology, Pathogenesis, and Control of COVID-19. *Viruses* 12, 372.
- LIU, P., J. Z. JIANG, X. F. WAN, Y. HUA, L. LI, J. ZHOU, X. WANG, F. HOU, J. CHEN, J. ZOU, J. CHEN (2020): Are pangolins the intermediate host of the 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2)? *PLoS Pathog.* 16, e1008421. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008421>. (9.10.2021.)
- LUDWIG, S., A. ZARBOCK (2020): Coronaviruses and SARS-CoV-2: A Brief Overview. *Anesth. Analg.* 131, 93-96.
- MACKAY, I. M., K. E. ARDEN (2015): MERS coronavirus: diagnostics, epidemiology and transmission. *Virol. J.* 12, 222. doi: <https://doi.org/10.1186/s12985-015-0439-5>. (9.10.2021.)
- MALIK, M., A. A. ELKHOLY, W. KHAN, S. HASSOUNAH, A. ABUBAKAR, N. T. MINH, P. MALA (2016): Middle East respiratory syndrome coronavirus: current knowledge and future

- considerations. *East. Mediterr. Health J.* 22, 537-546.
- MANGSBO, S. M., S. HAVERVALL, I. LAURÉN, R. LINDSAY, A. J. FALK, U. MARKING, M. LORD, M. BUGGERT, P. DÖNNES, G. CHRISTOFFERSSON, P. NILSSON, S. HOBER, M. PHILLIPSON, J. KLINGSTRÖM, C. THÅLIN (2021): An evaluation of a FluoroSpot assay as a diagnostic tool to determine SARS-CoV-2 specific T cell responses. *PLoS One* 16, e0258041. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0258041>. (9.10.2021.)
 - ORESHKOVA, N., R. J. MOLENAAR, S. VREMAN, F. HARDERS, B. B. O. MUNNINK, R. W. HAKZE-VAN DER HONING, N. GERHARDS, P. TOL-SMA, R. BOUWSTRA, R. S. SIKKEMA, M. G. J. TACKEN, M. M. T. DE ROOIJ, E. WEESENDORP, M. Y. ENGELSMA, C. J. M. BRUSCHKE, L. A. M. SMIT, M. KOOPMANS, W. H. M. VAN DER POEL, A. STEGEMAN (2020): SARS-CoV-2 infection in farmed minks, the Netherlands, April and May 2020. *Euro Surveill.* 25, 2001005. doi: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.23.2001005>. (9.10.2021.)
 - PEIRIS, J. S., K. Y. YUEN, A. D. OSTERHAUS, K. STÖHR (2003): The severe acute respiratory syndrome. *N. Engl. J. Med.* 349, 2431-2341.
 - REHMAN, S. U., L. SHAFIQUE, A. IHSAN, Q. LIU (2020): Evolutionary Trajectory for the Emergence of Novel Coronavirus SARS-CoV-2. *Pathogens* 9, 240.
 - REUSKEN, C. B. E. M., B. L. HAAGMANS, M. A. MÜLLER, C. GUTIERREZ, G. J. GODEKE, B. MEYER, D. MUTH, V. S. RAJ, L. SMITS-DE VRIES, V. M. CORMAN, J. F. DREXLER, S. L. SMITS, Y. E. E. TAHIR, R. DE SOUSA, J. VAN BEEK, N. NOWOTNY, K. VAN MAANEN, E. HIDALGO-HERMOSO, B. J. BOSCH, P. ROTTIER, A. OSTERHAUS, C. GORTAZAR-SCHMIDT, C. DROSTEN, M. P. G., M. P. KOOPMANS (2013): Middle East respiratory syndrome coronavirus neutralising serum antibodies in dromedary camels: a comparative serological study. *Lancet Infect. Dis.* 13, 859-866.
 - SETHURAMAN, N., S. S. JEREMIAH, A. RYO (2020): Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *J. Am. Med. Assoc.* 323, 2249-2251.
 - STEVANOVIĆ, V., I. TABAIN, T. VILIBIĆ-ČAVLEK, M. MAURIĆ MALJKOVIĆ, I. BENVIN, Ž. HRUŠKAR, S. KOVAČ, I. ŠMIT, G. MILETIĆ, S. HAĐINA, V. STAREŠINA, L. RADIN, V. PLICHTA, B. ŠKRILIN, Z. VRBANAC, M. BRKLJAČIĆ, M. CVETNIĆ, J. HABUŠ, K. MARTINKOVIĆ, I. ZEČEVIĆ, G. JURKIĆ, I. FERENČAK, Z. ŠTRITOF, M. PERHARIĆ, L. BUCIĆ, L. J. BARBIĆ (2021b): The Emergence of SARS-CoV-2 within the Dog Population in Croatia: Host Factors and Clinical Outcome. *Viruses* 13, 1430.
 - STEVANOVIĆ, V., T. VILIBIĆ-ČAVLEK, I. TABAIN, I. BENVIN, S. KOVAČ, Ž. HRUŠKAR, M. MAURIĆ, L. MILAŠINČIĆ, L. ANTOLAŠIĆ, A. ŠKRINJARIĆ, V. STAREŠINA, L. J. BARBIĆ (2021a): Seroprevalence of SARS-CoV-2 infection among pet animals in Croatia and potential public health impact. *Transbound. Emerg. Dis.* 68, 1767-1773.
 - TSANG, K. W., W. K. LAM (2003): Management of severe acute respiratory syndrome: the Hong Kong University experience. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 168, 417-424.
 - VAN DOREMALEN, N., T. BUSHMAKER, D. H. MORRIS, M. G. HOLBROOK, A. GAMBLE, B. N. WILLIAMSON, A. TAMIN, J. L. HARCOURT, N. J. THORNBURG, S. I. GERBER, J. O. LLOYD-SMITH, E. DE WIT, V. J. MUNSTER (2020): Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *N. Engl. J. Med.* 382, 1564-1567.
 - WANG, W., C. P. LI, M. HE, S. W. LI, L. CAO, N. Z. DING, C. Q. HE (2021): The dominant strain of SARS-CoV-2 is a mosaicism. *Virus Res.* 305, 198553. doi: <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2021.198553>. (9.10.2021.)
 - WEBSTER, R. G. (2004): Wet markets – a continuing source of severe acute respiratory syndrome and influenza? *Lancet* 363, 234-236.
 - WEISS, S. R., S. NAVAS-MARTIN (2005): Coronavirus pathogenesis and the emerging pathogen severe acute respiratory syndrome coronavirus. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 69, 635-664.
 - ZHANG, T., Q. WU, Z. ZHANG (2020): Probable Pangolin Origin of SARS-CoV-2 Associated with the COVID-19 Outbreak. *Curr. Biol.* 30, 1346-1351.
 - ZUMLA, A., D. S. HUI, S. PERLMAN (2015): Middle East respiratory syndrome. *Lancet* 386, 995-1007.