

Eindverslag

Fighting COVID-19 in animals and humans a one health approach

Januari 2022

Fighting COVID-19 in animals and humans a one health approach

Auteurs:

Arjan Stegeman
Merel Langelaar
Els Broens
Herman Egberink
Wim van der Poel
Marion Koopmans
Mart de Jong
Myrna Tinbergen

Inhoud

Samenvatting.....	4
Conclusies.....	5
Hoofdstuk 1 Inleiding.....	6
Aanleiding	6
Startpunt studie	6
Verband tussen besmette mensen en besmette dieren	6
Model met twee gastheren	7
SARS-CoV-2 en in het wild levende dieren.....	7
Vraagstelling onderzoek.....	7
Hoofdstuk 2 Resultaten en conclusies per werkpakket	9
WERKPAKKET 1 SARS-CoV-2 bij honden en katten in Nederlandse huishoudens	9
WERKPAKKET 2 Prevalentie van SARS-CoV-2 in verschillende dierpopulaties	12
WERKPAKKET 3 Ziekte en overdracht van SARS-CoV-2 bij katten	16
WERKPAKKET 4 Moleculaire epidemiologie van SARS-CoV-2 bij honden en katten	19
WERKPAKKET 5 Modelleren en data-analyse	21
WERKPAKKET 6 Communicatie en disseminatie	23
Hoofdstuk 3 Conclusie en discussie.....	24
Conclusies.....	26
Hoofdstuk 4 Aanbevelingen	27
Referenties	28
Bijlagen.....	30
Bijlage 1 Project proposal	30
Bijlage 2 Activiteiten en publicaties.....	31

Samenvatting

De verwekker van de ziekte COVID-19 bij de mens, SARS-CoV-2, heeft vrijwel zeker een dierlijke oorsprong. Voor deze studie was al bekend dat honden en katten experimenteel en in het veld besmet konden worden. Hun vatbaarheid voor infectie en nauwe relatie met de mens maakten het relevant te achterhalen of honden en katten mogelijk een virusreservoir kunnen vormen, of als vector helpen om de viruscirculatie in stand te houden. In deze studie werd in de Nederlandse situatie vastgesteld in welke mate SARS-CoV-2-besmettingen van katten en honden voorkomen in huishoudens en asielen en bij zwervkatten en bij dieren (inclusief konijnen en marterachtigen) die ter sectie werden aangeboden. In een experiment werd onderzocht hoe het infectieproces bij katten verloopt en in welke mate directe en indirecte overdracht optreedt tussen katten. Tenslotte werden de verzamelde gegevens gebruikt om met een wiskundig model de overdracht van SARS-CoV-2 in huishoudens met katten en honden te analyseren.

In het eerste deel van deze studie zijn 308 dieren getest (156 honden en 152 katten) afkomstig uit 195 huishoudens waar één of meerdere mensen positief waren getest voor SARS-CoV-2. In bijna een kwart van de huishoudens (24%) werden positief geteste dieren gevonden. Het merendeel van deze dieren (29 katten en 21 honden) had antistoffen in het bloed, bij een kleiner aantal dieren (zes katten en zeven honden) was de PCR-test positief. In de huishoudens met een PCR-positieve kat of hond zijn vier honden en vier katten opnieuw getest die tot hetzelfde huishouden behoren en bij de eerste bemonstering negatief waren. Bij geen van deze dieren konden virus of antistoffen worden aangetoond bij de hertest.

Monsters van 196 honden en 148 katten afkomstig uit 34 dierenartspraktijken werden getest, de dieren kwamen om diverse redenen op het spreekuur. Bij één hond en drie katten was de PCR-test positief en bij zeven honden en tien katten werden antistoffen aangetoond in het bloed. De dieren met een positieve PCR-test bleken bij navraag allemaal te wonen in een gezin met één of meerdere personen die positief waren getest op SARS-CoV-2. Bovendien bleken twaalf van de zeventien dieren met antistoffen afkomstig uit gezinnen waarin eerder gezinsleden positief waren getest op het virus. Er bleek geen verband tussen een SARS-CoV-2-positieve test en onderliggende aandoeningen of specifieke gezondheidsklachten.

In duizend monsters van katten en honden, routinematig verzameld over Nederland tijdens de eerste Covid-19-golf, bleek 0,4 % van de katten en 0,2% van de honden serologisch positief. Tijdens de tweede golf lagen deze percentages op respectievelijk 0,3% en 2,3 %.

In twee van 240 monsters van katten verkregen uit 28 verschillende dierenasielen werden antistoffen tegen SARS-CoV-2 aangetoond. Tenslotte werden in geen enkel monster van 285 zwervkatten verdeeld over 24 vanglocaties binnen Nederland antilichamen aangetoond. Bij dieren die ter sectie werden aangeboden, werd virus aangetoond bij een hond (van in totaal 240 honden); antistoffen werden aangetroffen bij vijf katten (van in totaal 188 katten). Zowel bij de viruspositieve hond als de seropositieve katten zijn geen voor SARS-CoV-2 verdachte pathologische veranderingen gevonden. Monsters van konijnen (N=49), marterachtigen (N=84) en enkele andere diersoorten waren alle negatief in de PCR-test.

Experimentele infectie bleek bij alle katten succesvol zonder dat de dieren er ziek van werden. Na infectie scheiden katten ongeveer zeven dagen het virus uit en vervolgens zijn antistoffen aantoonbaar. Via direct contact veroorzaakten drie van vier opzettelijk besmette katten een besmetting bij een contactdier in dezelfde ruimte. In een besmette omgeving raakte een van de acht dieren geïnfecteerd. Voor directe overdracht werd het reproductiegetal R geschat op 2,1 (0,93-4,08). Virus blijft ongeveer acht uur

besmettelijk in de omgeving nadat het is achtergelaten door een besmette kat. Uit de analyse van de huishoudstudie bleek het aantal besmettingen bij mensen toe te nemen met het aantal katten per mens. Dit in tegenstelling tot de situatie bij honden in een huishouden, waar zo'n verband niet kon worden aangetoond. In een huishouden met mensen en katten zijn er vier verschillende overdrachtsmogelijkheden: van mens naar mens, van mens naar kat, van kat naar kat en van kat naar mens. Van de vier daaraan gekoppelde overdrachtskansen zijn in deze studie die van mens op mens en van mens op kat significant groter dan nul geschat. We hebben met de gegevens van de huishoudstudie niet kunnen aantonen dat er overdracht plaatsvindt van kat op kat en van kat op mens.

Conclusies

1. In huishoudens treedt overdracht van SARS-CoV-2 van besmette mensen naar katten en honden regelmatig op.
2. Er zijn geen aanwijzingen dat het virus zich onafhankelijk van de mens in katten- of hondenpopulaties kan handhaven.
3. Experimenteel geïnfecteerde katten kunnen het virus effectief vermenigvuldigen, onderling aan elkaar overdragen als ze langdurig in dezelfde ruimte verblijven en de omgeving met besmettelijk virus contamineren.
4. Katten kunnen besmet raken in een met virus gecontamineerde omgeving, maar die kans is kleiner dan bij direct contact met een geïnfecteerde kat.
5. Katten en honden worden meestal niet ziek van een infectie met SARS-CoV-2.
6. Infectie van kat op mens is in dit onderzoek niet aangetoond. Maar in een besmet huishouden neemt het aantal besmette personen toe als er meer katten per persoon aanwezig zijn. Dit kan erop wijzen dat de kat als vector kan optreden voor infectie bij de mens.
7. De rol van honden en katten bij de epidemische verspreiding van SARS-CoV-2 in Nederland is tot nu toe verwaarloosbaar geweest. Zonder infecties bij honden en katten was de epidemie niet wezenlijk anders verlopen.

Het is aan te bevelen om in een huishouden personen die besmet zijn met SARS-CoV-2 af te zonderen van katten en honden. Omdat katten na infectie vaak geen verschijnselen vertonen, terwijl ze de infectie wel naar andere katten kunnen overdragen en besmettelijk virus in de omgeving kunnen brengen, is het aan te bevelen katten uit besmette huishoudens binnen te houden.

Hoofdstuk 1 Inleiding

Aanleiding

Het virus SARS-CoV-2, de verwekker van de ziekte COVID-19, heeft vrijwel zeker een dierlijke oorsprong, maar de huidige pandemie is het resultaat van efficiënte overdracht van mens op mens. Dieren waren niet nodig om het virus uitgebreid te verspreiden. Dit betekent echter niet dat we dieren kunnen negeren. Veel mensen bezitten dieren of komen ermee in contact en stellen zich de vraag of hun huisdier(en), vee of dieren in het wild ook ziek kunnen worden van SARS-CoV-2 en of deze dieren een risico voor hun eigen gezondheid kunnen vormen. Wat als dieren ook besmet zouden raken en het virus verder zouden kunnen verspreiden? Zouden ze dan ook mensen (weer) kunnen besmetten? Verder is het vanuit de volksgezondheid van belang te weten of bepaalde diersoorten als reservoir voor het virus kunnen dienen of, in combinatie met de mens, een risico vormen. Aangenomen dat de verspreiding van het virus onder mensen in de loop der tijd afneemt, zouden bepaalde dierpopulaties dan een reservoir voor het virus kunnen vormen waardoor nieuwe varianten op onverwachte momenten weer bij mensen kunnen opduiken? Deze vragen vormden de aanleiding voor het onderzoek dat we in dit rapport presenteren. Ook is het mogelijk dat dieren als vector dienen voor de overdracht tussen mensen. Dan zijn mensen ook een vector voor de overdracht tussen dieren.

Startpunt studie

Wat was bekend voor de start van deze studie in juni 2020? In februari 2020 was een hond in Hongkong (Sit et al., 2020) het eerste dier dat als viruspositief werd gemeld. Hoogstwaarschijnlijk was het dier besmet door zijn eigenaar, bij wie COVID-19 was vastgesteld. Vervolgens verschenen verschillende rapporten van viruspositieve honden en katten in Azië, Europa en Amerika¹. De gevoeligheid van honden en katten werd bevestigd in experimentele studies. Bovendien wees de observatie van met SARS-CoV-2 geïnfecteerde tijgers en leeuwen in een dierentuin in New York op de algemene vatbaarheid van katachtigen voor infectie². Daarnaast bleken hamsters, fretten en konijnen (Mykytyn et al., 2020) vatbaar in studies waarbij de dieren experimenteel werden blootgesteld aan het virus. Soortgelijke studies bleken bij varkens, kippen en eenden niet succesvol. De aandacht voor het belang van dieren in de virusverspreiding nam in ons land flink toe door de uitbraken bij nertsen. Daarbij werd aangetoond dat ook overdracht van het virus van de nertsen terug naar de mens mogelijk is (Oude Munnik et al., 2021). Door een hoge dichtheid van zowel dieren als mensen in Nederland is ons land kwetsbaar voor nieuwe virussen en is waakzaamheid geboden.

Verband tussen besmette mensen en besmette dieren

De gemelde gevallen bij katten en honden stonden voor het merendeel in verband met menselijke COVID-19-patiënten, waardoor het waarschijnlijk was dat de dieren waren geïnfecteerd door mensen die het virus uitscheidde. Hieruit bleek dat dieren niet alleen onder experimentele omstandigheden, maar ook onder veldomstandigheden vatbaar waren voor infectie met het virus van de mens. Op nertsenbedrijven werden ook besmette honden en katten aangetroffen. Daar was de besmettingsroute waarschijnlijk anders, vermoedelijk vanuit geïnfecteerde nertsen (van Aart et al., 2021). Het virus is op die bedrijven zeer waarschijnlijk van mens naar nerts en vervolgens van nerts naar hond en kat overgegaan.

¹ https://vetmed.oregonstate.edu/sites/vetmed.oregonstate.edu/files/sars-cov-2_susceptibility_3-17-20.pdf

² <https://newsroom.wcs.org/News-Releases/articleType/ArticleView/articleId/14010/A-Tiger-at-Bronx-Zoo-Tests-Positive-for-COVID-19-The-Tiger-and-the-Zoos-Other-Cats-Are-Doing-Well-at-This-Time.aspx>

Het virus verspreidde zich niet alleen tussen nertsen binnen een bedrijf, maar ook tussen nertsenbedrijven onderling. De doorgaande verspreiding van SARS-CoV-2 tussen nertsenbedrijven heeft tot een voortijdig einde van de nertsenhouderij geleid, om te voorkomen dat SARS-CoV-2 blootstelling vanuit de nertsen tot verhoogde risico's op besmetting voor de mens zou leiden.

Hun vatbaarheid voor infectie en nauwe relatie met de mens maakte het relevant te achterhalen of gezelschapsdieren, met name honden en katten, ook in staat zijn het virus verder over te dragen in het veld. Dan zouden zij mogelijk een virusreservoir kunnen vormen, of als vector kunnen helpen om de epidemie in stand te houden. Bij aanvang van dit onderzoek was overdracht van het virus tussen dieren experimenteel aangetoond bij fretten (Kim et al., 2020) en katten (Puelles, et al., 2020) en in het veld bij nertsen (Oreshkova et al., 2020). Maar het risico van overdracht via honden en katten in het veld was onbekend.

Katten en honden leven meestal als enige huisdier of met een of enkele andere huisdieren in een huishouden in nauw contact met mensen. Een manier waarop gezelschapsdieren van belang kunnen zijn bij de verdere verspreiding van SARS-CoV-2 is indien ze elkaar in een huishouden kunnen besmetten en vervolgens in staat zijn om huisdieren in andere huishoudens te besmetten. Overdracht van het virus buiten het eigen huishouden zou bijvoorbeeld plaats kunnen vinden, terwijl ze vechten of hun territorium afbakenen.

Model met twee gastheren

Huisdieren leven in nauw contact met mensen. Daardoor zouden ze ook relevant kunnen zijn in de verspreiding van het virus zonder dat ze zelfstandig de viruscirculatie in stand kunnen houden. Als we bijvoorbeeld de kat in een huishouden nemen, dan is sprake van twee vatbare gastheersoorten waarin het virus zich kan verspreiden: de mens en de kat. Deze twee soorten kunnen onderling nauw contact hebben en daardoor zou de virusverspreiding van beide soorten in combinatie efficiënt kunnen zijn, terwijl de virusverspreiding binnen de soorten afzonderlijk dat niet is. We zien dit bijvoorbeeld bij de verspreiding van de bacteriële infectieziekte rundertuberculose op de Britse eilanden. Rundertuberculose is besmettelijk voor runderen, maar ook voor dassen. De overdracht van de bacterie tussen zowel rundvee als tussen dassen is niet efficiënt genoeg om infecties gaande te houden vanwege de rundertuberculosebestrijding in Groot-Brittannië en Ierland, maar samen vormen runderen en dassen een effectief reservoir voor de bacterie (Brooks-Pollock et al., 2015). De vraag is of een vergelijkbaar fenomeen ook kan optreden bij de circulatie van SARS-CoV-2 tussen huisdieren en de mens.

SARS-CoV-2 en in het wild levende dieren

Over SARS-CoV-2 infecties bij dieren in het wild was nog weinig bekend bij aanvang van deze studie. De Chinese hoefijzervleermuis wordt gezien als de inheemse gastheer van het virus en het was bekend dat fruit-etende vleermuizen experimenteel kunnen worden geïnfecteerd (Schlottau et al., 2020). Ook was het aannemelijk dat wilde katachtigen en marterachtigen vatbaar zouden zijn voor het virus, maar onduidelijk was in welke mate infectie optrad en of dit zou kunnen bijdragen aan de verspreiding van het virus.

Vraagstelling onderzoek

Het hier beschreven onderzoek werd uitgevoerd in opdracht van de ministeries van LNV en VWS. De belangrijkste onderzoeksvragen waren:

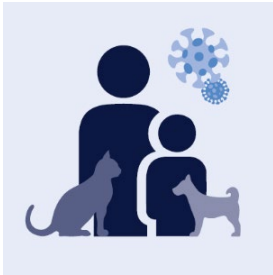
1. In welke mate komen besmettingen van katten en honden voor in huishoudens in Nederland? Voor het beantwoorden van deze vraag zijn katten en honden onderzocht in huishoudens met een humane

Covid-19-patiënt. Daarnaast zijn ook katten en honden onderzocht die in de reguliere praktijk (dus los van Covid-19-verdenking) werden aangeboden bij dierenartsen, en monsters van katten en honden uit een reguliere monsterstroom naar het Universitair Veterinair Diagnostisch Laboratorium (UVDL).

2. In welke mate wordt SARS-CoV-2 aangetroffen bij huisdieren die in andere verbanden leven, zoals in groepshuisvesting in dierenasielen en groepen zwervkatten, en bij dode dieren (inclusief konijnen en marterachtigen) die ter sectie worden aangeboden?
3. In welke mate komen de virussen van mensen en hun huisdieren overeen en zijn er aanwijzingen voor mutaties in katten die wijzen op aanpassingen aan een nieuwe gastheer? De overeenkomst is onderzocht door de genetische samenstelling van de virussen te vergelijken.
4. Hoe verloopt het infectieproces bij katten en in welke mate treedt directe en indirecte overdracht op tussen katten? Deze vraag is onderzocht in een experimentele studie.
5. Wat is de bijdrage van katten en honden bij de verspreiding van SARS-CoV-2 binnen en tussen huishoudens? Dit onderdeel is uitgevoerd door een wiskundig overdrachtsmodel te maken en de overdrachtsparameters (de overdracht van het virus) te schatten uit de resultaten van Werkpakket 1 van dit project.

Hieronder worden de resultaten en conclusies per werkpakket beschreven. Daarna volgen een algemene discussie en conclusies met daarop gebaseerde aanbevelingen. Vogels en reptielen zijn in deze studie niet onderzocht, omdat er geen aanwijzingen zijn dat deze vatbaar zijn voor infectie met SARS-CoV-2.

Hoofdstuk 2 Resultaten en conclusies per werkpakket



WERKPAKKET 1

SARS-CoV-2 bij honden en katten in Nederlandse huishoudens

De belangrijkste onderzoeksvragen van Werkpakket 1 waren: Hoe vaak komt SARS-CoV-2 voor bij honden en katten en worden deze huisdieren er ook ziek van?

Voor aanvang van Werkpakket 1 en 2 hebben we diagnostiek opgezet en gevalideerd voor het aantonen van SARS-CoV-2 en/of antistoffen daartegen bij honden en katten.

Voor aantonen van viraal RNA is een real time RT-PCR opgezet. Primers en probes werden gebruikt, zoals beschreven voor de humane diagnostiek door Corman et al. (2020). De gevoeligheid en specificiteit van de PCR zijn getest met een validatiepanel, bestaande uit HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-OC43, MERS-CoV, SARS1, SARS-CoV-2, FCoV (TN406HP), FIPV, CCV378 en BCV. Er werd geen kruisreactiviteit aangetoond met andere coronavirussen bij mensen, katachtigen en honden.

Voor antistofdetectie werd een ELISA opgezet met twee SARS-CoV-2-eiwitten, S1 en RBD. Bloedmonsters die positief reageerden op één of beide eiwitten, werden bevestigd met een virusneutralisatietest met SARS-CoV-2-spiked pseudotyped virus (VNT). De sensitiviteit en specificiteit van de ELISA zijn bepaald met een validatiepanel bestaande uit negentig pre-COVID-monsters (45 katten en 45 honden) en 44 bloedmonsters van katten afkomstig van besmette nertsbedrijven en één bloedmonster van een hond van een COVID-positieve eigenaar (Zhao et al., 2021).

Voor de analyses in Werkpakket 1 zijn alle huisdieren met een PCR-positief, seropositief en/of dubieus resultaat als SARS-CoV-2-positief gedefinieerd (Tabel 1).

Tabel 1

Interpretatie van ELISA en VNT resultaten

ELISA S1	ELISA RBD	VNT	INTERPRETATIE
+	+	+	seropositief
+	+	-	dubieus
-	-	-	seronegatief

TAAK 1 – Prevalentie bij katten en honden in COVID-19-positieve huishoudens – huishoudstudie

In de huishoudstudie zijn in totaal 308 dieren getest (156 honden en 152 katten, zie tabel 2). Deze dieren waren afkomstig uit 195 huishoudens waar een of meerdere mensen positief waren getest op SARS-CoV-2. Voor het aantonen van virus werden twee swabs van de dieren afgenomen (uit keel en rectum) en voor de detectie van antistoffen werd een bloedmonster afgenomen. In bijna een kwart van de huishoudens (24%) werden SARS-CoV-2-positieve dieren gevonden. Het merendeel van de positief geteste dieren (29 katten en 21 honden) had antistoffen in het bloed, wat betekent dat ze een infectie met SARS-CoV-2 hadden doorgemaakt. Bij een kleiner aantal dieren (zes katten en zeven honden) was de PCR-test positief, wat aangeeft dat ze op het moment van de test het virus bij zich droegen. Huisdieren met een positieve PCR-test werden vervolgens opnieuw getest, net als de overige huisdieren in het huishouden die bij het eerste bezoek negatief waren bevonden. Bij vier katten was het virus bij het tweede bezoek nog steeds

aanwezig, maar bij een derde bezoek niet meer. Alle PCR-positieve dieren hadden, of ontwikkelden ook antistoffen. In de huishoudens met een PCR-positieve kat of hond zijn ook acht medehuisdieren (vier honden en vier katten) opnieuw getest die bij de eerste bemonstering negatief waren. Bij geen van deze dieren konden virus of antistoffen worden aangetoond bij de hertest.

Tabel 2

Aantal honden en katten met een positieve PCR test en/of antistoffen tegen SARS-CoV-2 in huishoudens met een besmette persoon (eerste bemonstering).

	aantal	PCR-positief (aantal en %)	seropositief/-verdacht (aantal en %)	SARS-CoV2-positief (aantal en %)
kat	152	6 4.0 (1.8-8.3)	29 19.1 (13.6-26.1)	31 20.4 (14.8-27.5)
hond	156	7 4.5 (2.2-9.0)	21 13.5 (9.0- 19.7)	24 15.4 (10.6-21.9)

95% betrouwbaarheidsinterval staat tussen haakjes.

TAAK 2 – Prevalentie bij katten en honden die bij de dierenarts komen – DAP-studie

Aan taak 2 deden 34 dierenartsenpraktijken mee en er zijn in totaal 344 huisdieren getest (196 honden en 148 katten, zie tabel 3). Aan de dierenartsen was gevraagd monsters te nemen van dieren die om verschillende redenen op het spreekuur kwamen. Specifiek was gevraagd naar dieren met klachten aan het maagdarmkanaal of luchtwegklachten. Bij één hond en drie katten was de PCR-test positief en bij zeven honden en tien katten werden antistoffen aangetoond in het bloed. De dieren met een positieve PCR-test bleken bij navraag allemaal te wonen in een gezin met één of meerdere personen die positief waren getest op SARS-CoV-2. Bovendien bleken twaalf van de zeventien dieren met antistoffen afkomstig uit gezinnen waarin eerder gezinsleden positief waren getest op het virus.

Tabel 3

Aantal honden en katten aangeboden bij de dierenarts met een positieve PCR-test en/of antistoffen tegen SARS-CoV-2.

	aantal	PCR-positief (aantal en %)	seropositief/-verdacht (aantal en %)	SARS-CoV2-positief (aantal en %)
kat	148	3 2.0 (0.7-5.8)	10 6.8 (3.7-12.0)	10 6.8 (3.7-12.0)
hond	196	1 0.5 (0.1-2.8)	7 3.6 (1.7-7.2)	8 4.1 (2.1-7.8)

95% betrouwbaarheidsinterval staat tussen haakjes.

In zowel taak 1 als taak 2 vroeg de dierenarts bij de bemonstering naar onderliggende aandoeningen en gezondheidsklachten. Er bleek geen verband tussen een SARS-CoV-2-positieve test en onderliggende aandoeningen of specifieke gezondheidsklachten.

Conclusie en aanbevelingen Werkpakket 1

Uit deze studie komt naar voren dat ongeveer één op de vijf huisdieren (hond of kat) in huishoudens met één of meer besmette personen met SARS-CoV-2 geïnfecteerd raakt. Het lijkt daarbij aannemelijk dat de huisdieren door mensen zijn besmet, omdat een positief geteste persoon de aanleiding vormde voor de test van de huisdieren. Bij hertesten van huisdieren in huishoudens met PCR-positieve dieren zagen we geen verspreiding van het virus naar de andere honden en katten. Het aantal opnieuw geteste negatieve dieren was echter beperkt (N=8). Het percentage positieve honden was niet significant lager dan het percentage positieve katten. Dat is opmerkelijk, omdat honden in infectie-experimenten minder gevoelig lijken dan katten en overdracht tussen honden, in tegenstelling tot overdracht tussen katten, niet is aangetoond. Tegelijkertijd hebben honden wel ander contact met mensen, wat de vergelijkbare besmettingspercentages van hond en kat mogelijk verklaart die in het veld zijn gevonden.

In het onderzoek bij de dierenartspraktijken was het percentage positieve honden en katten (5.2%), significant lager dan in de huishoudstudie. De meeste honden en katten met een positieve testuitslag in het dierenartsenonderzoek waren afkomstig uit gezinnen waar mensen eerder positief waren getest. Bij vijf katten en één hond met antistoffen (1.7% van het totaal aantal geteste dieren) was niet bekend of zij contact hadden gehad met personen die COVID-19 hadden. Hierbij moet worden aangemerkt dat bij mensen veel infecties niet worden vastgesteld, dus het ontbreken van een positief geteste persoon in een huishouden betekent niet per definitie dat er geen besmette persoon aanwezig is geweest.

De resultaten uit beide onderzoeken wijzen erop dat zowel honden als katten in een huishouden regelmatig besmet worden door mensen met COVID-19. Bij positief geteste huisdieren in het onderzoek werden geen ernstige of specifieke ziekteverschijnselen waargenomen. De studie was opgezet om de prevalentie van SARS-CoV-2-infecties bij huisdieren vast te stellen. Dit betekent dat de studie niet was geoptimaliseerd voor het opsporen van overdracht tussen huisdieren.

De belangrijkste conclusie is dat personen die met SARS-CoV-2 zijn besmet het virus kunnen doorgeven aan hun hond of kat en zo'n 20% van de honden en katten in huishoudens met een of meer besmette personen geïnfecteerd raakt. Om overdracht te voorkomen, wordt personen die met SARS-CoV-2 zijn besmet geadviseerd om contact met huisdieren zoveel mogelijk te vermijden. Deze adviezen zijn in januari 2020 ook op www.rijksoverheid.nl gepubliceerd³.

³ <https://www.rijksoverheid.nl/onderwerpen/coronavirus-covid-19/gezondheid-en-zorg/dieren/huisdieren>



WERKPAKKET 2

Prevalentie van SARS-CoV-2 in verschillende dierpopulaties

Binnen Werkpakket 2 zijn populaties huisdieren met verschillende vormen van onderling contact en contact met mensen getest op het voorkomen SARS-CoV-2 en/of antilichamen tegen het virus als bewijs voor een recente of eerder doorgemaakte infectie. De belangrijkste onderzoeksvragen waren: hoe vaak komen infecties met SARS-CoV-2 voor in diverse populaties huisdieren met verschillende contactstructuren en bij in het wild levende dieren? Dit is onderzocht in populaties zonder bekend contact met SARS-CoV-2-positieve eigenaren, gebruikmakend van monsters in de serumbank van de faculteit Diergeneeskunde (de UVDL-studie, taak 1a), katten in asielen (taak 1b) en volgen van een uitbraak (taak 2), gedomesticeerde en wilde dieren die ter sectie werden aangeboden (taak 3), en katten uit trap-neuter-return/relocate-care (TNRC) programma's⁴ (taak 1c). TNRC-programma's zijn programma's waarin zwervkatten worden gevangen, gecastreerd en weer teruggeplaatst met als doel de populaties zwervkatten in toom te houden. Zwervkatten zijn katten die niet tot een specifiek huishouden behoren, maar veelal wel in de buurt van bewoning rondzwerven en soms ook bijgevoerd worden. Het betreft zowel katten die verwilderd zijn, afkomstig van een huishouden, als katten die in het wild geboren zijn.

Voor de detectie van antilichamen zijn alle monsters eerst getest met een ELISA en vervolgens zijn de positieve monsters bevestigd met een specifieke neutralisatietest. De uitslag van de neutralisatietest geldt als definitief criterium voor het al dan niet positief zijn van een monster in Werkpakket 2.

TAAK 1 – Serosurvey in diverse dierpopulaties

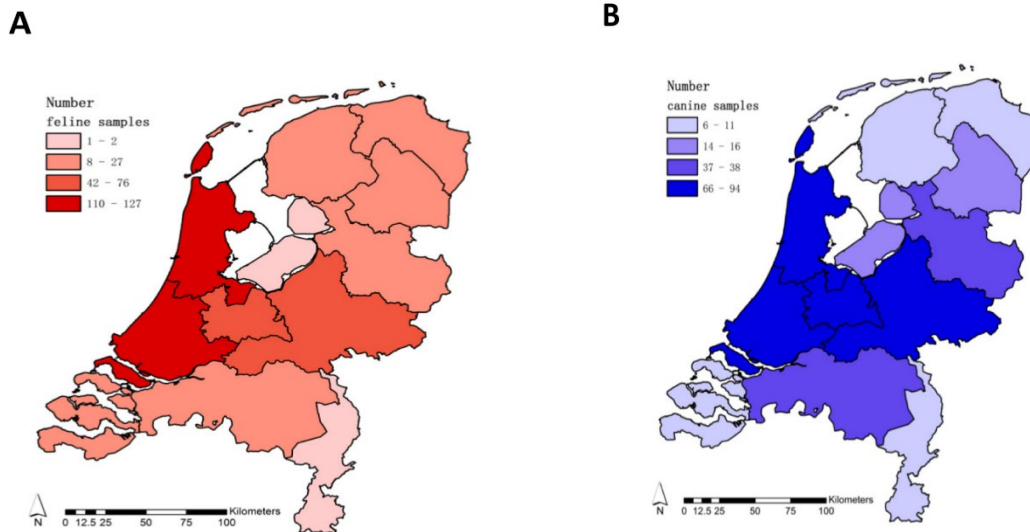
A – Seroprevalentie in serumbank (monsters Universitair Veterinair Diagnostisch Lab, UVDL)

Monsters uit twee verschillende periodes zijn getest. In periode 1 (eerste golf, maart en april 2020: N= 500) waren 0,4 % (N=2) van de katten en 0,2% (N=1) van de honden positief (Tabel 4). In periode 2 (november 2020 – februari 2021: N= 300), 0,3% (N= 1) van de katten en 2,3 % (N=7) van de honden. De geografische verdeling van de herkomst van de monsters is weergegeven in Figuur 1. Bij honden was de prevalentie van seropositieve dieren tijdens de tweede golf significant hoger dan tijdens de eerste golf.

⁴ <https://stichtingzwervkattennederland.nl/informatie1/algemene-informatie-over-de-kat>

Figuur 1

Herkomst van bloedmonsters van katten (A) en honden (B) uit de UVDL-serumbank



Tabel 4A

Seroprevalentie SARS-CoV-2 in serummonsters van katten verzameld gedurende de eerste (cohort 2020) en tweede (cohort 2021) infectiegolf in Nederland.

Cohort Kat	SARS-CoV-2 S1 ELISA	SARS-CoV-2 RBD ELISA	VNT	Aantal monsters	Resultaat in Percentages	
2020 (N=500)	+	+	+	2	0.4 (0.05-1.44)	seropositief
	+	+	-	4	0.8 (0.22-2.04)	dubieus
	-	-	-/nvt	494	98,8 (97.41-99.56)	seronegatief
2021 (N=300)	+	+	+	1	0.3 (0.01-1.84)	seropositief
	+	+	-	4	1.3 (0.36- 3.38)	dubieus
	+/-	+/-	-	11	3.7 (1.84-6.47)	seronegatief
	-	-	-/nvt	284	94.7 (91.84-96.92)	seronegatief

95% betrouwbaarheidsinterval tussen haakjes

Afkortingen: VNT= virusneutralisatietest, nvt= niet van toepassing.

Tabel 4B

Seroprevalentie SARS-CoV-2 in serummonsters van honden verzameld gedurende de eerste (cohort 2020) en tweede (cohort 2021) infectiegolf in Nederland.

Cohort Hond	SARS-CoV-2 S1 ELISA	SARS-CoV-2 RBD ELISA	VNT	Aantal monsters	Resultaat in Percentages	
2020 (N=500)	+	+	+	1	0.2 (0.01-1.11)	seropositief
	-	-	-/nvt	499	99.8 (98.89-99.99)	seronegatief
2021 (N=300)	+	+	+	1	0.3 (0.01-1.84)	seropositief
	+/-	+/-	+	6	2.0 (0.74-4.3)	seropositief
	+/-	+/-	-	10	3.3 (1.61-6.04)	seronegatief
	-	-	-/nvt	283	94.3 (91.08-96.66)	seronegatief

95% betrouwbaarheidsinterval tussen haakjes

Afkortingen: VNT= virusneutralisatietest, nvt= niet van toepassing.

B – Seroprevalentie in asieltkatten

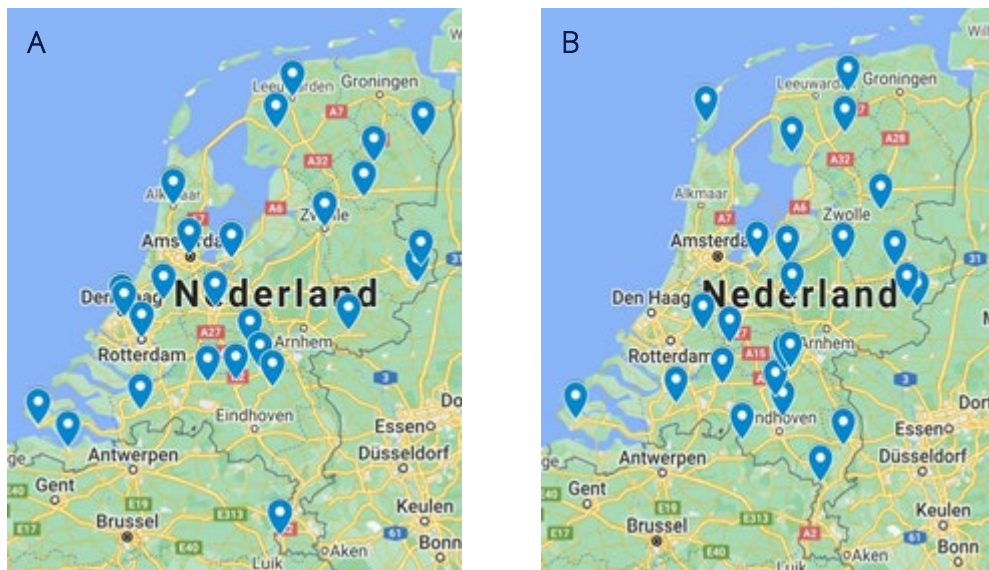
In totaal zijn 240 monsters van katten verkregen uit 28 verschillende dierenasielen (Figuur 2A). Van deze 240 monsters waren er twee seropositief (0,8%).

C – Seroprevalentie in zwerfkatten

In totaal zijn 285 katten getest, verdeeld over 24 opvanglocaties binnen Nederland (Figuur 2B). In geen van de monsters werden met de neutralisatietest antilichamen aangetoond.

Figuur 2

Locatie van de asielen van waaruit monsters zijn ingestuurd (2A) en van de TNRC-locaties (2B)



TAAK 2 – Volgen van een uitbraak in een asiel

De follow-up van de positieve monsters in de dierenasielen toonde geen nieuwe infecties aan. Een uitbraak, gedefinieerd als meerdere infecties volgend op het aantonen van infectie in een of enkele dieren, in een dierenasiel heeft zich dus niet voorgedaan in deze studie.

TAAK 3 – Monitoring van SARS-CoV-2 in ter sectie aangeboden honden, katten, konijnen en marterachtigen

Van een groot aantal ter sectie aangeboden dieren van verschillende diersoorten zijn weefselmonsters verzameld en gescreend op het voorkomen van SARS-CoV-2 door middel van PCR (Tabel 5). Honden en katten zijn ook getest op antilichamen, voor zover we bloedmonsters konden verkrijgen uit hart en/of bloedvaten.

In één hond (van de 240) werd virus aangetoond. Dit dier was wel seronegatief (ELISA en virusneutralisatietest). Alle overige monsters van de honden waren zowel virus- als antilichaam-negatief.

Van katten zijn in totaal 211 monsters getest in de PCR en al deze monsters waren negatief. Van 188 dieren was ook een bloedmonster beschikbaar. Hiervan waren vijf monsters seropositief. Zowel in de

viruspositieve hond als de seropositieve katten zijn geen voor SARS-CoV-2 verdachte pathologische veranderingen gevonden.

Monsters van konijnen (N=49, 7 wilde en 42 tamme konijnen), marterachtigen (N=84) en van enkele andere diersoorten waren alle negatief in de PCR (Tabel 5). Van deze dieren zijn geen monsters getest op antilichamen, vanwege het ontbreken van een voldoende gevalideerde test.

Tabel 5

Resultaten van ter sectie aangeboden dieren in SARS-CoV-2 PCR (nb = niet bepaald)

Diersoort	Aantal monsters	PCR (virus) positief	% PCR positief	Sero (antistof) positief	% seropositief
Hond	240	1	0.4 (0.01-2.3)	0	0 (0-1.53)
Kat	211	0	0 (0-1.73)	5	2.4 (0.77-2.44)
Carnivoor overig	39	0	0 (0-9.03)	nb	Nb
Marterachtigen	84	0	0 (0-4.3)	nb	Nb
Knaagdier	9	0	0 (0-33.63)	nb	Nb
Konijn	49	0	0 (0-7.25)	nb	Nb
Haas	8	0	0 (0-36.94)	nb	Nb
Apen	33	0	0 (0-10.58)	nb	nb
Reptielen	2	0	0 (0-84.19)	nb	nb
Overig	10	0	0 (0-30.85)	nb	nb

Conclusies en aanbevelingen van Werkpakket 2

Op basis van de resultaten van Werkpakket 2 kan worden geconcludeerd dat het percentage positieve dieren binnen de onderzochte populaties laag is. Doordat achterliggende data veelal ontbreken, is de bron van infectie van de positieve dieren niet te achterhalen. Gezien de resultaten uit Werkpakket 1 en wat bekend is uit de literatuur, is het meest waarschijnlijke dat de dieren geïnfecteerd zijn vanuit mensen die met SARS-CoV-2 zijn geïnfecteerd⁵. De lage prevalenties duiden niet op (efficiënte) overdracht tussen dieren binnen de populaties die binnen dit onderzoek zijn onderzocht.

In de serumbankstudie werd een hoger percentage seropositieve honden gevonden tijdens de tweede golf dan tijdens de eerste. Het percentage was ook iets hoger dan bij katten, maar omdat ook bij honden het percentage dieren met afweerstoffen bij tweede monsternamen laag was, kunnen we geen betekenis hechten aan dat verschil.

Uit de resultaten van deze studies kan worden geconcludeerd dat er geen aanwijzingen zijn dat huisdieren een reservoir vormen voor SARS-CoV-2. Gezien het opkomen van nieuwe virusvarianten en de mogelijkheid dat dergelijke varianten besmettelijker zijn voor huisdieren is het wel aan te bevelen het voorkomen van infecties in populaties huisdieren van vatbare soorten, zoals hond en kat, te monitoren.

⁵ <http://www.veterinaryworld.org/Vol.14/October-2021/29.html>



WERKPAKKET 3

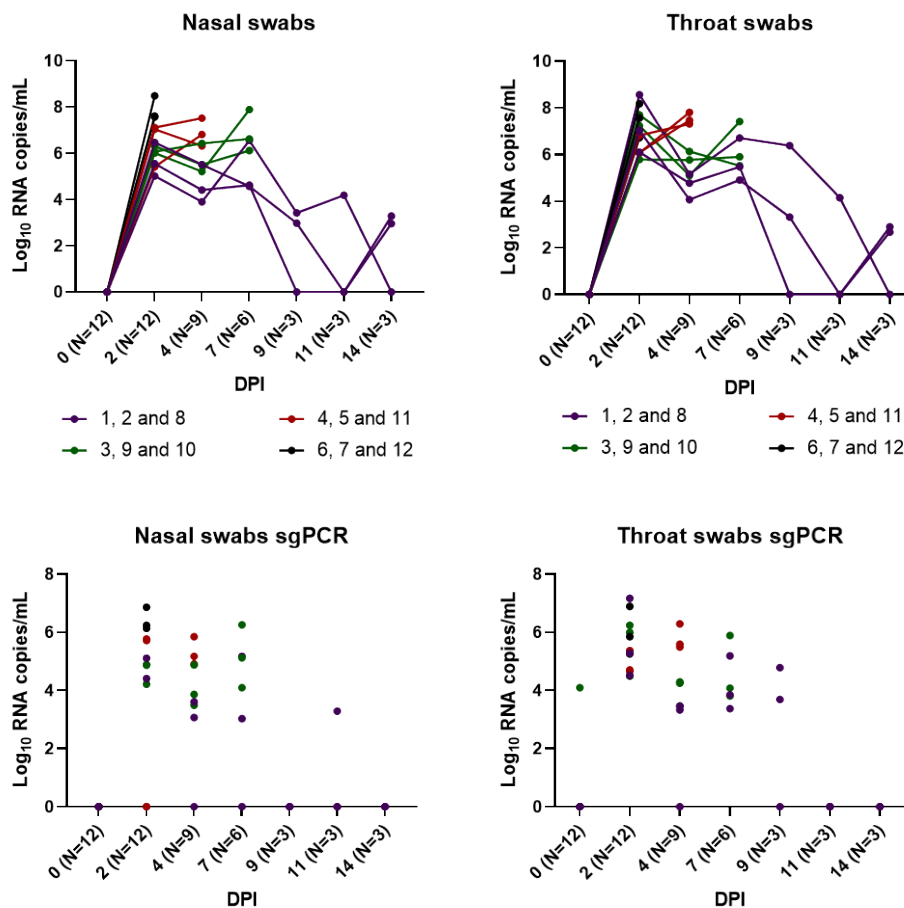
Ziekte en overdracht van SARS-CoV-2 bij katten

Dierexperiment

Om meer inzicht te krijgen in de ziekte bij katten, de overdracht tussen katten en het eventuele risico voor mensen, werd eerst een groep van twaalf katten besmet met het SARS-CoV-2-virus afkomstig van mensen. Dit om vast te stellen hoe de infectie bij katten verloopt en om te kijken of katten ziek kunnen worden van dit virus. Na directe blootstelling raakten alle twaalf katten geïnfecteerd, we konden virus aantonen in neus-, mond-, rectaal- en keelwabs (Figuur 3). Ook was het virus aantoonbaar in uitademingslucht van de katten (Figuur 4). De geïnfecteerde katten werden niet klinisch ziek, er was weinig schade in de luchtwegen te zien, maar het virus was wel aantoonbaar in de bronchi (Figuur 5). Antilichamen waren meetbaar vanaf dag zeven en infectieus virus kon worden geïsoleerd tot dag zeven na inoculatie.

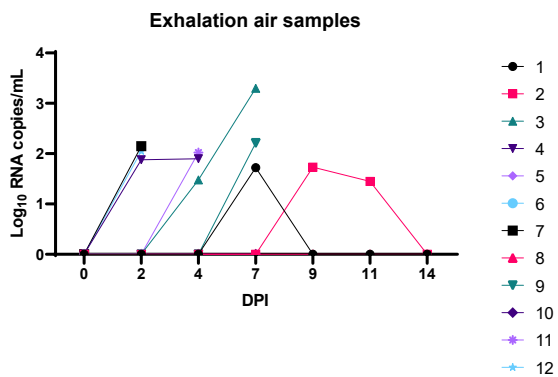
Figuur 3

Resultaten van qPCR in 12 katten geïnoculeerd met SARS-CoV-2.



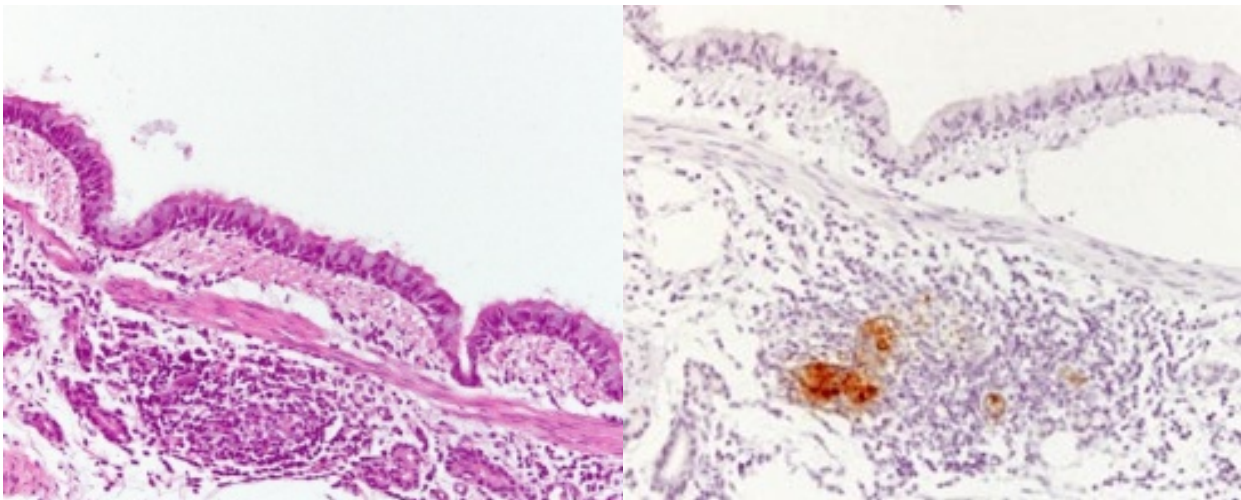
Figuur 4

Virusuitscheiding in de uitademingslucht van twaalf katten geïnoculeerd met SARS-CoV-2.



Figuur 5

Histopathologie van de bronchi, rechts is viraal antigeen aangetoond door middel van immunohistochemie.

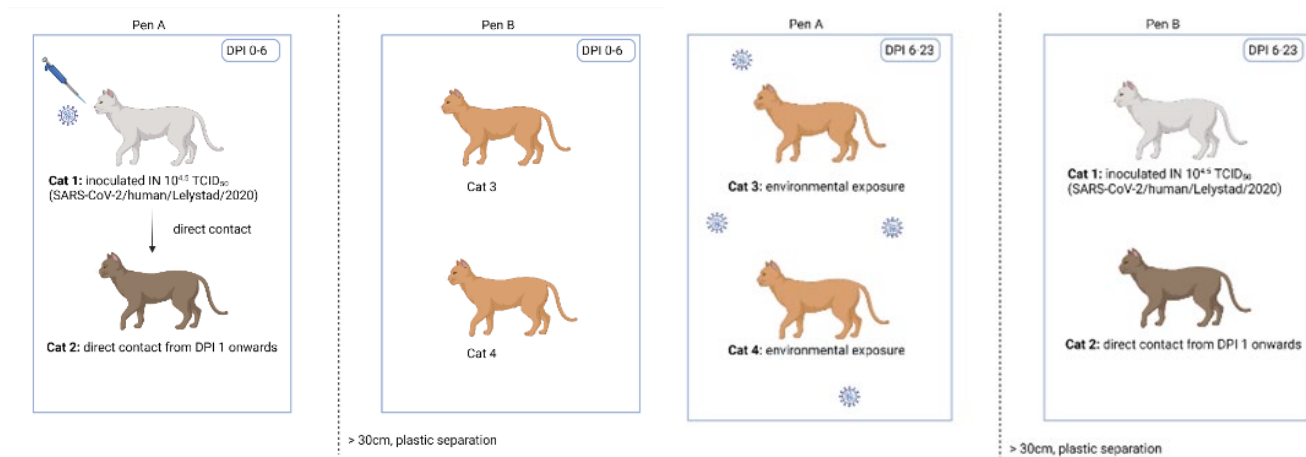


Overdracht-experiment

Om de overdracht van het virus tussen katten te onderzoeken werd vier keer (1) een nieuw geïntroduceerde, gevoelige kat in contact gebracht met een geïnoculeerde, besmette kat (directe blootstelling) en (2) twee gevoelige katten geplaatst in de ruimte waarin besmette katten aanwezig geweest waren (N=4x2) (indirecte blootstelling) (Figuur 6).

Figuur 6

Opzet experimentele SARS-COV-2-overdracht onder katten



Kat 1 werd geïnoculeerd op dag nul en in contact gebracht met kat 2. Op dag zes werden deze twee katten uitgewisseld met niet-blootgestelde katten 3 en 4. Kat 1 en kat 2 contamineerden hun kooi, en vanaf dag zes werden kat 3 en 4 in de gecontamineerde kooi gehuisvest.

Alle vier experimenteel besmette katten raakten geïnfecteerd en in drie van de vier direct blootgestelde katten kon replicerend virus worden aangetoond. Bij twee van deze drie katten werden ook antilichamen aangetoond. Na introductie in een gecontamineerde omgeving raakte slechts een van acht katten geïnfecteerd en bij dit dier werd geen seroconversie vastgesteld. Van de besmette omgeving werden regelmatig swabs genomen. PCR-positief materiaal bleef de hele observatieduur aanwezig in de ruimte, en dat was tot veertien dagen nadat de bron (het geïnoculeerde en geïnfecteerde dier) was weggenomen. Geen van de katten vertoonde klinische verschijnselen die konden duiden op ziekte door de besmetting met het virus. De overdrachtsparameters geschat uit de resultaten van dit experiment staan hieronder weergegeven in Werkpakket 4.

Conclusies Werkpakket 3

Katten worden na experimentele infectie niet zichtbaar ziek, maar scheiden het virus wel uit gedurende een week en zijn in staat om andere katten waarmee ze in contact zijn te infecteren. De omgeving van geïnfecteerde katten bevat viraal RNA, in ieder geval een deel van dit RNA is van levensvatbaar virus, zoals blijkt uit de kat die besmet is geraakt in de gecontamineerde omgeving.



WERKPAKKET 4

Moleculaire epidemiologie van SARS-CoV-2 bij honden en katten

De belangrijkste onderzoeksvragen in Werkpakket 4 waren: wat is de overeenkomst tussen virussequenties uit huisdieren en hun baasjes? Wat is de verwantschap tussen virussequenties uit huisdieren en virussequenties in de Nederlandse bevolking?

Originele samples van PCR-positieve honden en katten uit Werkpakket 1 zijn opgestuurd naar het Erasmus MC, waar virussequenties zijn bepaald. Van twee positieve honden en twee positieve katten is het gelukt om een volledige SARS-CoV-2-sequentie te bepalen. In de andere samples was de hoeveelheid virus te laag. In Werkpakket 2 is één hond PCR-positief bevonden. Hiervan is ook een virussequentie bepaald.

Waar mogelijk zijn de originele monsters van de personen uit het huishouden opgevraagd. Helaas bleken de originele monsters niet in alle gevallen bewaard.

Binnen huishoudens heeft dit uiteindelijk geresulteerd in virussequenties van vier dieren (twee honden en twee katten) en twee eigenaren. Het betrof twee eigenaren van dezelfde hond, dus in slechts één huishouden konden de virussequenties van de eigenaren en de hond met elkaar worden vergeleken (Figuur 7A+B). Opvallend was dat de sequenties van beide eigenaren niet overeenkwamen met die van de positieve hond, terwijl de virussequentie van de hond wel in de fylogenetische boom met Nederlandse humane sequenties valt. De sequenties van de andere drie huisdieren zijn eveneens verwant met Nederlandse humane sequenties, maar het was niet mogelijk om deze te vergelijken met de sequenties van hun (geïnfecteerde) eigenaren of huisgenoten.

Conclusie Werkpakket 4

De gevonden sequenties van huisdieren passen in de fylogenetische boom van de (humane) Nederlandse bevolking en er zijn geen aanwijzingen voor adaptatie van het virus. De resultaten van de analyse van een van de huishoudens zou kunnen wijzen op de mogelijkheid dat huisdieren ook buiten hun eigen huishouden geïnfecteerd kunnen raken, maar de hond kan bijvoorbeeld ook door een bezoeker van het huishouden zijn besmet.

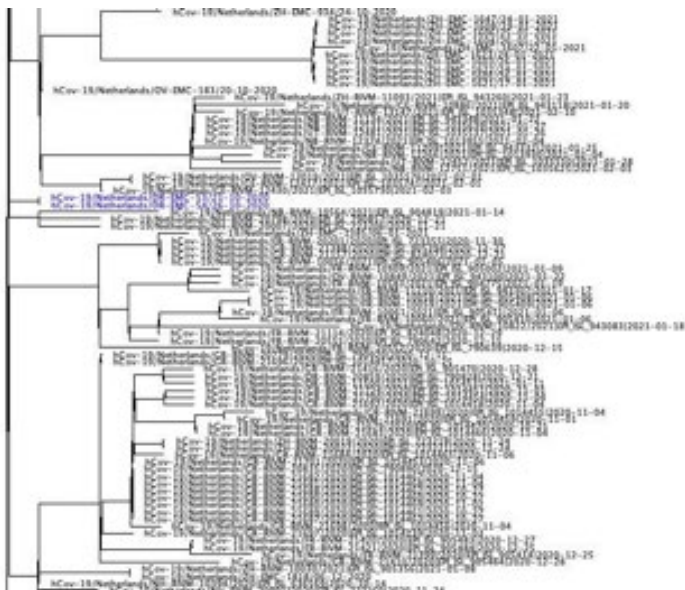
Figuur 7A

Fylogenetische boom met sequenties uit Nederlandse populatie. In rood de sequentie van hond waarvan sequenties van 2 eigenaren bekend is.



Figuur 7B

Fylogenetische boom met sequenties uit Nederlandse populatie. In blauw twee eigenaren van een SARS-CoV-2 positieve hond





WERKPAKKET 5

Modellering en data-analyse

Modellering op basis van de data uit Werkpakket 3

Uit het experiment (Werkpakket 3) is gebleken dat katten andere katten kunnen infecteren met SARS-CoV-2 als ze bij elkaar in een ruimte worden gehouden. Via direct contact veroorzaakten drie van vier geïnoculeerde katten een besmetting bij een contactdier in dezelfde ruimte. In een besmette omgeving werd een van de acht dieren geïnfecteerd.

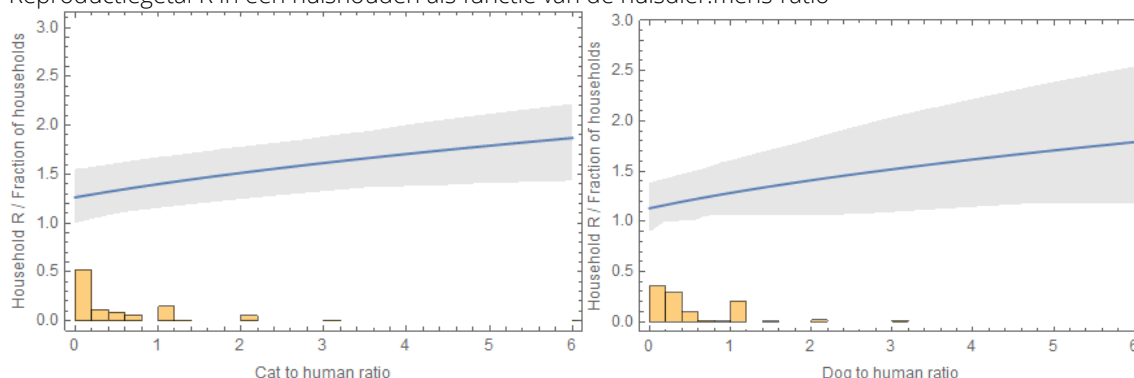
Afgaand op de contactinfecties nam de uitscheiding van virus door de geïnoculeerde katten de eerste paar dagen na inoculatie toe en daarna weer af. Nadat de besmette katten waren verhuisd naar een andere ruimte was er nog besmettelijk virusmateriaal in de ruimte aanwezig, zoals bleek uit infectie van één van de acht katten die in zo'n ruimte werden geplaatst. Direct contact met besmette katten is dus niet altijd nodig voor een kat om besmet te raken met het virus. Voor directe overdracht werd de overdrachtssnelheid (aantal secundaire infecties per besmette kat per dag) geschat op 0,23 (0,06-0,54), de afname van infectiviteit in de omgeving op 2,73 (0,77-15,83) per dag en het reproductiegetal R op 2,12 (0,93-4,08). De maat voor afname van infectiviteit in de omgeving laat zien in welke mate materiaal met het virus erin besmettelijk blijft, de waarde van ongeveer drie betekent besmettelijkheid tot gemiddeld acht uur (24 uur/3) nadat het is achtergelaten door een besmette kat. Het experiment toont ook aan dat de PCR voor dit virus (veel) langer positief blijft (>veertien dagen) en dus geen goede maat is voor besmettelijkheid van de omgeving. De waarde van het reproductiegetal is in lijn met eerder gepubliceerde experimenten ($R=3,9$ (2,2-6,8)) (Gonzalez et al., 2021). Indirecte overdracht lijkt op grond van dit experiment vier keer minder effectief dan directe overdracht.

Analyse van de data uit Werkpakket 1

Uit de analyse van data van de huishoudstudie bleek dat besmette mensen katten kunnen infecteren en dat in huishoudens met meer katten per mens er meer besmettingen bij mensen zijn (Figuur 8). Dit in tegenstelling tot de situatie bij honden in een huishouden, waar dit verband niet kon worden aangetoond.

Figuur 8

Reproductiegetal R in een huishouden als functie van de huisdier:mens-ratio



In een huishouden met mensen en katten zou naast overdracht van mens op mens (uitgedrukt met het reproductiegetal R_{11}) en overdracht van mens op kat (R_{12}), ook overdracht kunnen voorkomen van kat op kat (R_{22}) en van kat op mens (R_{21}). Uit de gegevens van de huishoudstudie (WP1) zijn deze vier reproductiegetallen geschat, waarbij werd aangenomen dat de infectie in een huishouden steeds is begonnen met een besmette mens. De resultaten van deze analyse staan in Tabel 6 en daaruit blijkt dat alleen de reproductiegetallen van mens op mens en van mens op huisdier significant groter zijn dan 0,00.

Tabel 6

Schattingen voor de overdracht van huisdieren en mensen in een besmet huishouden.

	Gezelschapsdier		Kat		Hond	
		95%-CI		95%-CI		95%-CI
R ₁₁	1.19	(0.90 – 1.44)	1.26	(0.92 – 1.49)	1.11	(0.88 – 1.44)
R ₂₁	0.39	(0.00 – 2.15)	0.30	(0.00 – 2.02)	0.30	(0.00 – 3.48)
R ₁₂	0.63	(0.42 – 0.77)	0.56	(0.36 – 0.78)	0.57	(0.41 – 0.86)
R ₂₂	0.00	(undet. -0.27)	0.00	(undet. – 0.48)	0.00	(undet. – 1.26)

"undet." betekent dat de limiet van het 95% betrouwbaarheidsinterval I (95%-CI) niet kon worden geschat, omdat de puntschatter 0 was.

Conclusies Werkpakket 5

Uit de resultaten van Werkpakket 3 blijkt dat katten elkaar kunnen besmetten met SARS-CoV-2 afkomstig van de mens. Uit het model dat is gebaseerd op deze gegevens, blijkt dat de verspreiding van het virus onder katten een R_0 van 2,1 heeft onder experimentele omstandigheden. Binnen een huishouden met besmette mensen waarin ook honden of katten aanwezig zijn, blijkt dat deze dieren ook met het virus besmet kunnen raken. Uit de analyse van de gegevens uit Werkpakket 1 blijkt dat het aantal besmette personen in een huishouden toeneemt als het aantal katten per persoon toeneemt. Door de studieopzet is het niet mogelijk vast te stellen of hier sprake is van een oorzakelijk verband. Bij honden, die ook door de mens in een huishouden worden besmet en veelal in nauw contact met hun huisgenoten wonen, werd dit verband niet gevonden.

Het virus heeft vier verschillende overdrachtsmogelijkheden in een huishouden van mensen en katten: van mens naar mens, van mens naar kat, van kat naar kat en van kat naar mens. Van deze vier verschillende overdrachtskansen zijn in deze studie die van mens op mens en van mens op kat significant groter dan 0,00 geschat. We hebben in deze studie niet kunnen aantonen dat er overdracht van kat op kat en van kat op mens plaatsvindt. In deze studie hebben we negatief geteste mensen in huishoudens niet opgevolgd en was het dus onmogelijk het voorkomen van deze overdrachtsketen verder te onderzoeken.

We kunnen uit de analyse van de data aantonen noch uitsluiten dat de overdracht van kat naar mens (binnen een huishouden) mogelijk is. De in dit werkpakket aangetoonde a) efficiënte overdracht tussen katten in een experiment, b) aanwezigheid van infectieus virus in een omgeving waar besmette katten waren gehuisvest en 3) een positief statistisch verband tussen het aantal katten per persoon en het aantal besmette mensen in besmette huishoudens vormen aanwijzingen dat de kat als vector op kan treden voor deze overdrachtsroute. De resultaten van deze analyse onderbouwen het advies om huisdieren in huishoudens die besmet zijn met SARS-CoV-2 te isoleren van besmette personen en katten binnen te houden.



WERKPAKKET 6

Communicatie en disseminatie

Gedurende het project heeft regelmatig overleg plaatsgevonden tussen de projectcoördinator en de opdrachtgever. Bij het beschikbaar komen van belangrijke onderzoeksresultaten werd de opdrachtgever rechtstreeks geïnformeerd. Nadat de opdrachtgever de informatie openbaar maakte (via persbericht of kamerbrief), waren de partners vrij om hun wetenschappelijke bevindingen te delen met collega-onderzoekers en/of publiek/media. Op deze manier zijn stakeholders en publiek geïnformeerd over de voortgang van het onderzoek. Een overzicht van de communicatie vanuit het project is weergegeven in bijlage 2.

Hoofdstuk 3 Conclusie en discussie

Overdracht van mens op huisdier aangetoond en efficiënt, hond en kat lijken op menselijke huisgenoot

In deze studie hebben we de bijdrage van huisdieren onderzocht aan de verspreiding van SARS-CoV-2 binnen huishoudens. In bijna een kwart van de besmette huishoudens werd een hond en/of kat met SARS-CoV-2 aangetroffen, in de meeste gevallen betrof het dieren met antistoffen in het bloed, een bewijs van eerder doorgemaakte infectie. Net als bij de mens valt te verwachten dat de infectie van de kat vooral zal plaatsvinden door aerosolen, kleine druppeltjes en gecontamineerde handen en materialen (WHO, 2020). Uit de literatuur blijkt dat overdracht van mens op kat vaker optreedt wanneer de intensiteit en duur van het contact met een besmette mens toeneemt (Goryoka et al., 2021).

Het percentage besmette huisdieren (PCR- en/of antistof-positief) in deze studie (20,4% bij de kat en 15,4% bij hond) is lager dan het percentage menselijke huisgenoten dat in Nederland geïnfecteerd raakte in huishoudens met een COVID-19-patiënt. Reukers et al. (2021) vonden in Nederland dat circa 35% van de kinderen en 51% van de volwassenen in een besmet huishouden geïnfecteerd raakten. Internationaal gezien ligt het in deze studie gevonden infectiepercentage bij huisdieren in lijn met dat bij mensen. Madewell et al. (2020) rapporteerden een meta-analyse met een gemiddelde kans van 16,6% voor huisgenoten om besmet te raken als een COVID-19 patiënt-aanwezig was in het huishouden, met een hogere kans voor partners (37,8%). Opmerkelijk is dat het percentage positieve katten in de huishoudens hoger is dan dit percentage op en rond besmette nertsen bedrijven (van Aart et al., 2021), terwijl de kans voor mensen om besmet te raken op nertsenbedrijven juist hoger is dan in een huishouden (Oude Munnik et al., 2020). Dit komt waarschijnlijk doordat het contact tussen katten en besmette nertsen in een nertsenhouderij minder intensief is dan tussen katten en besmette personen in een huishouden.

Overdracht van virus tussen dieren onder veldomstandigheden incidenteel mogelijk

Overdracht van besmette honden en katten naar andere honden en katten in het huishouden hebben we in dit onderzoek niet vastgesteld, maar door het beperkte aantal opgevolgde dieren was het onderscheidend vermogen van de studie beperkt.

Tussen katten die langdurig met elkaar in dezelfde ruimte verblijven is weliswaar efficiënte overdracht mogelijk, maar de meeste huishoudens hebben maar één of enkele katten, wat lange overdrachtsketens binnen een huishouden uitsluit. Katten van verschillende huishoudens kunnen buiten wel in contact komen met elkaar. Maar contacten tussen katten uit verschillende huishoudens buiten zijn meestal minder intensief en korter dan binnen, wat waarschijnlijk een lagere overdrachtskans heeft dan we in deze studie hebben gevonden. Bovendien kunnen katten buiten via gecontamineerd materiaal indirect met elkaar in contact komen. In het experiment naar indirecte verspreiding in Werkpakket 3 bleek de overdrachtskans van zo'n contact beduidend lager en de besmettelijkheid van virus in de omgeving van korte duur. Mogelijk hangt de duur van de besmettelijkheid van SARS-CoV-2 buiten af van de matrix waarin het virus zich bevindt en van de temperatuur en luchtvochtigheid. Het is daarom verstandig katten in besmette huishoudens binnen te houden.

De prevalentie van SARS-CoV-2 in de verschillende populatiestudies (Werkpakket 2) lag veel lager dan in de huishoudstudies, waarbij minimaal één besmette persoon in het huishouden aanwezig was (Werkpakket 1). De verklaring daarvoor is waarschijnlijk dat een groot deel van de menselijke populatie in

de eerste en tweede golf niet besmet is geraakt. Daardoor zal een groot deel van de katten die in Werkpakket 2 zijn onderzocht, niet zijn blootgesteld aan het virus, immers deze katten woonden in die tijd in onbesmette huishoudens. Inmiddels zijn resultaten van serologische studies uit verschillende landen binnen en buiten Europa gepubliceerd. De percentages seropositieve dieren die in deze studies zijn gevonden, binnen vergelijkbare populaties als in Werkpakket 2 zijn in lijn met de resultaten uit onze studie (Schulz et al., 2021). Daarnaast zal de blootstelling aan virus van katten in asielen en van zwervkatten beperkter zijn dan in (besmette) huishoudens, door een veel minder intensief contact met de mens. De lage aantallen besmette dieren die we vonden in de onderzochte populaties wijzen niet op een reservoirfunctie van deze dieren voor het virus, maar eerder op incidentele blootstelling aan besmette mensen. Met uitzondering van één hond en vijf katten werd in de dieren die ter sectie werden aangeboden geen aanwijzing voor infectie gevonden, ook niet bij de wilde marterachtigen. Dit laatste ondersteunt de bevindingen van een studie waar wilde dieren in de buurt van nertsbedrijven zijn onderzocht, eveneens met negatief resultaat⁶. Wereldwijd is het wistbaar tot nu toe de enige in het wild levende diersoort waarvoor is aangetoond dat het virus uitgebreid voorkomt en die mogelijk als virusreservoir zou kunnen dienen (Chandler et al., 2021).

Indirecte besmetting via de omgeving mogelijk, maar niet efficiënt

De resultaten van de experimentele studie bevestigen efficiënte virusoverdracht tussen katten in direct contact (Gonzales et al., 2021). Nieuw is dat ook een kat besmet raakte die gehuisvest was in een ruimte waarin eerder een besmette kat had gezeten. Overdracht via indirect contact is dus mogelijk, zij het minder efficiënt dan via direct contact. De resultaten van deze studie en de literatuur wijzen er niet op dat de kat zelfstandig als reservoirgastheer voor SARS-CoV-2 kan dienen, of het nu de populatie katten in huishoudens betreft, katten in asielen of de populatie zwervkatten. De overdracht door indirect contact is beduidend lager dan die van direct contact in een experimentele setting en zal buiten een huishouden naar verwachting nog lager zijn. Bao et al. (2021) toonden bovendien aan dat de kans op overdracht van het virus tussen katten afneemt als er meer passages tussen katten hebben plaatsgevonden. Bij elkaar maakt dat de kat als reservoirgastheer onwaarschijnlijk en dat wordt bevestigd door de populatiestudies die we in dit rapport beschrijven.

Kat geen reservoir, maar mogelijk wel vector

Deze studie toonde aan dat het aantal besmette huisgenoten toeneemt als er meer katten per persoon in een huishouden zijn. Alhoewel we niet zeker weten of dat statistische verband ook oorzakelijk is, suggereert het dat de kat kan dienen als vector voor de overdracht van het virus tussen twee mensen. Dat zou passief kunnen zijn, bijvoorbeeld mensen verspreiden het virus via de vacht van de kat als ze het dier aaien, maar ook door een actieve infectie van de kat zelf die virus uitscheidt. Aangetoond is dat de kat via de bovenste luchtwegen tot 10^8 RNA kopieën/ml kan uitscheiden (Barrs et al., 2020). Ook al is het ademvolume van de kat minder dan 10% van dat van de mens, dan nog is dat ruim voldoende om een mens te infecteren, zeker omdat we hier te maken hebben met een virus dat zich aan de mens heeft aangepast. Kortom, het advies is om besmette personen te isoleren van katten en honden om te zorgen ze niet besmet raken. Huisdieren vertonen meestal zelf geen verschijnselen, maar het kan zijn dat het dier al besmet was voordat deze diagnose bij de mens in het huishouden werd gesteld.

⁶ https://www.zoogdiervereniging.nl/sites/default/files/2021-09/Onderzoek%20naar%20besmettingsroutes%20van%20SARS-CoV-2%20op%20nertsbedrijven_0.pdf

Vaccinatie van dieren lijkt weinig zinvol

Verschuinselen door infectie met SARS-CoV-2 bij katten en honden werden in deze studie niet waargenomen. Vaccinatie van honden en katten ter bescherming van zichzelf lijkt daarom niet aan te bevelen. Een recente meta-analyse rapporteerde dat 54% van de besmettingsgevallen met SARS-CoV-2 bij katten die in de literatuur zijn beschreven asymptomatisch was, en 46% symptomatisch met voornamelijk ademhalingsklachten (Giraldo-Ramirez et al., 2021). Dit is waarschijnlijk een overschatting, omdat klinische gevallen een hogere kans hebben om getest te worden en daarmee gerapporteerd te worden. Het is nog onbekend of, en zo ja, in welke mate, vaccinatie van de mens van invloed is op de infectie van de kat. Maar overdracht tussen gevaccineerde mensen is mogelijk, dus het is aannemelijk dat gevaccineerde personen die zijn besmet ook hun honden en katten nog kunnen besmetten. Het is onbekend of vaccinatie van huisdieren enig effect heeft op de overdracht van mens naar huisdier, tussen huisdieren onderling of van huisdier naar de mens.

Al met al lijkt de bijdrage van de kat en de hond aan het volksgezondheidsprobleem COVID-19 gering. Bij de start van dit onderzoek werd verondersteld dat huisdieren mogelijk een rol zouden gaan spelen als de overdracht tussen mensen sterk zou zijn afgenomen. Van zo'n afname is echter geen sprake. Ondanks vaccinatie van de menselijke populatie is nog steeds sprake van uitgebreide mens-op-mens overdracht, honden en katten spelen in de verspreiding van SARS-CoV-2 een ondergeschikte rol. Dit laat onverlet dat het aan te bevelen is om in huishoudens besmette personen ook te isoleren van hun huisdieren, en huisdieren dus hetzelfde te behandelen als menselijke huisgenoten. Dat geldt ook voor andere zoogdieren dan hond en kat die als huisdieren worden gehouden. Zo is bekend dat bijvoorbeeld fret, hamster en konijn ook besmet kunnen worden met SARS-CoV-2. Uit de analyse blijkt dat besmetting van mensen in een huishouden met honden en/of katten het meest waarschijnlijk van mens naar mens zal verlopen. Personen met een verzwakte afweer zullen in eerste instantie contact met besmette huisgenoten moeten voorkomen. Maar daarnaast dient deze risicogroep zich bewust te zijn dat katten ook een mogelijke bron kunnen zijn, omdat ze zonder verschijnselen virus in de omgeving kunnen brengen. In die situatie moet contact met katten in het huishouden ook worden vermeden.

Conclusies

1. In huishoudens treedt overdracht van SARS-CoV-2 van besmette mensen naar katten en honden regelmatig op.
2. Er zijn geen aanwijzingen dat het virus zich onafhankelijk van de mens in katten- of hondenpopulaties kan handhaven.
3. Katten kunnen het virus na experimentele besmetting effectief vermenigvuldigen, onderling aan elkaar overdragen als ze langdurig in dezelfde ruimte verblijven en de omgeving met besmettelijk virus contamineren.
4. Katten kunnen besmet raken in een met virus gecontamineerde omgeving, maar die kans is kleiner dan bij direct contact met een geïnfecteerde kat.
5. Katten en honden worden meestal niet ziek van een infectie met SARS-CoV-2.

Infectie van kat op mens is in dit onderzoek niet aangetoond, maar in een besmet huishouden neemt het aantal besmette personen toe als er meer katten aanwezig zijn. Dit kan erop duiden dat de kat als vector kan optreden voor infectie bij de mens. De rol van honden en katten bij de epidemische verspreiding van SARS-CoV-2 in Nederland was tot nu toe verwaarloosbaar; zonder infecties bij honden en katten was de epidemie niet wezenlijk anders verlopen.

Hoofdstuk 4 Aanbevelingen

Het is aan te bevelen om in een huishouden waar personen met SARS-CoV-2 zijn besmet, katten en honden hetzelfde te behandelen als niet-besmette huisgenoten en af te zonderen van besmette personen.

Katten vertonen na infectie vaak geen verschijnselen. Maar ze kunnen de infectie wel op andere katten overdragen en besmettelijk virus in de omgeving brengen. Daarom is het aan te bevelen katten uit besmette huishoudens binnen te houden en zoveel mogelijk af te zonderen van huisgenoten met een verzwakte afweer.

Ook honden vertonen na infectie vaak geen verschijnselen. Hoewel overdracht tussen honden niet is aangetoond, is het uit voorzorg aan te bevelen om honden uit besmette huishoudens kort aan de lijn uit te laten, zonder contact met andere honden. Het aantal overdrachtsstudies met honden is immers erg beperkt.

Nader onderzoek

Door mutaties verandert SARS-CoV-2 voortdurend en daarmee mogelijk ook de affiniteit voor de gastheer. Het is daarom aan te bevelen de aanwezigheid van SARS-CoV-2 in specifieke dierpopulaties te monitoren als daarvoor aanleiding is, bijvoorbeeld door het circuleren van virusmutanten met mogelijk toegenomen capaciteit om te binden aan receptoren van specifieke diersoorten, of aanwijzingen voor viruscirculatie in dierpopulaties in het buitenland.

Referenties

- Bao L., Song, Z., Gao, H. *et al.* Susceptibility and Attenuated Transmissibility of SARS-CoV-2 in Domestic Cats. *The Journal of Infectious Diseases*, **223**, 1313–1321 (2021) <https://doi.org/10.1093/infdis/jiab104>
- Barrs, V. R., Peiris, M., Tam, *et al.* SARS-CoV-2 in Quarantined Domestic Cats from COVID-19 Households or Close Contacts, Hong Kong, China. *Emerging Infectious Diseases*, **26**(12), 3071–3074 (2020) <https://doi.org/10.3201/eid2612.202786>.
- Brooks-Pollock, E., Wood, J.L.N. Eliminating bovine tuberculosis in cattle and badgers: insight from a dynamic model. *Proc Biol Sci*. **282**(1808): 20150374. (2015)doi: [10.1098/rspb.2015.0374](https://doi.org/10.1098/rspb.2015.0374)
- Chandler, J.C., Bevins, S.N., Ellis, J.W. SARS-CoV-2 exposure in wild white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) *PNAS* **118** (47) e2114828118 (2021) <https://doi.org/10.1073/pnas.2114828118>
- Corman, V.M., Landt, O., Kaiser, M. *et al.* Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill*. **25**(3):pii=2000045.(2020) <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045>
- Giraldo-Ramirez, S., Rendon-Marin, S., Jaimes, J.A., *et al.* SARS-CoV-2 Clinical Outcome in Domestic and Wild Cats: A Systematic Review. *Animals* **11**, 2056.(2021) <https://doi.org/10.3390/ani11072056>
- Gonzales, J.I., de Jong, M.C.M., Gerhards, N.M., Van der Poel, W.H.M (2021). The SARS-CoV-2 reproduction number R_0 in cats. *Viruses* **13**(12), 2480
- Goryoka, G.W., Cossaboom, C.M., Gharpure, R. One Health Investigation of SARS-CoV-2 Infection and Seropositivity among Pets in Households with Confirmed Human COVID-19 Cases—Utah and Wisconsin, 2020. *Viruses*, **13**, 1813 (2021) <https://doi.org/10.3390/v13091813>
- Kim, Y., Kim, S., Kim, E. *et al.* Infection and Rapid Transmission of SARS-CoV-2 in Ferrets. *Cell host & Microbe* **27** 704–709 <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.03.023>
- Madewell, Z.J., Yang, Y., Longini, I.M. *et al.* Household Transmission of SARS-CoV-2: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Netw Open* **12** e2031756 (2020) doi:10.1001/jamanetworkopen.2020.31756
- Mykityn, A.Z., Lamers, M.M., Nisreen, M.A. *et al.* Susceptibility of rabbits to SARS -CoV-2. *Emerging Microbes & Infections* **10**, 1–7(2020) <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1868951>
- Oreshkova, N., Molenaar, R.J., Vreman, S. *et al.* SARS-CoV-2 infection in farmed minks, the Netherlands, April and May 2020. *Euro Surveill*. **2020**;25(23):pii=2001005. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.23.2001005>
- Oude Munnik, B.B., Sikkema, R.S., Niewenhuijse F. *et al.* Transmission of SARS-CoV-2 on mink farms between humans and mink and back to humans. *Science* **371**, 172–177 (2021)DOI: [10.1126/science.abe5901](https://doi.org/10.1126/science.abe5901)
- Puelles, V.G., Lütgehetmann, M., Huber, T.B. *et al.* Transmission of SARS-CoV-2 in Domestic Cats. *N Engl J Med*; **383**:592–594 (2020).DOI: 10.1056/NEJMc2013400
- Reukers, D.F.M., van Boven, M., Meijer, A. *et al.* High Infection Secondary Attack Rates of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 in Dutch Households Revealed by Dense Sampling. *Clinical Infectious Diseases* **237** (2021) <https://doi.org/10.1093/cid/ciab237>

Schlottau, K., Rissman, M., Graaf, A. SARS-CoV-2 in fruit bats, ferrets, pigs, and chickens: an experimental transmission study. *Lancet Microbe* **5** 218–225 (2020) doi: [10.1016/S2666-5247\(20\)30089-6](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(20)30089-6)

Schulz C, Martina B, Mirolo M, Müller E, Klein R, Volk H, Egberink H, Gonzalez-Hernandez M, Kaiser F, von Köckritz-Blickwede M, Osterhaus A. SARS-CoV-2-Specific Antibodies in Domestic Cats during First COVID-19 Wave, Europe. *Emerg Infect Dis*. 2021 Dec;27(12):3115-3118. doi: 10.3201/eid2712.211252. Epub 2021 Oct 25. PMID: 34695368; PMCID: PMC8632155.

Sit, T.H.C., Brackman, C.J., Ip, S.M. *et al*. Infection of dogs with SARS-CoV-2. *Nature* **586**, 776–778 (2020). <https://doi-org.proxy.library.uu.nl/10.1038/s41586-020-2334-5>

Van Aart, A.E, Velkers, F.C, Fischer, A.J.-*et al*. SARS-CoV-2 infection in cats and dogs in infected mink farms. *Transbound Emerg Dis* doi: [10.1111/tbed.14173](https://doi.org/10.1111/tbed.14173) [Epub ahead of print

World Health Organization: Transmission of SARS-CoV-2: implications for infection prevention precautions, <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/transmission-of-sars-cov-2-implications-for-infection-prevention-precautions>

Zhao, S, Schuurman, N., Li, W., *et al*. Serologic Screening of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection in Cats and Dogs during First Coronavirus Disease Wave, the Netherlands. *Emerging Infectious Diseases*, 27(5), 1362-1370.(2021) <https://doi.org/10.3201/eid2705.204055>.

Bijlagen

Bijlage 1

Project proposal



Utrecht University

Veterinary Medicine



netherlands
centre for
one health



Fighting COVID-19 in animals and humans

a one health approach

Contents

Partners involved in project “Fighting COVID-19 in animals and humans, a one health approach”	4
Executive summary	4
Project overview	5
Introduction	6
Deliverables of the project.....	7
Research questions	7
Work packages	7
Work package 1 SARS-CoV-2 in cats and dogs in Dutch households	9
Project team.....	9
Background and objectives	9
Methods.....	9
Task 1 – Proportion positive cats and dogs in COVID-19 positive households	10
Task 2 – Proportion positive cats and dogs in Dutch households	10
Work package 2 Prevalence of SARS-CoV-2 in different animal populations ..	12
Project team.....	12
Background and objectives	12
Methods.....	13
Task 1 – Serosurvey in different animal populations.....	13
Task 2 – Outbreak investigation in an animal shelter.....	13
Task 3 – Post mortem monitoring of SARS-CoV-2 in dogs, cats, rabbits and wildlife .	13
Work package 3 Pathogenesis and transmission of SARS-CoV-2 in cats	15
Project team.....	15
Background and objectives	15
Methods.....	16
Task 1 - Susceptibility of cats to SARS-CoV-2.....	16
Task 2 - Transmission of SARS-CoV-2 between cats.....	17
Work package 4 Molecular epidemiology	18
Project team.....	18
Background and objectives	18
Methods.....	18
Work package 5 Modelling of transmission between cats and humans of SARS-Cov2 between households.....	19
Project team.....	19
Background and objectives	19
Methods.....	20
Work package 6 Integration, Dissemination and Communication	21
Project team.....	21
Objectives	21
Methods.....	21

Timeline	22
References	23

Partners involved in project “Fighting COVID-19 in animals and humans, a one health approach”

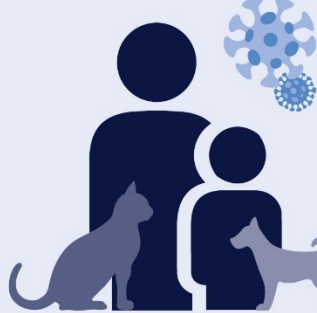
<i>Partner</i>	<i>Role</i>
Ministry of Agriculture, Nature and Food Quality	Client
NCOH partners, coordinated by Faculty of Veterinary Medicine, prof. J.A. Stegeman:	Contractor and coordinator
Faculty of Veterinary Medicine; dr. E.M. Broens, dr. H.E Egberink	Work package leaders
Wageningen University, prof. M.C.M. de Jong	Work package leader
Wageningen BioVeterinary Research, prof. W.H.M. van der Poel	Work package leader
Erasmus University Medical Center, prof. M.P.G. Koopmans	Work package leader

Executive summary

Several events have demonstrated that the pandemic virus SARS-CoV-2 can infect animals, felines and mustelids in particular, and can transmit from animal to animal. These are currently considered to be incidents, with a negligible risk for public health, as the main force of the pandemic is transmission between humans. However, it is urgent to understand the potential risk of animal infections for public health in the later stages of the pandemic when SARS-CoV-2 transmission between humans is greatly reduced and a virus reservoir in animals could become more important. To be prepared, we should now assess the risks more precisely and if needed define interventions in animal populations to mitigate these risks. This project proposal, coordinated by the Faculty of Veterinary Medicine, is a joint interdisciplinary effort of research groups with complementary expertise united in the Netherlands Centre for One Health (NCOH). Outcomes of this study include 1) an estimation of the prevalence of SARS-CoV-2 in cats and dogs, 2) a quantification of viral transmission from humans to animals and between animals, 3) identification of the potential future risks from animals to sustain infections in the human population and 4) estimating the effectiveness of potential interventions to mitigate these risks. Because a study on SARS-CoV-2 in mink has already started in association with the outbreaks on mink farms in the Netherlands, the focus of this study is on SARS-CoV-2 in companion animals. Results of this research will provide evidence-based advice to policy makers and other stakeholders on how to deal with animals in the COVID-19 pandemic that is urgently needed and not available at this moment at the national or international level.

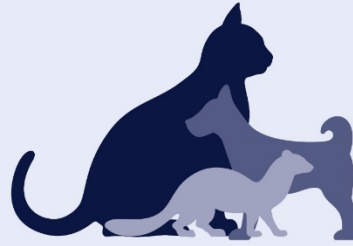
Project overview

WP1



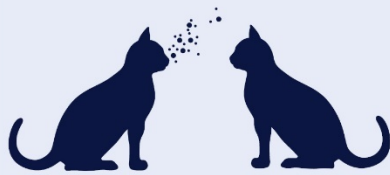
SARS-CoV-2 in cats and dogs in Dutch households

WP2



Prevalence of SARS-CoV-2 in different animal populations

WP3



Pathogenesis and transmission of SARS-CoV-2 in cats

WP4



Molecular epidemiology of SARS-CoV-2 in cats and dogs

WP5



Modelling of SARS-CoV-2 transmission between cats and humans within and between households

WP6



Dissemination and communication

Introduction

Since a coronavirus in bats made one or two species-jumps and subsequently infected humans in China, it was able to infect thousands of people and caused thousands of fatal cases worldwide. Originating from a mammalian animal source the virus efficiently spread between humans. Human to human transmissions is the driver of the pandemic, and the zoonotic nature of the infection seems of little importance at this moment where measures on human behavior are the most important and effective way of slowing down the outbreak.

However, the possibility that the virus will infect other animal species again remains of concern, especially in a country such as the Netherlands that is densely populated, where many people keep pets and with intensive livestock farming.

Incidental cases of SARS-CoV-2 in animals are not a public health threat at the moment, but what are the risks?

If the virus would be able to infect and spread in one or more of the domesticated animal species a potential virus reservoir could arise (1) and/or the possibility of virus transmission from animals to people could occur (2). From a public health point of view the importance of animals in the current phase of the epidemic is low, as human to human transmission is the driver of the epidemic and we see that interventions on human behavior reduce the incidence of new COVID-19 cases in humans. However, during the aftermath of this pandemic, when infections in humans are at a low level and public restrictions are lifted to a large extent it is of utmost importance to know the role of domestic pets, especially cats, in the transmission of this infectious disease and the potential risk they pose to public health. Transmission from animal to human could cause a major setback in that phase.

Several cases have been described (tigers and lions in a Zoo in the US, dogs in Hongkong and USA, cats in Belgium, Hongkong and USA) in which SARS-CoV-2 was detectable in animals, where human patients were the presumable source of contamination. However, in most animal cases no or just mild clinical signs were present. Infection experiments and serological studies in China showed that cats can effectively be infected. Under experimental conditions young cats can develop clinical signs and cats can spread the virus to each other over a short distance. Dogs seemed to be less susceptible, but some dogs developed antibodies after infection indicating actual infection. Infection experiments in China, Germany and at the Erasmus University Medical Center have shown that ferrets and rabbits can be infected and that the infection can be transmitted via direct contact and via air by ferrets. The very recent cases of infected animals in mink farms in the Netherlands point towards infection of the animals by human shedders of the virus and subsequent circulation in the animal population.

How can we be prepared and mitigate risks that arise from the infection of domesticated animals?

Despite a plethora of scientific publications from all over the world, the behavior of the virus remains unpredictable to a large extent. It is therefore of utmost importance to understand the observed events in animals and to investigate the behavior of the virus in animals to be able to assess its public health importance. The close contact between owners and their dogs and cats and the interaction between dogs and cats from different households raises the question of the role of these animals in the transmission of SARS-CoV-2. Research into the epidemiology of the virus in cats and dogs and the interaction with the epidemiology of the virus in humans, together with knowledge on the biological, pathophysiological and immunological reaction of cats after infection and the changes of the virus over time in a chain of infections, will lead the way to possible interventions to protect both animals and people. Although dogs are included, the focus of this study is on cats as current information indicates a bigger role for cats than for dogs in SARS-CoV-2 transmission. Sampling of pet ferrets and pet rabbits in Dutch households are excluded as well,

because we expect a low power for these species in our study design. Moreover, a current study on SARS-CoV-2 in mink will provide valuable information for these species.

At this time of the pandemic, policy advice on interventions in animals at a large scale, apart from setting up a proper surveillance system, seems unnecessary, as the public health importance is low. However, it is of utmost importance to analyze the potential role of animal populations in the aftermath of the virus pandemic in depth to be prepared for the future. With the results and the analysis of this integrated research proposal, in which several research groups from both veterinary and human medicine work together, we will have a sound basis to better assess the risk of SARS-CoV-2 poses in the future for public health and to propose interventions to mitigate this risk.

Deliverables of the project

Research results are meant to inform and advice policymakers and stakeholders (e.g. veterinarians, animal shelters, animal owners) that have to develop their strategies during the pandemic. This project will produce 'knowledge for action'. A dedicated work package (WP6) will be reserved for the integration of research data, the preparation of advices and communication with stakeholders. The knowledge produced by this project is needed worldwide. Research results will be published swiftly in open access journals to inform the international (scientific) community.

Research questions

The main research questions to be answered are:

1. To what extent do SARS-CoV-2 infections of pets, especially cats, by the owners/patients, occur under field conditions, in the Netherlands?
2. To what extent does animal to animal transmission occur and will the virus be able to maintain itself in the animal population ($R_0 > 1$)?
3. How does transmission between animals lead to changes in the virus suggesting adaptation to the new host?
4. How can molecular epidemiology be used to identify the direction of transmission when it occurs (human>pet and/or pet>human)?
5. What is the contribution of cats to the total transmission in the human and cat population (do cats play a relevant role (overall $R_0 > 1$) predict the possible attribution of cats to the infection dynamics in humans?
6. In case cats play a relevant role, what interventions can mitigate the risk?

To be able to answer these questions several different, interdependent, work packages are proposed:

Work packages

- WP1. SARS-CoV-2 in cats and dogs in Dutch households
- WP2. Prevalence of SARS-CoV-2 in different animal populations
- WP3. Pathogenesis and transmission of SARS-CoV-2 in cats
- WP4. Molecular epidemiology of SARS-CoV-2 in cats and dogs
- WP5. Modelling of SARS-CoV-2 transmission between cats and humans within and between households
- WP6. Management, integration, dissemination and communication

The outcome of WP1 will estimate the proportion of infected dogs and cats in Dutch households. This will give an estimate of the risk of spill-over from humans to companion animals. Results of WP2 will additionally provide insight in the (sero)prevalence of animals in different populations. Viral disease may behave different in animal populations with other contact structures such as stray cats and cats in shelters, and in wildlife (like Mustelidae and rabbits) that are examined in WP2.

Subsequently, transmission experiments are crucial to quantify transmission between cats (WP3). Quantified transmission parameters are crucial to understand the role of cats in the combined human-cat SARS-CoV-2 population dynamics. Parameter estimates are also essential for the mathematical modeling in WP5 that cannot be done without quantified transmission parameters or length of the infectious period. During the infection experiment samples will be collected to study pathogenesis and cellular immunity in inoculated and contact cats. This information is needed if one would propose vaccination of cats as a meaningful intervention. Viral RNA will be obtained for sequencing (in WP4) to look into within host diversity and potential host adaptation.

Viral RNA from WP1 and WP2 will be sequenced in WP4 that will give indications about the origin of the virus and the relatedness of the virus isolated from humans and animals. However, these sequence data cannot be used to describe what happens to the virus after several passages in cats. Circulating in the cat population, the virus might very well adapt to cats over time. Adaptation to the host species could mean easier spread of the virus between individuals of the species, like it happened in humans, causing the pandemic. Host adaptation is far from speculative, as it happens all the time, especially with coronaviruses. The only way to investigate this will be to infect cats under the highly controlled conditions of a laboratory experiment (WP3) and to sequence the virus after every step in the chain of infections (WP4).

Data from WP 1 – 4 will generate input for modelling studies (WP5). In WP5 the data of the different work packages will be put together in a mathematical model, giving insight into the spread of the virus in cats and the risk of reverse infections, from cats to humans, and the public health risks thereof. Different intervention strategies can be modelled and valued for their effects in mitigating the public health risk.

Work package 1 | SARS-CoV-2 in cats and dogs in Dutch households

Project team

Name	Partner
Els Broens	UU/BHS
Jaap Wagenaar	UU/BHS
Herman Egberink	UU/BHS
Marleen Kannekens-Jager	UU/BHS
Birgitta Duim	UU/BHS
Femke Broere	UU/CS
Hans Kooistra	UU/CS
Lidwien Smit	UU/PHS

in cooperation with research projects from RadboudUMC, Julius Centrum, UMCU and RIVM

Background and objectives

There are several cases of cats and dogs found virus-positive associated with human COVID-19 cases. These results raise questions about the role of cats and dogs in the epidemiology of SARS-CoV-2.

The research question to be answered from this work package:

What is the proportion positives for SARS-CoV-2 (virus presence and antibodies) in cats and dogs in Dutch households?

Sub research questions:

1. What is the proportion positives of SARS-CoV-2 (virus presence and antibodies) in cats and dogs living in a household with a confirmed COVID-19 positive human household member?
2. What is the proportion positives of SARS-CoV-2 (virus presence and antibodies) in cats and dogs with and without symptoms associated with COVID-19 visiting a veterinary clinic?
3. Does the proportion of SARS-CoV-2 positives differ between the above-mentioned populations of animals?
4. What are risk factors for testing SARS-CoV-2 positive in cats and dogs?
5. What is the duration of virus shedding in cats and/or dogs (follow-up to 6 weeks)?

Methods

We will take samples from cats and dogs to answer these research questions (Table 1).

Primary sampling (t=0) will consist of an oropharyngeal swab and a rectal swab for SARS-CoV-2 detection by PCR and a blood sample to detect antibodies and cellular immunity against SARS-CoV-2 (ELISA detection and virus neutralisation test for confirmation). Follow-up will consist of a 2nd sampling (t=3 weeks) for the first group of animals (participating in the positive household study). For the second group of animals (animals visiting a veterinarian), a 2nd sampling moment will be scheduled (t=3 weeks) when the first virus test is positive, and a 3rd sampling moment (t=6 weeks) will be scheduled when the 2nd sampling is PCR positive. The 6 weeks additional sampling is to check for long-term shedders and not to determine the exact length of shedding. Given the experimental study in cats with 8 days of shedding, and assuming a low prevalence in the general cat and dog population, it is highly unlikely that the animals will be sampled for a 2nd or 3rd time.

Task 1 – Proportion positive cats and dogs in COVID-19 positive households

For the first research question (task 1) we will participate in several studies in the human field to include COVID-positive households:

- a) COCON-study coordinated by Julius Center that will prospectively follow-up COVID-positive health care workers in twelve participating hospitals; project leaders Prof. J. Kluytmans and dr. M. Kluytmans-van den Bergh.
- b) A study at RadboudUMC investigating mucosal immunity in COVID-positive health care workers in three participating hospitals; project leaders Dr. M. de Jonge and dr. D. Diavatopoulos.
- c) FFx-study at RIVM in which households from recovered COVID-patients will be approached to provide information on households with pets
- d) UMCU offered to provide COVID-19 patients a leaflet with the request to participate; contact person UMCU prof. dr. M. Bonten

In all cases the households willing to participate will be approached and the study will be explained by telephone. We will use a mobile veterinary clinic (Katopia) from the Foundation for Straycats (Stichting Zwerfkatten Nederland) to sample the animals within the COVID-positive households. Experienced veterinarians and registered veterinary nurses from the Department of Clinical Sciences will sample the animals using protective clothing and material.

Currently, no information is available regarding the prevalence of SARS-CoV-2 in cats and dogs. Since the largest variation occurs at the prevalence of 0.5 (50%), this level of hypothetical/assumed prevalence is advised to be included in sample size calculation in case the prevalence is unknown.

To estimate the prevalence of SARS-CoV-2 in cats and dogs approximately 150 of each animal species is proposed to be sampled. The proposed sample size is the sample size enabling us to estimate a prevalence ranging from 0 to 100 %. The following assumptions are taken into account: 97.5% confidence interval and 10% precision.

Task 2 – Proportion positive cats and dogs in Dutch households

For the second research question (task 2) we will approach 30 veterinary clinics who regularly submit samples to the Veterinary Microbiological Diagnostic Center (VMDC). The veterinarians will be asked to submit samples (two swabs and a blood sample) from cats and dogs visiting their clinic. Veterinarians will be asked to submit samples from cats and dogs with respiratory and/or gastrointestinal problems (potentially related with SARS-CoV-2) and from cats and dogs that visit the veterinarian for other reasons. We aim to collect 125 samples of each population (i.e. 125 cats with symptoms, 125 cats without symptoms, 125 dogs with symptoms and 125 dogs without symptoms).

The VMDC will provide the veterinary clinics with all sampling materials and paper works (e.g. sampling protocol, informed consent, questionnaire).

For both tasks an ethical permit was approved already. Animal owners will be provided with information about the study and a request to sign an informed consent and to fill in a questionnaire (e.g. on clinical signs in human and animal household members). Questionnaires will be adapted to the questionnaires in the studies in the human field.

For both tasks the PCR-detection will be performed at the VMDC of the Department of Biomolecular Health Sciences, antibody detection will be performed at the Virology group and cellular immunity at the Immunology group of the same department. Serum samples will be included in the serosurvey as well (Work Package 2).

Prevalence estimation and risk factor analysis will be done at IRAS of the Department of Population Health Sciences. For these analyses we will also include the data from the human studies (using a data transfer agreement).

Work package 2 | Prevalence of SARS-CoV-2 in different animal populations

Project team

<i>Name</i>	<i>Partner</i>
Herman Egberink	UU/BHS
Els Broens	UU/BHS
Hans Kooistra	UU/CS
Jaap Wagenaar	UU/BHS
Marleen Kannekens-Jager	UU/BHS
Ruth van der Leij	UU/CS
Guy Grinwis	UU/BHS
Arjan Stegeman	UU/PHS
Judith van den Brand	UU/BHS
Femke Broere	UU/CS
Marion Koopmans	EMC
Richard Molenkamp	EMC
Reina Sikkema	EMC

Background and objectives

The incidental cases of SARS-CoV-2 in companion animals and the results of the experimental infection study and the serosurvey raise questions about the role of animals in the epidemiology of SARS-CoV-2. Especially in a country such as the Netherlands that is densely populated, where many people keep pets, animals might remain reservoirs for SARS-CoV-2 potentially causing re-emergence of COVID-19 in humans.

To gain more insight into the spread of SARS-CoV-2 in companion animal populations, (sero)surveys among different animal populations are crucial. First, serology on available sera from dogs and cats can provide a quick insight in the prevalence of SARS-CoV-2 antibodies in dogs and cats (comparable to the screening in human blood donors at Sanquin). Second, contact structure of cats in shelters and in stray cats is different than in household cats and virus transmission might be different in such a population, which is well known for other cat viruses. Outbreaks might be more obvious in these populations where cats are housed in groups, or less obvious in stray cats. If an outbreak occurs in a shelter important information on transmission between cats can be collected.

Next to serosurveys, it is important to screen animals that are submitted to the Division of Pathology (UU) for postmortem examination for the presence of this virus. These animals could give, next to sampling live animals, additional and important insight in the prevalence of SARS-CoV-2 infected animals. Furthermore, data obtained from postmortem examination of diseased animals give further information on the impact of the infection on the animal demonstrated by pathological changes in organs and tissues linking the presence of the virus and immunohistochemistry to a biological effect. Since it is suggested that infected animals may be subclinical reservoir species without showing clinical signs or lesions, other infected animals may show severe pathology as is seen in experimental and naturally infected animals (such as ferrets, rabbits and mink). Next to pet animals, the effect of SARS-CoV-2 on wildlife species, especially Mustelidae and rabbits as these species showed high susceptibility to SARS-CoV-2, will be included.

Research question:

To quantify the prevalence of SARS-CoV-2 infections in different animal populations

Methods

Task 1 – Serosurvey in different animal populations

Seroprevalence in serumbank samples (300 cats and 300 dogs)

The Veterinary Microbiological Diagnostic Center (VMDC) and the University Veterinary Diagnostic Laboratory (UVDL) of the Faculty of Veterinary Medicine get > 100 blood samples per week from dogs and cats for diagnostic purposes. Since beginning of April 2020 these samples are stored in a so-called serumbank. A selection of these samples (300 from cats and 300 from dogs) will be used to determine the seroprevalence among this population.

Seroprevalence in cats in animal shelters (300 cats)

For this study approximately 30 shelters will be selected by their geographic position (COVID-19 'hot spots' versus regions with few human COVID-19 cases) and their history (COVID-19 cases among staff and/or intake of cats from COVID-19 households). Per shelter 10 shelter cats housed in group housing will be sampled for serology on SARS-CoV-2.

In case of a positive sample an additional (EDTA) blood sample will be requested to address cellular immunity.

Seroprevalence in stray cats (300 samples)

Samples from stray cats included in trap, neuter and return (TNR) programs. Samples can be taken when cats are neutered and anaesthetised.

Antibody detection

Two different assays will be used to test the samples for presence of SARS-CoV-2 specific antibodies; ELISA and Virus neutralization test (VN).

For the antibody detection ELISA, plates are coated with the S1 protein and the receptor binding domain (RBD) of SARS-CoV-2.

Positive samples will be tested in a virus neutralization (VN) assay also to confirm positive ELISA results.

Cellular immunity

T-cell mediated immunity will be studied by analysing frequencies of virus-specific CD4+ and CD8 T cells over time.

Task 2 – Outbreak investigation in an animal shelter

In case of a suspected COVID-19 outbreak among shelter cats (in one of the shelters from task 1 or when notified by another shelter), this outbreak will be followed to elucidate the rate of transmission, shedding of virus, development of immunity and clinical signs in a group of cats.

The cats in the group or in the shelter (depending on the contact structure within the shelter) will be sampled 3 – 4 times a week (oropharyngeal and rectal swabs and faeces for PCR on SARS-CoV-2) and blood samples (once a week) will be taken for serology (ELISA, VNT) and cellular immunity.

For the seroprevalence study and the outbreak investigation in animal shelters an ethical permit will be needed.

Task 3 – Post mortem monitoring of SARS-CoV-2 in dogs, cats, rabbits and wildlife

Since the prevalence and effect of SARS-CoV-2 infection in cats and dogs in Dutch households are unknown, it is important to screen animals that are submitted to the Division of Pathology (UU) for postmortem examination for the presence of this virus. These animals could give, next to sampling live animals, additional and important insight in the prevalence of SARS-CoV-2 infected animals.

Dogs, cats, rabbits and Mustelidae will be included. The first two species will be included because of

their close contact to humans, the latter two species because of their shown susceptibility in experimental infections. Furthermore, data obtained from postmortem examination of diseased animals give further information on the impact of the infection on the animal demonstrated by pathological changes in organs and tissues linking the presence of the virus and immunohistochemistry to a biological effect.

For this purpose, cats, dogs, rabbits and (wild) Mustelidae that are routinely necropsied at the VPDC and DWHC will initially be sampled additionally for SARS-CoV-2 by taking pharyngeal swabs and samples of lung tissue and small intestine for testing by PCR/virus titration at ErasmusMC). When animals are tested positive, immunohistochemistry for SARS-CoV-2 antigen will be performed on all formalin-fixed paraffin-embedded tissues and linked to the (histo)pathology following the routine necropsy.

Material submitted to pathology, DGK, UU (VPDC and DWHC)

Number of cats (VPDC): 150-200 cats per year

Number of dogs (VPDC): 250-300 dogs per year

Number of rabbits (pets and wild): 50 – 100 per year

Number of Mustelidae (DWHC): 50-75 Mustelidae per year

(American mink, pine marten, badger, otter, stone marten, weasel, pole cat, ermine)

Total: 500-675 animals per year.

Work package 3 | Pathogenesis and transmission of SARS-CoV-2 in cats

Project team

<i>Name</i>	<i>Partner</i>
Wim van der Poel	WBVR
Frank Harders	WBVR
Nadia Oreshkova	WBVR
Sandra Vreman	WBVR
Jose Gonzales	WBVR
Alex Bossers	WBVR
Peter Hobbelen	WBVR
Nora Gerhards	WBVR
Marc Engelsma	WBVR
Mart de Jong	WUR
Arjan Stegeman	UU/PHS
Judith van den Brand	UU/BHS
Femke Broere	UU/CS

Background and objectives

In cats, experimental infection with SARS-CoV-1 and SARS-CoV-2 was found to result in viral infection of the lower respiratory tract, the induction of neutralizing antibodies, often with pathological changes in the respiratory tract could be identified. While anti-viral immunity usually relies on both humoral and T-cell mediated responses, the induction of SARS-CoV-2-specific T cells was not tested.

Several studies in both human and cat have suggested that pre-existing SARS-CoV-2-neutralizing antibodies may aggravate rather than ameliorate viral disease. The effects of neutralizing antibodies on SARS-CoV-2 infection and virus-induced pathology in cats remains unclear. To gain further insight in symptoms, pathology and the immune response to SARS-CoV-2 in cats and facilitate rational vaccine design we aim to characterize the humoral and T cell-mediated antiviral response in cats upon experimental infection over time in relation to viral load and pathological changes.

Since humans and cats live closely together, the question arose whether cats can be a source of infection for humans, and whether the virus can be transmitted amongst cats. The data will furthermore show whether SARS-CoV-2 infection in cats induces an effective adaptive immune response that protects cats from immunopathology. Therefore, we first set out to perform a pathogenesis study of SARS-CoV-2 infection in domestic cats. In this study, the susceptibility of cats, clinical signs and viral shedding shall be assessed. Additionally, a transmission study will be performed. In brief, cats will be infected and the transmission from infected cats to non-infected contact cats will be assessed. Given the catastrophe the current outbreak is causing in the human population, it is relevant to elucidate the role of cats in transmission of SARS-CoV-2. If the virus can efficiently spread amongst cats, additional measures need to be taken in order to control COVID-19.

Expected result

This study proposes to describe SARS-CoV2 pathogenesis in experimentally infected cats and to evaluate whether cats can efficiently transmit SARS-CoV-2 and how much they contribute to contaminate their surroundings (environment). The results are of utmost relevance for public

health and will have a direct impact on the control of COVID-19. Moreover, the results can be used to develop pre-clinical studies in cats for vaccine research.

Expected timeline

First, an ethical permit for performing animal experiments in cats will need to be obtained. The *in vivo* phase of task 1 is planned to start in July 2020. The first analyses of viral load measurements shall have taken place by mid-September. The *in vivo* phase of task 2 is planned to start in August 2020. Two experiments will be performed with two groups of 4 cats each. *In vitro* analyses shall run in parallel and finalization is aimed for end of October 2020. A draft report shall be provided by the end of November 2020.

Methods

Task 1 - Susceptibility of cats to SARS-CoV-2

This experiment aims to assess the susceptibility of cats to SARS-CoV-2 and characterize the infection process by monitoring clinical responses, as well as within-host virus dissemination and pathogenesis. The experimental design follows published studies in cats that were performed with SARS-CoV-1. To this end 12 cats will be inoculated with a medium to high dose (for instance 10^5 to 10^6 TCID₅₀) of SARS-CoV-2 (Dutch or German isolate) by both the intranasal and the intratracheal route. Additionally, two cats will be housed as control animals in a separate animal room. Cats will originate from a SPF laboratory cat breeder and between 8 and 16 weeks old. Viral replication will be monitored by taking nasal and oropharyngeal swabs under sedation at 6 time points post infection. Faeces samples will be collected daily. The clinical course will be monitored by continuous measurement of the body temperature via an implanted transponder, and by daily clinical health observations. Serum and EDTA blood samples will be taken at 4 time points post inoculation (PI). On four different time points (dpi 2, 4, 6 and 14), three cats each will be euthanized to evaluate the disease development within the respiratory and digestive tract tissues over time. The experiment will terminate at day 14, when we expect that the remaining cats ($n = 3$) will have developed a measurable antibody response.

Sample size calculations for this study were based on the data reported by Shi et al., 2020. By euthanizing 3 cats per time point we will be able to quantify similar mean levels of virus in respiratory organs to those reported in that study.

Clinical, shedding and antibody response dynamics will be assessed using observations from this and the transmission experiment explained below.

Tissue, faecal and swab samples will be analyzed for SARS-CoV-2 replication by determining infectious virus titres and nucleic acid quantities. Sera and EDTA blood samples will be used for serological and immunological assays. Tissues will be evaluated by both macro- as well as histopathology. Immunological parameters will also be studied, especially T-cell immunity and neutralizing antibody response. Antibody specificity, neutralizing capacity and isotype usage will be studied in the serum focusing on viral S protein. Furthermore, T cell-mediated immunity will be studied by analyzing the frequencies of virus-specific CD4+ and CD8 T cells over time. The aim will be to improve insights on the development of protection against reinfection. Additionally, floor, wall and feed trough swabs will be collected daily from animal rooms.

Table 1. Study outline task 1

DPI	-14	-13	-12	-11	-10	-9	-8	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Inoculation (12 cats)																													
Clinical scores																													
Implant temp transponder																													
Body temperature																													
Blood serum & EDTA																													
Nasal & oropharyngeal swabs																													
Fecal samples																													
Body weight																													
Necropsies (2 cats each)																													

Task 2 - Transmission of SARS-CoV-2 between cats

Statistical assessment of a transmission study in cats

Four experiment replicates of 2 donor and 2 contacts will allow to evaluate the transmission between cats. In case that no contact cats will be infected, the transmission rate will be significantly lower than 1. In case that 8 contact infections occur, the transmission rate will be significantly higher than 1. This way, an estimate of the R0 can be achieved in cats under this experimental setup.

Experimental procedure

In the transmission experiment, 4 cats will be enrolled per experiment, and two times two replicate experiments will be performed sequentially. All cats will originate from a SPF laboratory cat breeder and will be between 8 and 16 weeks old. Per experiment, four cats will be housed together in one animal unit. Two cats of each group will be inoculated with same isolate as in the pathogenesis study by both the intranasal and the intratracheal route, whereas two cats will be contact animals that receive no inoculum. The inoculated and noninfected cats will be kept separately for 24 hours post infection before being again housed in one group. Cats will be provided with cage enrichment, and animal behaviour will be monitored with video cameras. All cats will wear neckbands with a transponder which regulates the access to litter boxes, so that faeces samples can be attributed to individual cats.

Faecal samples will be taken daily from all cats for analysis of virus shedding. Nasal and oropharyngeal swabs will be taken on DPI 2, 4, 6, 10, 14, 18 and 21. All cats will be followed for 21 days post infection before collecting postmortem samples and blood for virologic, serologic and immunologic analyses. From samples in which SARS-CoV2 is detected the virus will be sequenced. Full genome sequences will be obtained by NGS to evaluate if the virus mutates and adapts to the cat species. Whole genome sequencing and bioinformatic analyses will be performed to model the SARS-CoV2 variability related to virus transmission. Use of quasi species data to estimate a time window based on the observed virus variability.

Table 2. Study outline for one replicate experiment in task 2.

DPI	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Inoculation (2 cats)																												
2 contact cats																												
Clinical scores																												
Nasal & oropharyngeal swabs																												
Fecal samples																												
Body weight																												
Necropsies																												

During the course of the transmission experiment and the pathogenicity experiment, environmental and air samples will be taken to monitor the levels of virus contamination in the environment.

Work package 4 | Molecular epidemiology

Project team

<i>Name</i>	<i>Partner</i>
Marion Koopmans	EMC
Bas Oude Munnik	EMC
Reina Sikkema	EMC
Mart de Jong	WUR
Arjan Stegeman	UU/PHS
Judith van den Brand	UU/BHS

Background and objectives

Since its emergence, SARS-CoV-2 has spread globally, and caused a first pandemic wave. As a consequence, the genetic diversity of the circulating viruses has been increasing, and co-evolving lineages are starting to become visible. This diversification has enabled the use of whole genome sequencing for tracking of incoming viruses, contacts of cases and for analysis of clusters. In the Netherlands, a systematic sample of the newly diagnosed cases has been sequenced since the start of the outbreak, and a database of currently roughly 1000 whole genomes is available. This includes analyses of samples from clusters in health care workers from hospitals and nursing homes, characterized as part of investigation into possible nosocomial outbreaks.

Methods

The proposed project is exploratory in nature, exploring the potential for anthroponotic transmission of SARS-CoV-2 to cats and other pets. As experimental infections have shown evidence for transmission among cats, it is conceivable that owned or stray cats can transmit viruses as well and thereby become a source of onward transmission to humans. In addition, animals held in shelters or sold by breeders can potentially be infected and introduce viruses into the household. WGS can be used to try to unravel sources of infections in case of linked human and animal cases, although we do not expect to find this with high frequency.

In this WP we will characterize viruses from RT-PCR positive samples identified through the studies in WP1, 2, and 3 in order to:

- a) Characterize within host sequence diversity
- b) Characterize between host diversity
- c) Compare viruses detected in different hosts in the same household or settings
- d) Combine sequence data with the epidemiological data collected during the proposed studies for joint analysis

For objectives b), c) and d) the data will be combined with data from human cases, funded through a ZonMw initiative aimed at providing a reference database of SARS-CoV-2 in humans in The Netherlands. Within host diversity will be analyzed by sequencing samples from consecutively sampled individuals with SARS-CoV-2.

We will use a protocol generating whole genome sequences using an overlapping set of 83 amplicons, optimized for sequencing SARS-CoV-2 genomes from humans. We will do a comparison of sequential samples from infected humans and cats to compare within host diversity and analyze samples from contact cats in infection experiments to assess if there are signs of host adaptation. In case of more widespread evidence for circulation of SARS-CoV-2 in animals, a systematic snapshot of samples from positive animals will be sequenced and compared against the diversity of viruses found in humans.

Work package 5 | Modelling of transmission between cats and humans of SARS-CoV2 between households

Project team

Name	Partner
Mart de Jong	WUR
Egil Fisher	UU/PHS
Hans Heesterbeek	UU/PHS

Background and objectives

Known zoonotic infections of cats are maintained in the population of cats and occasionally jump to humans. This is what is often called spill-over. The issue is then whether the infection is maintained in the cat population and in what part of the cat population and what the risk is for humans. The situation for SARS-CoV-2 is different in that it transmits also between humans and the issue now is what happens if it can also transmit from humans to cats and from cats to humans again. In the latter case one would expect it also to transmit between cats and that could be relevant also for the dynamics. Influenza viruses (H3N2, H1N1, H1N1 Mexico) jump from pigs to humans and from humans to pigs and can also transmit in both species although they tend to adapt to both species separately and interspecies transmission is therefore assumed to be infrequent. Also, no attempt is made to eradicate or slowdown H1N1 influenza transmission in humans and vaccination is available for clinical protection. Influenza H5N1 was also found in cats, but interspecies transmission between humans and cats was not observed and this influenza virus never transmitted in humans. Human cases were assumed to result from poultry infections. SARS-CoV-2 is different in that transmission among humans occurs and there is no protective vaccine available. Thus, the current strategy in all countries in the world is to (locally) eradicate the virus or at least slowdown its transmission.

Research questions

- If SARS-CoV-2 transmits also to, from, and between cats (to be called cat transmission), what are then the implications for the attempts to eradicate or slow down the transmission of this virus in humans.
- How can we observe that cat transmission is playing a role? (Includes sampling strategies.)
- What measures can be taken to mitigate the adverse effects of cat transmission?

Expected results

Our research question is how the transmission between households depends on the interventions (within household hygiene and social distancing between households) and the absence or presence of cats. The basic model should be the RIVM contact model and we need to add the transmission within household to separate the transmission within household from the transmission between households. Current strategy brings the overall transmission below one over time because of between household contact reduction: household members in general have less contact (no school, no work) and in addition infected individuals and their family stay at home (after the onset of clinical signs). Locally for example in cities with many households with cats, cat transmission could shift the balance from R below one to locally in cities with many households with cats to above one. We investigate (1) for what parameter values for cat transmission this could happen, (2) how to detect early that it does happen and (3) what mitigation measures we can apply to stop this.

Methods

Within household

The transmission of SARS-CoV-2 within a household involves all the household members. Thus, when there is cat transmission also cats. Basically, one could distinguish among the infected: clinical diseased and infectious humans, sub-clinical infectious humans, and infectious cats. Among the recipients: young people (less likely to become clinical), older people (more likely to become clinical) and cats. In this way a stochastic multi-type SIR model within household is defined depending on household composition. Transmission within the household is highest in the period when there are only subclinical infectious members because the people in the household are not aware of the infection. Transmission will most probably still occur within the household when the people in the household are aware because of clinical symptoms. However, at least transmission between households will be sufficiently reduced ($R < 1$). The first period is the high-risk period (HRP) both for the within household transmission as also for the between household transmission.

Between household

The transmission between households is because of (1) visits of household members of infectious household to other households, (2) visits to other locations where people meet (schools, workplace, pubs and restaurants, etc.), or (3) because of visits of people (from other households) to the infectious household. These contacts with other humans from the household members of the two age groups in the households should be based on the RIVM contact model which is based on age groups. Here we study what happens if we add cat transmission.

Cat transmission between households, i.e. to/from cats or humans of other households, occurs during physical contact or via the shared environment. Transmission between households via cats can occur, when (1) infectious cats enter other households; (2) transmission in locally shared areas, such as (public) gardens, parks, and playgrounds; (3) susceptible cats enter an infectious household. Note that distinguishing between (1), (2) and (3) is relevant when considering environmental transmission: given the same contact time, transmission depends also on the time the infectious individual has already been at the location.

Next to cats living in a household, we should also consider other cat populations at risk. Therefore, we will distinguish between populations of cats in shelters, stray cats and owned cats. The stray cats could play a role in maintaining an infected environment and as such increase the between-household transmission. Also, animal shelters and catteries could play a role as a reservoir.

Work package 6 | Integration, Dissemination and Communication

Project team

<i>Name</i>	<i>Partner</i>
Arjan Stegeman	UU/PHS
Els Broens	UU/BHS
Merel Langelaar	UU/CS
Wieneke Driessen	UU/MCM
All WP-leaders	UU/WUR/EMC

Objectives

The main task in this work package is to manage and coordinate the project, integrate where necessary, communicate the results to the Ministry of Agriculture, Nature and Food Quality according to a mutually agreed communication plan and disseminate the results. Data generated by the different work packages will be exchanged and integrated during the course of the project according to a data management plan.

Methods

The coordinators at the Faculty of Veterinary Medicine will take care of the management, coordination and integration of the different work packages and will keep track of time (Figure 1).

The first tasks for this WP6 are:

- to write a data management plan (DMP, in DMP- online)
- to develop a communication plan together with the client
- to establish an Advisory Group of stakeholders
- to write a consortium agreement that settles intellectual property, data management, rights and duties of the different partners.

In regular meetings with the project team of WP 6 (consisting of coordinators at the Faculty of Veterinary Medicine and WP-leaders of the different work packages) progress of the work packages and evaluation of the results will be discussed. The coordinator(s) will report to an Advisory Board at on a regular basis with a frequency the client demands.

The project team of WP 6 will discuss and assess (preliminary) data to identify potential risks for animal and public health. The client will be informed on the outcomes of such risk assessments and if needed the National Zoonoses Structure will be involved. In the event of a (potentially) urgent finding the client will be informed immediately and an ad hoc meeting will be organized.

During the course of the project the different researchers and experts united in this project will also share the knowledge generated in this research via different routes. More detailed information on these routes will be included in the communication plan.

Research results of the different work packages will be (pre)published rapidly in open access journals, to share important information with the (international) community.

Work package	task	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13	M14	M15	M16	M17	M18	start month	end month
WP 1	task 1	#	sampling COVID-19 households							DR	data analysis			FR						M1	M13
	task 2	#	sampling at veterinary clinics							DR	data analysis			FR						M1	M13
WP 2	task 1	serumbank					DR	FR												M1	M7
	task 1	****	****	seroprevalence animal shelters						DR	data analysis			FR						M3	M14
	task 1			seroprevalence stray cats						DR	data analysis			FR						M4	M14
	task 2	****	****							DR	data analysis			FR							M14
	task 3	postmortem monitoring in cats, dogs and wildlife													DR	data analysis		FR		M1	M17
WP 3	task 1	****	****				DR	data analysis				FR								M3	M11
	task 2	****	****				transmission study			DR	data analysis			FR						M4	M13
WP 4							virus detection (task 3 WP 2) and sequencing (WP 1-3)											FR		M3	M17
WP 5								Model building and transmission model						DR	mitigation model			FR		M7	M17
WP 6																					
		PG	MT	AG	PG		AG	PG		AG	PG		AG	PG		AG	PG	AG	OR	M1	M18
		#	ethical permit for WP 1 has been approved already																		
		DR	draft report																		
		FR	final report																		
		OR	overall report																		
		****	obtaining ethical permit																		
			only in case an outbreak occurs																		
		MT	management tasks (DMP, communication plan, advisory group, CA)																		
		PG	project group																		
		AG	advisory group (meeting schedule will be included in the communication plan)																		

22

References

- Chan J.F., Zhang A.J., et al., 2020. Simulation of the clinical and pathological manifestations of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in golden Syrian hamster model: implications for disease pathogenesis and transmissibility. *Clin. Infect. Dis.* doi: 10.1093/cid/ciaa325
- Duquette, R.A. and Nuttall, T.J., 2004. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in dogs and cats: an emerging problem? *Journal of Small Animal Practice* 45, 591-597
- Gregory, V., Bennett, M., et al., 2003. Human infection by a swine influenza A (H1N1) virus in Switzerland. *Archives of Virology* 148, 793-802.
- Guardabassi, L., Schwarz S., et al., 2004. Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 54, 321-332
- Haagsman G.L., van den Brand J.M. et al., 2015. Asymptomatic Middle East respiratory syndrome coronavirus infection in rabbits. *Journal of Virology*, 89(11):6131-6135
- Kampf G., Todt D., et al., 2020. Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents. *Journal of Hospital Infection* 104, 246-251.
- Kim Y., Kim S., et al., 2020. Infection and Rapid Transmission of SARS-CoV-2 in Ferrets. *Cell Host & Microbe* (2020), <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.03.023>
- Kuiken, T., Rimmelzwaan, G., et al., 2004. Avian H5N1 influenza in cats. *Science* 306, 241-241.
- Martina B.E., Haagsman B.L., et al., 2003. Virology: SARS virus infection of cats and ferrets. *Nature*, 425(6961):915
- O'Connor, C.M., Abid, M., et al., 2019. Cat-to-Human Transmission of *Mycobacterium bovis*, United Kingdom. *Emerging Infectious Diseases* 25, 2284-2286.
- Oude Munnink et al., in preparation; www.nextstrain.org
- Richard M., Kok, A., et al., 2020. SARS-CoV-2 is transmitted via contact and via the air between ferrets. <https://doi.org/10.1101/2020.04.16.044503>
- Shi J., Wen Z., et al., 2020. Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS-coronavirus 2. *Science*. doi: 10.1126/science.abb7015.
- Sikkema et al., in preparation
- Temmam, S., Barbarino A., et al., 2020. Absence of SARS-CoV-2 infection in cats and dogs in close contact with a cluster of COVID-19 patients in a veterinary campus. <https://doi.org/10.1101/2020.04.07.029090>
- Van den Brand J.M., Haagmans B.L., et al., 2008. Pathology of experimental SARS coronavirus infection in cats and ferrets. *Vet Pathol.* 45(4):551-62.

Bijlage 2

Activiteiten en publicaties

Communicatie rondom Fighting Covid-19

De informatie over het onderzoek is via verschillende communicatiekanalen gedeeld:

- Via de website van de faculteit Diergeneeskunde:
[Onderzoek naar COVID-19 bij dieren - Faculteit Diergeneeskunde - Universiteit Utrecht \(uu.nl\)](#)
- Via de website van Diergeneeskunde voor diereigenaren:
[Universitair Dierenziekenhuis | Vragen en antwoorden over COVID-19 en huisdieren \(diergeneeskunde.nl\)](#)
- Via de website van Wageningen University & Research:
[COVID-19 bestrijden bij dieren en mensen - WUR](#)

Verder zijn verschillende webinars georganiseerd, twee voor dierenartsen en een voor de onderzoekscommunity van het Netherlands Centre for One Health (NCOH):

- Webinars voor dierenartsen ([30 april 2020](#) en [26 november 2020](#))
- Webinar voor community NCOH ([25 februari 2021](#))
- Symposium Kennisnetwerk Zoönosen Midden-Nederland (2 juni 2021)

Fighting COVID-19 in de media

- [The Conversation](#) – Pets, livestock and wildlife can all catch coronavirus – does that make them dangerous? (19 augustus 2021)
- [NewScientist](#) – In een op de vijf huishoudens geven baasjes corona door aan hun hond of kat (13 juli 2021)
- [BBC News](#) – Pets can catch Covid from owners, study suggests (1 juli 2021)
- [Scientias](#) – Ook honden en katten lopen regelmatig corona op (1 juli 2021)
- [Talkshow Zzzzzondag](#) – Hoe gaat een coronatest bij een huisdier in z'n werk? Interview met OMT-lid Els Broens (13 april 2021)
- [Nu.nl](#) – 'Eén op de vijf katten raakt besmet bij coronageval binnen huishouden' (31 december 2020)
- [AD](#) – Hans en Harry rijden rond met hun coronabus om katten en honden te testen op virus (5 december 2020)
- [Dierenarts.nl](#) – Wat weten we over het coronavirus bij onze huisdieren? (3 december 2020)
- [NRC](#) – Hoe gevoelig zijn de dieren om ons heen? (13 november 2020)
- [NPO radio 3](#) (vanaf 1:46 tot 1:51) – Els Broens over COVID-19 bij huisdieren (16 september 2020)
- [De Volkskrant](#) – Corona uitbraak door nertsen veel heftiger dan bekend: zeker 66 mensen besmet (11 september 2020)
- [NOS Jeugdjournaal](#) – Ook honden en katten krijgen een corona-test (2 september 2020)
- [NOS Journaal](#) – Honden en katten getest op corona: 'We willen informatie voor de toekomst' (2 september 2020)
- [Trouw](#) – Besmetting nertsen houdt niet op, maar ze zijn geen coronabrandhaard (17 augustus 2020)
- [Vetscience](#) – Onderzoek naar COVID-19 in mens en dier (20 juli 2020)
- [DUB](#) – Coronakopstuk Arjan Stegeman: 'Dieren kunnen een coronareservoir worden' (24 juni 2020)
- [NOS.nl](#) – Dier op mens-besmetting: 'Kans blijft klein, maar wel alert op blijven' (20 mei 2020)

- [De Volkskrant](#) – Universiteiten gaan katten met corona en hun besmettelijkheid in kaart brengen (20 mei 2020)
- [AD](#) – Universiteit Utrecht onderzoekt of katten gevoelig zijn voor coronavirus (28 april 2020)

Wetenschappelijke publicaties

- [Serological Screening for Antibodies against SARS-CoV-2 in Dutch Shelter Cats](#) (18 augustus 2021)
- [SARS-CoV-2 infection in cats and dogs in infected mink farms](#) (3 juni 2021)
- [Serologic Screening of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection in Cats and Dogs during First Coronavirus Disease Wave, the Netherlands](#) (mei 2021)

Gerelateerde publicaties

- [Rijksoverheid.nl](#) – Onderzoek naar besmettingsroutes van SARS-CoV-2 op nertsbedrijven (12 april 2021)
- [Rijksoverheid.nl](#) – SARS-CoV-2 antistoffen onderzoek bij varkens in Nederland (30 oktober 2020)
- [Rijksoverheid.nl](#) – Eindrapportage SARS-CoV-2 bij besmette nertsbedrijven (31