

## Fundamentos de la epidemiología genómica, lecciones aprendidas de la enfermedad por coronavirus (COVID-19) y nuevas direcciones

*Fundamentals of genomic epidemiology, lessons learned from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic, and new directions*

Denis Jacob Machado\* , Richard Allen White III , Janice Kofsky   
y Daniel A. Janies 

### Acceso Abierto

#### Correspondencia:

dmachado@unc.edu  
Department of Bioinformatics and Genomics, College of Computing and Informatics, University of North Carolina at Charlotte, 9331 Robert D. Snyder Rd, BINF 224, Charlotte, NC 28223, USA.

Sometido:

30-07-2022

Aceptado para publicación:

13-10-2022

Publicado en línea:

01-12-2022

#### Palabras clave:

COVID-19; epidemiología molecular; secuenciación genómica; vigilancia genómica mejorada; virulencia.

#### Key words:

COVID-19; genomic sequencing; improved genomic surveillance; molecular epidemiology; virulence.

#### Citación:

Machado DJ., White III RA., Kofsky J., Janies DA. Fundamentos de la epidemiología genómica, lecciones aprendidas de la enfermedad por coronavirus (COVID-19) y nuevas direcciones. *Magna Scientia UCEVA* 2022; 2:2 197-213.  
<https://doi.org/10.54502/msuceva.v2n2a5>

### Resumen

La pandemia de la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) fue una de las principales causas de muerte en todo el mundo en 2020. La enfermedad es causada por el coronavirus 2 (SARS-CoV-2), un virus de ARN de la subfamilia Orthocoronavirinae relacionado con otros 2 coronavirus clínicamente relevantes, SARS-CoV y MERS-CoV. Al igual que otros coronavirus y varios otros virus, el SARS-CoV-2 se originó en los murciélagos. Sin embargo, a diferencia de otros coronavirus, el SARS-CoV-2 resultó en una pandemia devastadora. La pandemia de SARS-CoV-2 continúa, debido a la evolución viral que conduce a variantes más transmisibles e inmunes evasivas. Tecnologías como la secuenciación genómica, ha impulsado el cambio de la epidemiología sindrómica a la molecular, y promete una mejor comprensión de las variantes. La pandemia de COVID-19 ha expuesto obstáculos críticos que deben abordarse para desarrollar la ciencia de las pandemias. Gran parte del progreso se está aplicando en el mundo desarrollado. Sin embargo, persisten las barreras para el uso de la epidemiología molecular en los países de ingresos bajos y medianos (LMIC), incluida la falta de logística para equipos y reactivos y la falta de capacitación en análisis. Revisamos la literatura de epidemiología molecular para comprender sus orígenes desde la epidemia de SARS (2002-2003) hasta los eventos de influenza y la pandemia actual de COVID-19. Abogamos por una mejor vigilancia genómica del SARS-CoV y por comprender la diversidad de patógenos en posibles huéspedes zoonóticos. Este trabajo requerirá capacitación en computación filogenética y de alto rendimiento para mejorar los análisis del origen y la propagación de patógenos. Los objetivos generales son comprender y reducir el riesgo de zoonosis a través de la colaboración interdisciplinaria y la reducción de las barreras logísticas.

### Abstract

The coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic was one of the significant causes of death worldwide in 2020. The disease is caused by severe acute coronavirus syndrome (SARS) coronavirus 2 (SARS-CoV-2), an RNA virus of the subfamily Orthocoronavirinae related to 2 other clinically relevant coronaviruses, SARS-CoV and MERS-CoV. Like other coronaviruses and several other viruses, SARS-CoV-2 originated in bats. However, unlike other coronaviruses, SARS-CoV-2 resulted in a devastating pandemic. The SARS-CoV-2 pandemic rages on due to viral evolution that leads to more transmissible and immune evasive variants. Technology such as genomic sequencing has driven the shift from syndromic to molecular epidemiology and promises better understanding of variants. The COVID-19 pandemic has exposed critical impediments that must be addressed to develop the science of pandemics. Much of the progress is being applied in the developed world. However, barriers to the use of molecular epidemiology in low- and middle-income countries (LMICs) remain, including lack of logistics for equipment and reagents and lack of training in analysis. We review the molecular epidemiology literature to understand its origins from the SARS epidemic (2002–2003) through influenza events and the current COVID-19 pandemic. We advocate for improved genomic surveillance of SARS-CoV and understanding the pathogen diversity in potential zoonotic hosts. This work will require training in phylogenetic and high-performance computing to improve analyses of the origin and spread of pathogens. The overarching goals are to understand and abate zoonosis risk through interdisciplinary collaboration and lowering logistical barriers.



## ¿Cómo se convirtió la epidemiología genómica en lo que es?

La epidemiología genómica se deriva de la epidemiología molecular, la cual utiliza pruebas que van desde la electroforesis en gel hasta la tipificación de secuencias multilocus para estudiar los orígenes y la propagación de microorganismos patógenos. Janies et al. [1] revisaron la historia de la epidemiología molecular y la compararon con la epidemiología sindrómica. Aquí, nos enfocamos en los avances recientes hacia la epidemiología genómica (ver figura 1), los cuales incluyen la secuenciación genómica, combinada con el intercambio rápido de datos como lo permite Internet. En 2002-2003, el coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV) fue la primera enfermedad infecciosa para la cual, los científicos compartieron software y datos genéticos de patógenos a través de Internet para responder rápidamente a la enfermedad. A partir de entonces, la epidemiología genómica se consolidó con las respuestas a H5N1, H1N1-2009 y otras cepas de influenza como H7N9 [2] y se ha expandido para responder a las enfermedades transmitidas por los alimentos y de transmisión sexual [3-5]. El primer genoma del SARS-CoV se compartió después de la publicación [6,7] en el sitio web GenBank del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI), lo cual era lo habitual. Mientras tanto, surgieron dashboards, gráficos y mapas para rastrear casos en tiempo y espacio [8]. Janies et al. [9,10] combinaron datos genómicos y geográficos para el SARS-CoV y la influenza H5N1, respectivamente, siendo los primeros en proyectar filogenias en un globo virtual. Janies et al. [11] usaron lenguaje de marcación Keyhole (KML) para desarrollar *supramaps*, los cuales facilitan el mapeo geográfico de filogenias. Los *supramaps* permitieron probar las hipótesis que comprendían el hospedero y los orígenes geográficos de los patógenos [12] para rastrear mutaciones que conferían resistencia a los medicamentos o cambio de hospedero [13,14]. Las limitaciones de computar grandes conjuntos de datos junto con la preferencia de compartir datos después de la publicación, dieron como resultado un cambio mayor entre la adquisición de datos y los resultados que el que ocurre hoy. Sin embargo, estas condiciones no impidieron un campo basado en hipótesis con valor para los tomadores de decisiones, como se demostró en una audiencia del Congreso de 2007 [15]. En la década del 2000, se secuenciaron algunos genomas

de patógenos respiratorios como el H1N1-2009. Sin embargo, incluso los genomas del SARS-CoV no siempre se secuenciaron por completo y las secuencias se publicaron gradualmente [9]. Esto cambió debido a factores como las nuevas tecnologías de secuenciación de ADN.

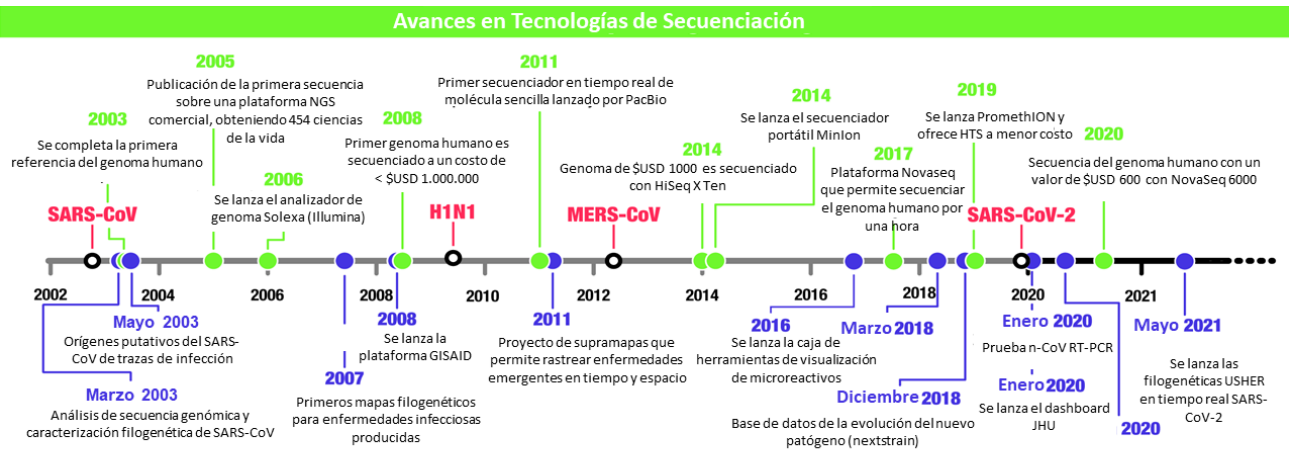
## ¿Cómo los avances en la tecnología de secuenciación cambiaron la epidemiología genómica?

La actual epidemiología genómica de enfermedades infecciosas se originó en respuesta a la epidemia de la SARS-CoV [16]. La secuenciación del genoma del SARS-CoV fue fundamental para reconocerlo como un nuevo coronavirus asociado con HCoV-OC43 y HCoV-229E [6,7]. Los investigadores combinaron datos genómicos y epidemiológicos para rastrear la variación genotípica de las rutas de transmisión viral entre 2002 y 2003 [17,18]. Sin embargo, la vigilancia genómica actual evolucionó con el avance de la secuenciación de alto rendimiento (HTS) (ver figura 1). Reuter et al. [19] resumieron la historia de HTS hasta 2015 y Pérez-Losada [20] revisaron los avances recientes en HTS. Aquí, nos enfocamos en la variación del costo de secuencia por megabase sin procesar entre 2001 y 2020 [21] (ver figura 2a) para ilustrar la creciente viabilidad de secuenciar genomas de coronavirus (ver figura 2b). Teniendo en cuenta el costo de la secuenciación de nucleótidos sin procesar, 100 dólares estadounidenses no fueron suficientes para secuenciar un genoma de coronavirus en 2020, pero 100 dólares cubrirían más de 400000 genomas en 2020.

## ¿Qué son los Coronavirus?

Los coronavirus corresponden a los cuatro géneros de la subfamilia Orthocoronavirinae, Gammacoronavirus (GammaCoVs) y Deltacoronavirus (DeltaCoVs); los coronavirus infectan principalmente a las aves y rara vez infectan a los mamíferos [22, 23]. Los alfacoronavirus (AlphaCoVs) y los betacoronavirus (BetaCoVs) se originaron en quirópteros (murciélagos) y a menudo se encuentran en otros mamíferos, incluidos los humanos [24]. El virión del coronavirus encapsula uno de los genomas de virus de ARN más largos (27-32kb), [25] el cual posee una expresión génica compleja [26] y un contenido de genes variable entre los géneros (figura 3a) [27].

**Figura 1 Cronología de los principales eventos en tecnología de secuenciación (verde) y epidemiología genómica (púrpura) junto con la primera aparición registrada de SARS-CoV, H1N1-2009, MERS-CoV y SARS-CoV-2 en humanos**



Las infecciones por coronavirus en animales domésticos son económicamente significativas [28–30]. Sin embargo, la aparición episódica de coronavirus humanos (HCoV) es una preocupación apremiante debido a que causan infecciones en todos los grupos de edad, lo que a menudo conduce a enfermedades respiratorias o entéricas [31]. Las enfermedades neurológicas o hepatitis, son menos frecuentes [32]. El sitio web de los Centros para el Control de Enfermedades (CDC) de EE-CoV y SARS-CoV-2 adicionó el coronavirus entérico humano 4408 (HECV-4408) a la lista porque se aisló de un niño con gastroenteritis aguda [34].

### ¿Cómo aceleró el SARS-CoV-2 el crecimiento de la epidemiología genómica?

Los coronavirus no se consideraron altamente patógenos para los humanos hasta el brote de SARS-CoV de 2002 [35,36]. Los peligros de los HCoV se hicieron más evidentes con el brote de 2012 del síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS) coronavirus (MERS-CoV) [37]. No obstante, los coronavirus no recibieron el nivel actual de atención hasta que la enfermedad por coronavirus pandémico 2019 (COVID-19), causada por el SARS-CoV-2, se informó por primera vez en humanos en Wuhan, China, en diciembre de 2019 [38]. Sin embargo, Pekar et al. [39] infirieron que el virus estuvo presente en Hubei aproximadamente un mes antes. El 11 de marzo de 2020, la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró una pandemia debido a

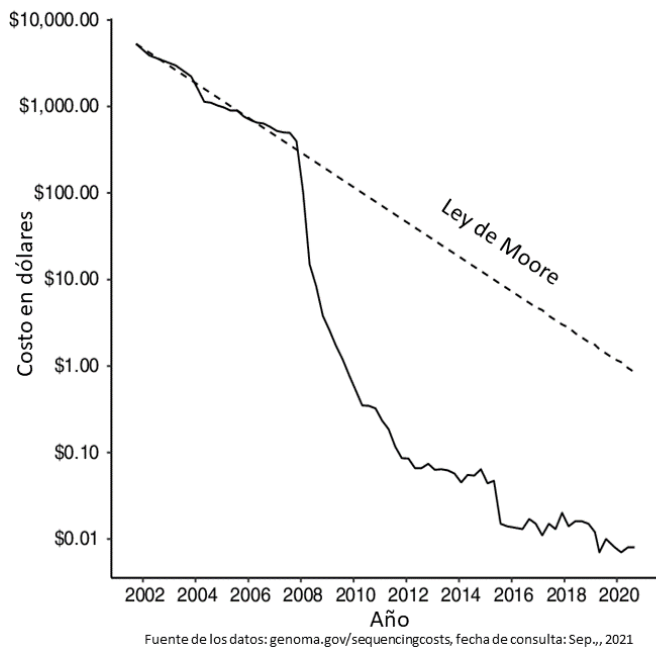
la propagación del SARS-CoV-2 [38]. Para el 14 de octubre de 2021, el COVID-19 había causado 4.863.818 muertes en todo el mundo [40].

Comprender la aparición y evolución del SARS-CoV-2 es vital para prevenir futuras pandemias [41]. La pregunta se puede dividir en 3 componentes. Primero, ¿el virus fue manipulado a propósito? Varias publicaciones revisadas por pares han concluido que el SARS-CoV-2 surgió naturalmente a través de la zoonosis (ver, por ejemplo, Anderson et al. [42]; Liu et al. [43] y Holmes et al. [44]). Además, los datos serológicos anteriores indican infecciones humanas naturales por virus similares al SARS alojados en murciélagos [45]. En segundo lugar, ¿fue el SARS-CoV-2 una liberación accidental? Si un virus natural se transportó a un laboratorio y los humanos se infectaron poco después, es posible que el virus no haya acumulado suficientes mutaciones para registrar su paso a través de entornos controlados [46]. Sin embargo, no existe ninguna evidencia científica del SARS-CoV-2 antes de diciembre de 2019 [47,48]. Tercero, ¿cuál es la fuente natural del SARS-CoV-2? El análisis filogenómico más completo del coronavirus [49] (figura 3b) abordó la evolución fundamental de los HCoV (figura 3c) y mostró que el SARS-CoV-2 resulta a partir de los virus alojados en murciélagos que infectaban a los humanos [50]. El SARS-CoV-2 encuentra su pariente más cercano coronavirus alojados en murciélagos del subgénero Sabercovirus, un subgrupo de coronavirus relacionados con el SARS (SARSr-CoV) identificado por primera vez en murciélagos [51].

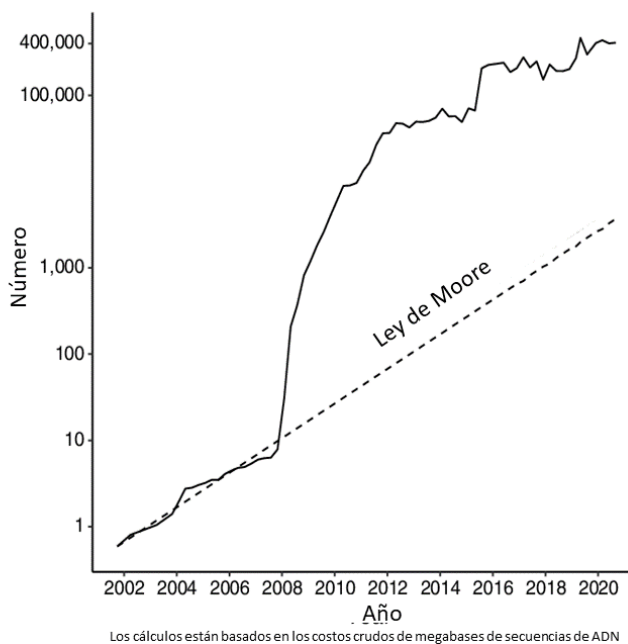
## Figura 2 La creciente viabilidad de secuenciar genomas completos de coronavirus

(a) Costo de secuenciación por megabase sin procesar secuencia de ADN desde septiembre de 2001 hasta agosto de 2020 (fuente de datos: [genoma.gov/sequencingcosts](http://genoma.gov/sequencingcosts), fecha de acceso: septiembre de 2021); (b) Número de genomas completos de coronavirus que se pueden secuenciar con USD 100, suponiendo un tamaño de genoma de 32 Kbp. Estas estimaciones de costos no consideran los costos de muestreo, almacenamiento, consumibles, equipos y personal. Estos gráficos utilizan una escala logarítmica.

(a) Costo de secuenciación por megabase cruda (Mb) de secuencias de ADN desde septiembre de 2001 hasta agosto de 2020



(b) Número de genomas de coronavirus que pueden ser secuenciados con \$100 dólares



Se colectaron virus alojados en murciélagos similares al SARS-CoV-2 en la provincia de Yunnan, a más de 1500 km de Wuhan, pero los huéspedes poseían un amplio rango geográfico [45, 52, 53]. A pesar de una serie confusa de informes que confirman [54-56] y niegan [57] el origen del SARS-CoV-2 a partir de huéspedes pangolín (*Manis javanica*), los pangolines no están involucrados en el linaje del SARS-CoV-2 que infectó a los humanos [49]. Este hallazgo es similar a la aparición del SARS-CoV [9] que también infectó a los humanos a partir del virus alojado en murciélagos sin necesidad de hospederos intermedios, incluyendo las civetas de las palmeras del Himalaya (*Parguma larvata*) y los perros mapaches (*Nyctereutes procyonoides*).

### ¿Estamos secuenciando los genomas del SARS-CoV-2 lo suficientemente rápido?

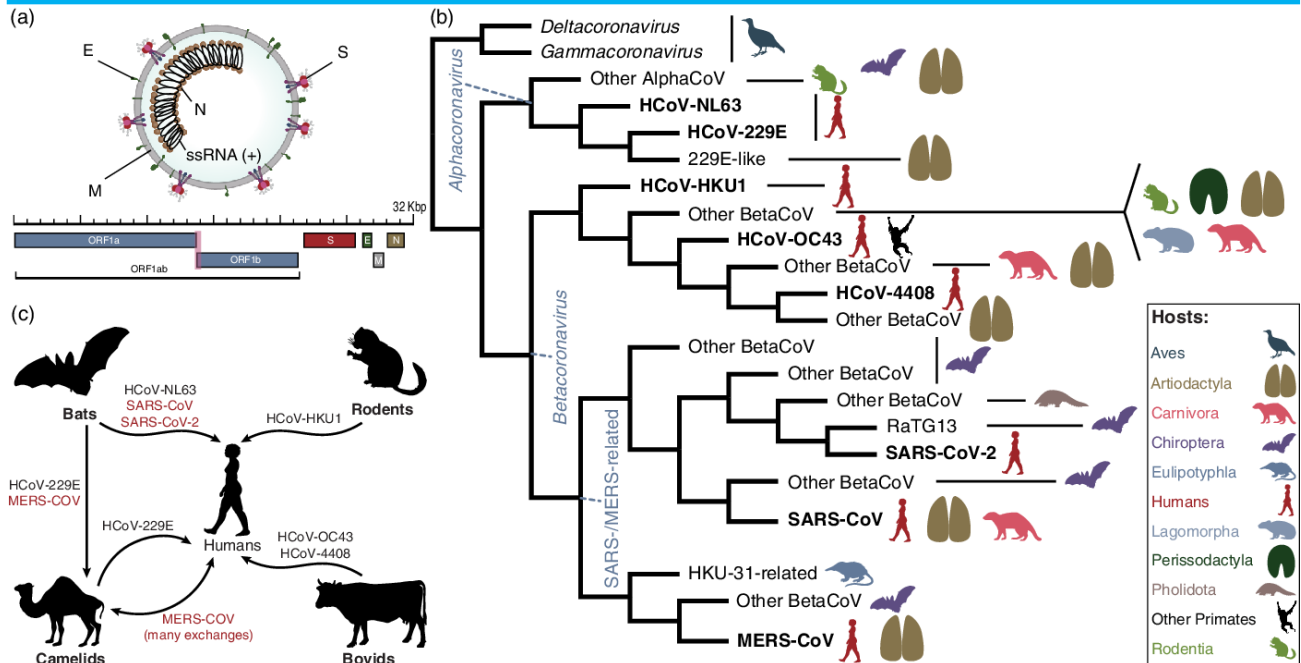
El SARS-CoV-2 se identificó el 7 de enero de 2020. Tres días después, su genoma y metadatos se compartieron a través de la base de datos EpiCoV de

la iniciativa mundial para compartir datos sobre la influenza aviar (GISAID) [58,59] antes de que se publicara el primer artículo revisado por pares en febrero de 2020 [60]. Para poner en contexto la velocidad de secuenciación del genoma del SARS-CoV-2, hay que considerar que el SARS-CoV se informó por vez primera en noviembre de 2002, pero su genoma se hizo público en abril de 2003 [6]. La velocidad a la que se publican dichos datos cambió por varias razones, Janies et al. [16] resumieron las razones que incluyeron una mayor viabilidad de la secuenciación del genoma, la voluntad de compartir datos antes de la publicación y el surgimiento de la gran base de datos GISAID, que acredita a los laboratorios donde se envían las pruebas.

La figura 4 muestra la acumulación de 4.224.785 genomas completos de SARS-CoV-2 en EpiCoV entre el 10 de enero de 2020 y el 13 de octubre de 2021. La curva está lejos de alcanzar una meseta, lo que indica que no estamos produciendo genomas de coronavirus a su máxima capacidad. Los esfuerzos para secuenciar el SARS-CoV-2 siguiendo las pautas internacionales [61,62] son bienvenidos porque estos

**Figura 3 Evolución fundamental de los coronavirus basada en Machado et al. [49]**

(a) Virión y estructura del genoma. Las regiones genómicas indicadas en la figura no representan todos los genes del genoma del coronavirus, sino los genes que comparten los diferentes géneros de Orthocoronavirinae y fueron analizados por Machado et al.49 Nota. E, proteína de membrana pequeña de la envoltura; M, proteína de membrana; N, nucleoproteína; S, glicoproteína de pico. (b) Cladograma resumido de Machado et al.49 El cladograma original contenía 2006 terminales correspondientes a genomas de coronavirus únicos. Los terminales que indican las ocho especies de coronavirus humanos (HCoV) están en negrita. (c) Huéspedes involucrados en la aparición de todos los coronavirus humanos, incluido el SARS-CoV-2. Los HCoV de especial preocupación para la salud humana (SARS-CoV, MERS-CoV y SARS-CoV-2) se muestran en rojo. El diagrama de flujo indica que HCoV-NL63, SARS-CoV y SARS-CoV-2 se originaron a partir de coronavirus alojados en murciélagos. Los murciélagos también fueron clave para la aparición de MERS-CoV en camellos y humanos. HCoV-229E, HCoV-HKU1 y HCoV-OC43 se originaron a partir de virus alojados en artiodáctilos, roedores y bóvidos, respectivamente. Todas las siluetas se descargaron de PhyloPic (<http://phylopic.org>). La estructura de visión del coronavirus se modificó de [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Coronavirus\\_virion\\_structure.svg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Coronavirus_virion_structure.svg).



datos informan los pronósticos epidemiológicos (por ejemplo, la mayor eficiencia de transmisión de las variantes del SARS-CoV-2 ha llevado a proyecciones del aumento de un mayor número de casos [63].

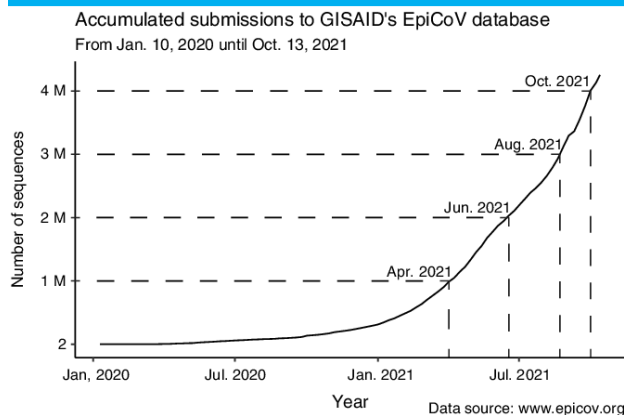
La secuenciación genómica genera una instantánea de un linaje viral en tiempo y espacio. Cuando las secuencias se recopilan longitudinalmente, surgen aplicaciones en epidemiología genómica y respuestas pandémicas, las cuales se ilustran con 4 ejemplos. En primer lugar, el perfilado de huellas dactilares de mutación desde el pangenoma viral hasta cuasi-especies de infección individual permite el rastreo de contactos moleculares [64]. En segundo lugar, la secuenciación genómica informa la huella dactilar de la masa peptídica (PMF) utilizada para predecir nuevas estructuras y encontrar inhibidores de péptidos virales [65], aunque los resultados deben probarse en ensayos aleatorios controlados [66] para identificar antivirales efectivos [67,68]. En tercer

lugar, los datos se utilizan para modelar tamaño y gravedad de una epidemia o pandemia [63]. En cuarto lugar, las secuencias virales son fundamentales para desarrollar vacunas de ARNm [69]. Para una revisión de las dificultades y oportunidades actuales en la aplicación de HTS a los genomas del SARS-CoV-2, se invita a consultar Chiara et al. [70].

A medida que el SARS-CoV-2 se vuelva endémico [71,72], la demanda de secuenciación seguirá siendo alta. Las infecciones por SARS-CoV-2 están disminuyendo a medida que más personas desarrollan inmunidad a través de la infección natural o la vacunación [73]. Sin embargo, las variantes pueden evadir la infección y los anticuerpos inducidos por la vacuna [74], especialmente con infecciones que ocurren meses después de la vacunación (es decir, infecciones intercurrentes) [75,76].

Figura 4 Acumulación progresiva de 4.224.785 secuencias completas del genoma SARS-CoV-2 (>26 Kbp) enviadas a la base de datos GISAID EpiCoV (<https://www.epicov.org/>) entre el 10 de enero de 2020 y el 13 de octubre de 2021.

Estos costos estimados no consideran el muestreo, almacenamiento, consumibles, equipos y personal (ver, por ejemplo, Schwarze et al. [68]). Sin embargo, el precio de la secuenciación de nucleótidos en bruto es un componente significativo del costo de los proyectos del genoma.



Dadas las infecciones progresivas, el aumento de la transmisión de algunas variantes y la falta de vacunación completa entre las personas elegibles, podemos predecir que el SARS-CoV-2 seguirá evolucionando. Si el SARS-CoV-2 está evolucionando hacia fenotipos de COVID-19 más graves o más benignos es una pregunta de investigación apremiante para la epidemiología genómica.

Las contramedidas efectivas dependen de la comprensión de los linajes del SARS-CoV-2, como el muestreo de variantes cuyo fenotipo no se comprende por completo [77] y el abordaje del sesgo de muestreo [78]. Por ejemplo, si restringimos la secuenciación de cepas virales de pacientes hospitalizados, las relaciones entre cualquier variable asociada con la hospitalización, se distorsionará en comparación con la población general. Así, perderíamos mutaciones asociadas a los casos asintomáticos y sintomáticos que no requirieron hospitalización, lo que podría inducir o malinterpretar la evidencia de asociaciones fenotipo-genotipo [79-81].

Brito et al. [82] analizaron la heterogeneidad espaciotemporal en los esfuerzos de vigilancia genómica del SARS-CoV-2 de cada país en función de los metadatos enviados a GISAID hasta el 30 de mayo de 2021. Estos investigadores estimaron que

cuando la prevalencia de una cepa rara era del 2%, se necesitarían secuenciar 300 casos para detectar al menos 1 genoma de esa cepa con un 95% de probabilidad. Por lo tanto, la capacidad de secuenciación debe ser de al menos el 0.5% de los casos por semana cuando la incidencia era >100 casos positivos por cada 100.000 personas.

Brito et al. [82], observaron que países como Dinamarca, que tienen un tiempo de respuesta rápido para la secuenciación, con el procesamiento y el intercambio de datos genómicos del SARS-CoV-2 (<18 días) y una alta tasa de secuenciación (>32%), se observa una mayor diversidad de linajes. Muchas variantes pueden pasarse por alto cuando las tasas de muestreo son bajas. Sin embargo, las disparidades en la riqueza, la inversión en investigación y capacitación, la coordinación y la logística de la cadena de suministro, afectan la capacidad de los países para realizar la vigilancia genómica, especialmente los LMIC. Por lo tanto, se deben realizar esfuerzos para proporcionar fondos, capacitación y apoyo logístico a los investigadores con base en los LMIC para mejorar su capacidad de vigilancia genómica y la toma de decisiones de salud pública.

## ¿Cómo clasificamos las variantes del SARS-CoV-2?

Cualquier secuencia del genoma que sea genéticamente distinta de la referencia puede llamarse variante. En la práctica, las variantes del SARS-CoV-2 representan clados que comparten un conjunto de mutaciones clave y, al mismo tiempo, permiten una pequeña cantidad de otra variación de secuencia [83,84]. Además, la evolución convergente entre variantes geográficamente distantes ha sido observada (ver tabla 1) [85]. Aunque las variantes y las cepas son diferentes, algunos investigadores usan estos términos indistintamente (p. ej., Awadasseid et al. [86]; Hossein et al. [87] y Ul-Rahman et al. [88]). El término “cepa” generalmente se asocia con linajes que se volvieron lo suficientemente divergentes como para exhibir un fenotipo cambiado [89].

A finales del 2020 y a lo largo del 2021, a medida que aumentaba la disponibilidad de vacunas, la información sobre variantes comenzó a dominar la respuesta de COVID-19 [90-92]. La aparición de variantes que podrían representar un mayor riesgo para la salud pública mundial llevó a la OMS a caracterizar variantes específicas de interés (VOI) y

**Tabla 1 Variantes notables del SARS-CoV-2 y sus principales atributos<sup>a</sup>**

Clase SIG	Clase OMS	Etiqueta OMS	Cepas Pango	Cepas CDC	Identificado inicialmente	Mutaciones de picos característicos
VOC	VOC	delta (δ)	AY.1, AY.2, B.1.617.2	AY	India	T19R, K417N, L452R, T478K, P681R, D950N
VBM	VOC	alpha (α)	B.1.1.7 and cepas Q	Q	Reino Unido	HV69-, Y144-, N501Y, A570D, P681H, T716I, S982A, D1118H
VBM	VOC	beta (β)	B.1.351		Suráfrica	D80A, D215G, E484K, N501Y, A701V
VBM	VOC	gamma (γ)	P.1	P.1	Brasil	T20N, P26S, K417T, E484K, N501Y, T1027I
VBM	VOI	mu (μ)	B.1.621 and B.1.621.1		India	T95I, Y145N, R346K, E484K, N501Y, D614G, P681H, D950N
N/A	VOI	lambda (λ)	C.37		Suramérica	G75V, T76I, RSYLTPG246-, L452Q, F490S, D614G, T859N
VBM	VUM	epsilon (ε)	B.1.427 and B.1.429		EEUU	S13I, W152C, L452R, D614G
VBM	VUM	eta (η)	B.1.525		Reino Unido y Nigeria	Q52R, E484K, Q677H, F888L
VBM	VUM	iota (ι)	B.1.526		EEUU	L5F, T95I, D253G, E484K, D614G, A701V, S477N, Q957R
VBM	VUM	kappa (κ)	B.1.617.1		India	L452R, E484Q, P681R
VBM	VUM	zeta (ζ)	P.2		Brasil	E484K
VBM	N/A	N/A	B.1.617.3		India	T19R, L452R, E484Q, P681R, D950N

Nota. SIG, Grupo Interagencial SARS-CoV-2 del gobierno de EE. UU.; VBM, variante en seguimiento; VOC, variante de preocupación; VOI, variante de interés; VUM, variantes en seguimiento; EUA, autorización de uso de emergencia.

<sup>a</sup>Esta tabla fue modificada y actualizada desde el sitio web de la OMS [93], el sitio web de los CDC [94], Rambaut et al. [97] y Soh et al. [167], SIG y las clasificaciones de la OMS, se detallan en la tabla 2.

variantes de preocupación (VOC) para priorizar el monitoreo y la investigación global [93]. El grupo interinstitucional (SIG) del SARS-CoV-2 del gobierno de EEUU desarrolló un esquema de clasificación de variantes por separado [94], el cual se compara con el sistema de la OMS expuesto en la tabla 2. En marzo de 2021, la OMS asignó letras del alfabeto griego para categorizar los VOI y los VOC [93], por simplicidad y para evitar la asociación con localidades particulares. Estas etiquetas no reemplazan las clasificaciones existentes de GISAID (<https://gisaid.org/>) [95], Nextstrain (<https://nexstrain.org/>) [96] y cepas Pango (<https://cov-lineages.org/>) [97]. Las variantes de SARS-CoV-2 fueron revisadas por Harvey et al. [98].

## ¿Por qué las vacunas aún no son suficientes contra el COVID-19?

La velocidad de desarrollo y la prueba de las vacunas COVID-19 es uno de los logros de salud pública más destacados de la historia. La vacunación masiva de individuos elegibles, es la forma mejor y más segura de controlar la pandemia [99]. Aunque algunas variantes del SARS-CoV-2 muestran cierto grado de escape de los anticuerpos protectores inducidos por la infección natural (y, en menor grado, después de la inmunización), las respuestas de las células T se conservan [100].

Además, las vacunas basadas en ARNm de SARS-CoV-2 de primera generación inducen anticuerpos públicos (es decir, anticuerpos con elementos genéticos y modos de reconocimiento similares contra un antígeno diferente observado en múltiples individuos) con una fuerte actividad neutralizante y protectora potencialmente duradera contra variantes como alfa (α), beta (β) y gamma (γ) [101].

Las variantes del SARS-CoV-2 seguirán apareciendo [102], lo que requerirá un estrecho seguimiento internacional para determinar la necesidad de refuerzos o rediseños de la vacunación [102]. A medida que surgen variantes en áreas de baja vacunación, es imperativo implementar la vacunación mundial contra la COVID-19. Desde el lanzamiento de la vacuna, han surgido nuevas preguntas con respecto a la eficacia de la vacuna contra la transmisión de diferentes variantes [100], la duración de la protección [103] y la eficacia de los esquemas de primo-refuerzo [99,104-106]. También ha surgido una demanda de estudios para determinar los correlatos inmunológicos de la protección contra COVID-19 a medida que los casos disminuyen y la prevención de enfermedades graves adquiere más importancia en la eficacia de la vacuna [107]. Mientras tanto, las intervenciones no farmacéuticas para reducir la propagación del SARS-CoV-2 y otros patógenos aún están justificadas [102,108,109].

**Tabla 2 Comparación de las diferentes categorías en el sistema de clasificación de variantes de la OMS [93] con el sistema utilizado por el grupo interinstitucional (SIG) del SARS-CoV-2 del gobierno de EEUU [94]<sup>a</sup>**

Categoría SIG	Atributos Potenciales	Categoría OMS	Definición de Trabajo
VBM	Variantes para las cuales los datos indican un impacto potencial o claro en las contramedidas médicas aprobadas o autorizadas o que están asociadas con una enfermedad más grave o un aumento en la transmisión pero ya no se detectan o circulan a niveles muy bajos en los Estados Unidos, y como tales, no representan un riesgo significativo e inminente para la salud pública en los Estados Unidos	VUM	Una variante del SARS-CoV-2 con cambios genéticos que se sospecha que afectan las características del virus con alguna indicación de que puede representar un riesgo futuro, pero la evidencia del impacto fenotípico o epidemiológico actualmente no está clara, lo que requiere un seguimiento mejorado y una evaluación repetida en espera de nueva evidencia.
VOI	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Marcadores genéticos específicos que se predice que afectarán la transmisión, el diagnóstico de VOI, la terapia o el escape inmunológico.</li> <li>• Evidencia de que es la causa de una mayor proporción de casos o grupos de brotes únicos.</li> <li>• Prevalencia limitada o expansión en los Estados Unidos o en otros países</li> </ul>	VOI	Con cambios genéticos que se predicen o se sabe que afectan las características del virus, como la transmisibilidad, la gravedad de la enfermedad, el escape inmunitario, el escape diagnóstico o terapéutico se identifica que causan una transmisión comunitaria significativa o múltiples grupos de COVID-19, en múltiples países con una prevalencia relativa creciente junto con un número creciente de casos a lo largo del tiempo u otros impactos epidemiológicos aparentes que sugieran un riesgo emergente para la salud pública mundial
VOC	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Evidencia de impacto en diagnósticos, tratamientos o vacunas.</li> <li>• Evidencia de transmisibilidad aumentada.</li> <li>• Evidencia de aumento de la gravedad de la enfermedad.</li> <li>• Evidencia de transmisibilidad aumentada.</li> <li>• Evidencia de aumento de la gravedad de la enfermedad.</li> </ul>	VOC	Aumento de la transmisibilidad o cambio perjudicial en la epidemiología de COVID-19 O aumento de la virulencia o cambio en la presentación clínica de la enfermedad O disminución de la eficacia de las medidas sociales y de salud pública o los diagnósticos, vacunas y tratamientos disponibles.
VOHC	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Impacto en las contramedidas médicas (MCM).</li> <li>• Fallo demostrado de los objetivos de las pruebas de diagnóstico.</li> <li>• Evidencia que sugiere una reducción significativa en la efectividad de la vacuna, un número desproporcionadamente alto de infecciones en personas vacunadas o una protección muy baja inducida por la vacuna contra enfermedades graves.</li> <li>• Susceptibilidad significativamente reducida a múltiples EUA o tratamientos aprobados.</li> <li>• Enfermedad clínica más grave y aumento de las hospitalizaciones.</li> </ul>	-----	Ninguna categoría OMS equivalente

Nota. VBM, variante en seguimiento; VOC, variante de preocupación; VOI, variante de interés; VUM, variantes en seguimiento; VOHC, variante de alta consecuencia; EUA, autorización de uso de emergencia.

<sup>a</sup>Actualmente, los CDC y SIG no clasifican ninguna variante como VOI o VOHC.

## ¿Cómo podemos reducir la brecha de conocimiento entre el origen y la transmisión de la enfermedad?

La epidemiología genómica puede ser una herramienta para estudiar las enfermedades infecciosas emergentes (EIE) en humanos, pero su

eficacia es máxima cuando tiene en cuenta los componentes animal y ambiental. En el caso de las zoonosis, existe una brecha de conocimiento entre los componentes animal y humano de la investigación de las EIE y la iniciativa One Health espera subsanar esta brecha. Aunque la mayoría de los investigadores en salud humana sólo empezaron a centrarse en los coronavirus desde la aparición del



SARS-CoV-2, los veterinarios, virólogos y zóoólogos han estado investigando los coronavirus animales mucho antes de la epidemia de COVID-19 [110]. La iniciativa One Health propone situar estos ámbitos de investigación (en humanos y animales) en el mismo contexto medioambiental. Los siguientes pasos en la ciencia de la prevención de pandemias son comprender los factores que crean oportunidades para la zoonosis [111,112], como la entrada en hábitats infecciosos como las cuevas de murciélagos y el uso de animales salvajes como alimento y medicina [113-117].

La secuenciación en profundidad de los microbiomas y viromas de archivos de biorrepositorios de animales supuestamente hospederos de gran profundidad taxonómica, geográfica y temporal, servirá de base para nuevos enfoques de la zoonosis, la evaluación de riesgos y la mitigación de amenazas [118-120]. Por lo tanto, otro paso hacia la promoción del enfoque “One Health” es aprovechar los biorrepositorios en la investigación biomédica. Aunque la iniciativa “Global Museum” ya ofrece una vía de integración internacional entre los biorrepositorios de los museos en una red descentralizada y geográficamente dispersa [121], el vínculo con la investigación de la EIE aún no se ha materializado del todo.

La reciente creación de la red de Museos y Patógenos Emergentes de las Américas (MPEA) es vital para vincular los biorrepositorios y la investigación de las EIE [122]. El objetivo general de la MPEA es aprovechar los biorrepositorios de los museos en un sistema de vigilancia de patógenos global y descentralizado mediante la ampliación de la infraestructura de biodiversidad y la apertura de canales de comunicación que fomenten la colaboración entre los biorrepositorios y las comunidades biomédicas. La necesidad de este enfoque basado en el hospedero para la epidemiología genómica se hace evidente por la naturaleza transmisible del SARS-CoV-2 [123], el cual tiene el potencial de infectar a una serie de hospederos, incluyendo tigres [124-126], visones [127,128], gatos domésticos [129-131], hurones [132-134], perros mapaches [135], macacos cynomolgus y rhesus [135-137], conejos [138], murciélagos frugívoros egipcios [138,139], hámsters sirios [140], y ciervos de cola blanca [141-143].

## ¿Cómo podemos rastrear más rápidamente las variantes del SARS-CoV-2?

Las vacunas siguen siendo eficaces en la prevención de resultados graves contra todas las variantes de SARS-CoV-2 [100], que están causando estragos entre las personas no vacunadas [144,145]. Sin embargo, la probabilidad de nuevas mutaciones aumenta a medida que aumentan los casos, lo que posiblemente conduce a una mayor transmisión, escape inmunológico o aumento de la patogenicidad. Este proceso ha dado lugar a variantes más transmisibles [146,147].

Los investigadores se enfrentan a 2 retos principales para seguir el ritmo de las variantes del SRAS-CoV-2: utilizar los recursos a su capacidad óptima y reducir las barreras a la tecnología y la formación en epidemiología genómica en todo el mundo. Por un lado, los países con una alta tasa de positividad, como la India, no están secuenciando los aislados a plena capacidad [148]. Estados Unidos es un ejemplo aún más extremo porque ha ocupado un lugar bajo en la secuenciación del SRAS-CoV-2 a pesar de su capacidad y experiencia [149,150]. Por otro lado, países como Sudáfrica tienen laboratorios de secuenciación que luchan contra la escasez de reactivos y la escasez de científicos formados [151].

A pesar del aumento de la viabilidad de la secuenciación, siguen siendo necesarios esfuerzos mundiales para reforzar la capacidad de secuenciación de patógenos a fin de responder a los retos técnicos, logísticos y financieros en entornos con recursos limitados. Además, los buenos resultados de la secuenciación del SRAS-CoV-2 en algunos PIBM (por ejemplo, la República Democrática del Congo, Brasil, Senegal y Tailandia) fomentan aún más la colaboración internacional y nacional entre las autoridades de salud pública, los centros sanitarios, el mundo académico y la industria [149].

Otros retos son la manipulación coherente de las cepas, así como la conservación y el depósito de metadatos y datos de secuencias de forma que facilite la combinación de conjuntos de datos procedentes de distintos laboratorios. Estos retos requieren esfuerzos coordinados [152] y normas de datos [153] para garantizar un acceso rápido a grandes volúmenes de datos moleculares brutos y procesados

a escalas sin precedentes [70]. También necesitamos abordar los cuellos de botella de la bioinformática para responder más rápidamente a la amenaza de las enfermedades emergentes y gestionar la acelerada producción de información genómica. La mayoría de las herramientas proceden del arsenal de la biología evolutiva para estudiar los linajes de taxones superiores con enfoques ejemplares [154]. Aunque estas herramientas no se diseñaron para gestionar grandes volúmenes de datos procedentes de patógenos en rápida evolución [154], algunas ya han empezado a responder a estas demandas. Por ejemplo, la colocación ultrarrápida de muestras en árboles existentes (USHER) permite la rápida colocación de nuevos genomas en un árbol de referencia utilizando el criterio de optimalidad de parsimonia [155]. Así pues, dado que los principios filogenéticos sustentan la forma en que vemos los cambios genéticos a través del tiempo, la iniciativa One Health, también incluirá el intercambio de conocimientos entre biólogos evolutivos y epidemiólogos.

Los árboles filogenéticos son difíciles de calcular e interpretar. La necesidad de consultar a filogenetistas profesionales queda patente en el número de trabajos destacados que no se ajustaron a las normas de la filogenética y no lograron identificar a los hospedadores fundamentales de los coronavirus [156]. Además, un buen análisis filogenético requiere muchos elementos: elección cuidadosa de los taxones, secuencias y/o datos fenotípicos recopilados; método y control de calidad de los datos de secuencias y alineamiento; evaluación de los modelos de sustitución e indel; tratamiento de las particiones; protocolo de búsqueda en árbol; medidas de ajuste o confianza y estrategias para la codificación y optimización de caracteres [49,156,157]. Además, los resultados pueden variar con la parametrización [158]. Éstas son sólo algunas de las difíciles decisiones que van más allá del nivel de sofisticación de cualquier manual de software y sistema automatizado [156,159].

### ¿Son siempre necesarios los árboles asignados a los globos terráqueos?

En muchos casos, como la propagación inicial de la gripe H5N1, los árboles y los *supramaps* resultaron muy útiles para comprender la propagación geográfica del patógeno, sus múltiples patrones de

zoonosis distintos desde el punto de vista geográfico y de las mutaciones [10] y la resistencia a los fármacos [14]. Sin embargo, debido a la oclusión, los *supramaps* no resultaron adecuados para la visualización de enfermedades cosmopolitas, como las cepas de Salmonella (p. ej., Hoffman et al. [3]), la gripe estacional (p. ej., H3N2), la influenza pandémica (H1N1-2009) [16] y el SARS-CoV-2. En respuesta, los investigadores han trabajado en herramientas alternativas de visualización, incluyendo mapas de puntos y mapas de rutas [13,160] y finalmente, lograron superar la necesidad de mapear árboles a globos con base en *strainhub* [161].

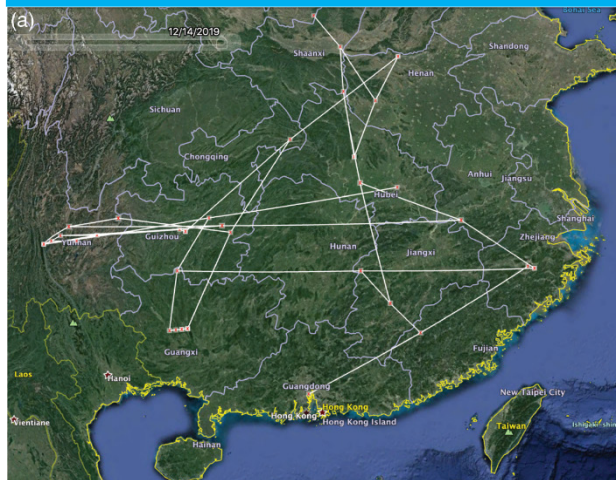
A diferencia de *supramap*, *strainhub* es menos exigente desde el punto de vista computacional. Puede ejecutarse desde un navegador web; no depende de ningún software de código cerrado (Google Earth), y los datos geográficos son opcionales (figura 5). Además, *strainhub* puede utilizarse para probar hipótesis sobre la importancia relativa de los hospederos o lugares en la propagación de enfermedades. Los futuros esfuerzos de *strainhub* se centrarán en la facilidad de uso, la interoperabilidad, la claridad visual y la cuantificación de la importancia relativa de los hospederos o lugares en la propagación de enfermedades para comprender mejor la zoonosis.

### ¿Cómo nos preparamos para la próxima pandemia?

La pandemia de COVID-19 ha ilustrado lo poco preparada que está nuestra sociedad global interconectada para las enfermedades zoonóticas. Para la próxima pandemia, dos fronteras de investigación son interesantes para la epidemiología genómica como herramienta para estudiar los microbios con potencial pandémico para predecir, prevenir o responder más rápidamente a la aparición de nuevas enfermedades. En primer lugar, debemos estudiar la diversidad natural de coronavirus y otros microbios con potencial pandémico presentes en los animales [120]. En segundo lugar, debemos desarrollar la ciencia de la prevención de pandemias pasando del seguimiento de las pandemias que se están produciendo a la predicción de brotes. Por ejemplo, la combinación de la inteligencia artificial con la epidemiología genómica puede conducir a la construcción de un "pronóstico viral" para informar las decisiones sobre los virus con potencial

patémico [162] y patógenos subyacentes a las zoonosis [163].

Figura 5 Comparación entre las visualizaciones de *supramap* y *strainhub*. (a) Visualización filogenética *Supramap* de coronavirus hospedados por murciélagos y pangolines que comparten ascendencia reciente (2005-2019) con el SARS-CoV-2 hospedado por humanos. Los datos subyacentes son secuencias genómicas y metadatos temporales y geográficos. (b) Visualización en *strainhub* de los mismos datos más los metadatos del hospedador en una red utilizando un espacio arbitrario. Los colores de las flechas corresponden a diferentes tipos de transmisión (rojo = murciélago a humano, verde = murciélago a murciélago, amarillo = murciélago a pangolín). El tamaño del círculo representa la relación fuente-hub (SHR). El SHR es el número de transiciones originadas en un nodo como fracción del número total de transiciones relacionadas con ese nodo. Un nodo con un SHR cercano a 1 indica una fuente (por ejemplo, Hubei, Yunnan y Zhejiang), un SHR cercano a 0,5 un centro y un SHR cercano a 0 un sumidero para el patógeno. El grosor de la línea representa una mayor frecuencia de transmisión viral (por ejemplo, de Hubei a Zhejiang).



## Conclusiones

La pandemia de COVID-19, mientras continúa, ha causado 4.863.818 muertes en todo el mundo hasta el 14 de octubre de 2021 [164] y ha superado la cifra de muertes en EE.UU. de la pandemia H1N1 de

1918-1919, que fue de ~675,000. A medida que el SARS-CoV-2 se hace endémico, debemos recordar que no es tan letal como otros patógenos como la gripe H5N1 o el virus Nipah. En sus últimos 100 años de existencia, la viruela mató a 300 millones de personas y la Variola mayor (la variante principal de la viruela) mató al 30% de estos pacientes [165].

Un nuevo patógeno con una mortalidad del 30% que infectara al 50% de la población estadounidense (166.7 millones) habría provocado 50 millones de muertes. El MERS-CoV, los henipavirus y los hantavirus tienen una alta mortalidad (>30%) y virulencia y no disponen de vacunas o antivirales aprobados. El brote de Nipah de 2018 tuvo una tasa de letalidad del 91% y se cobró 21 vidas [166]. Debemos prestar atención a la advertencia de que patógenos con fenotipos de enfermedad más graves que el SARS-CoV-2 podrían dar lugar a una pandemia mucho más devastadora.

## Agradecimientos

Agradecemos el apoyo de las siguientes unidades de la Universidad de Carolina del Norte en Charlotte: el College of Computing and Informatics, el Bioinformatics Research Center, el Ribarsky Center for Visual Analytics, el Department of Bioinformatics and Genomics, Research and Economic Development, Academic Affairs y University Research Computing. También agradecemos el apoyo del Campus de Investigación de Carolina del Norte y de la familia Belk. R.A. White III cuenta con el apoyo de un paquete inicial de la UNC Charlotte. D.J.M. agradece a Thiago José Jacob Carnevali, su ejemplo e inspiración.

## Consentimiento para publicación

Los autores leyeron y aprobaron la versión final del manuscrito.

## Conflictos de interés

Los autores declaran no poseer ningún tipo de conflicto de interés. Este documento solo refleja sus puntos de vista y no de las instituciones a las cuales pertenecen.

## Referencias

- [1] Janies DA. Phylogenetic concepts and tools applied to epidemiologic investigations of infectious diseases. *Microbiol Spectr* 2019;7. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.AME-0006-2018>
- [2] Janies DA, Pomeroy LW, Aaronson JM, et al. Analysis and visualization of H7 influenza using genomic, evolutionary and geographic information in a modular web service. *Cladistics* 2012;28:483–488. <https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.2012.00401.x>
- [3] Hoffmann M, Luo Y, Monday SR, et al. Tracing origins of the *Salmonella* Bareilly strain causing a foodborne outbreak in the United States. *J Infect Dis* 2016;213:502–508. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiv297>
- [4] Ezeoke I, Galac MR, Lin Y, et al. Tracking a serial killer: integrating phylogenetic relationships, epidemiology, and geography for two invasive meningococcal disease outbreaks. *PLoS One* 2018;13:e0202615. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202615>
- [5] Allard MW, Strain E, Melka D, et al. Practical value of food pathogen traceability through building a whole-genome sequencing network and database. *J Clin Microbiol* 2016;54: 1975–1983. <https://doi.org/10.1128/JCM.00081-16>
- [6] Marra MA, Jones SJM, Astell CR, et al. The genome sequence of the SARS-associated coronavirus. *Science* 2003;300:1399–1404. <https://doi.org/10.1126/science.1085953>
- [7] Rota PA, Oberste MS, Monroe SS, et al. Characterization of a novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *Science* 2003;300:1394–1399. <https://doi.org/10.1126/science.1085952>
- [8] Boulos MNK. Descriptive review of geographic mapping of severe acute respiratory syndrome (SARS) on the Internet. *Int J Health Geogr* 2004;3:2. <https://doi.org/10.1186/1476-072X-3-2>
- [9] Janies DA, Habib F, Alexandrov B, Hill A, Pol D. Evolution of genomes, host shifts and the geographic spread of SARS-CoV and related coronaviruses. *Cladistics* 2008;24:111–130. <https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.2008.00199.x>
- [10] Janies DA, Hill AW, Guralnick R, Habib F, Waltari E, Wheeler WC. Genomic analysis and geographic visualization of the spread of avian influenza (H5N1). *Syst Biol* 2007;56:321–329. <https://doi.org/10.1080/10635150701266848>
- [11] Janies DA, Treseder T, Alexandrov B, et al. The Supramap project: linking pathogen genomes with geography to fight emergent infectious diseases. *Cladistics* 2011;27:61–66. <https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.2010.00314.x>
- [12] Studer J, Janies DA. Global spread and evolution of viral haemorrhagic septicaemia virus. *J Fish Dis* 2011;34:741–747. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2011.01290.x>
- [13] Janies DA, Voronkin IO, Studer J, et al. Selection for resistance to oselta-mivir in seasonal and pandemic H1N1 influenza and widespread co-circulation of the lineages. *Int J Health Geogr* 2010;9:13. <https://doi.org/10.1186/1476-072X-9-13>
- [14] Hill AW, Guralnick RP, Wilson MJC, Habib F, Janies D. Evolution of drug resistance in multiple distinct lineages of H5N1 avian influenza. *Infect Genet Evol* 2009;9:169–178. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2008.10.006>
- [15] Janies DA. Local challenges of global proportions: evaluating role, preparedness for, and surveillance for pandemic influenza: Hearing before the committee on homeland security and government affairs, United States senate, 111 Sess. (2007). US government website. <https://www.govinfo.gov/content/pkg/CHRG-110shrg38846/html/CHRG-110shrg38846.htm>
- [16] Janies DA, Voronkin IO, Das M, Hardman J, Treseder TW, Studer J. Genome informatics of influenza A: from data sharing to shared analytical capabilities. *Anim Health Res Rev* 2010;11:73–79. <https://doi.org/10.1017/S1466252310000083>
- [17] Ruan YJ, Wei CL, Ee AL, et al. Comparative full-length genome sequence analysis of 14 SARS coronavirus isolates and common mutations associated with putative origins of infection. *Lancet* 2003;361:1779–1785. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(03\)13414-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(03)13414-2)
- [18] Zhao G-P. SARS molecular epidemiology: a Chinese fairy tale of control—ling an emerging zoonotic disease in the genomics era. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2007;362:1063–1081. <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.2034>
- [19] Reuter JA, Spacek DV, Snyder MP. High-throughput sequencing technologies. *Mol Cell* 2015;58:586–597. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.05.004>
- [20] Pérez-Losada M, Arenas M, Galán JC, et al. High-throughput sequencing (HTS) for the analysis of viral populations. *Infect Genet Evol* 2020;80:104208. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104208>
- [21] National Human Genome Research Institute. *The Cost of Sequencing a Human Genome, 2021*. <https://www.genome.gov/about-genomics/fact-sheets/Sequencing-Human-Genome-cost>
- [22] Woo PCY, Lau SKP, Lam CSF, et al. Discovery of a novel bottlenose dolphin coronavirus reveals a distinct species of marine mammal coronavirus in gamma coronavirus. *J Virol* 2014;88:1318–1331. <https://doi.org/10.1128/JVI.02351-13>
- [23] Durães-Carvalho R, Caserta LC, Barnabé ACS, et al. Coronaviruses detected in Brazilian wild birds reveal close evolutionary relationships with beta- and deltacoronaviruses isolated from mammals. *J Mol Evol* 2015;81:21–23. <https://doi.org/10.1007/s00239-015-9693-9>
- [24] Woo PCY, Lau SKP, Lam CSF, et al. Discovery of seven novel mammalian and avian coronaviruses in the genus deltacoronavirus supports bat coronaviruses as the gene source of alphacoronavirus and betacoronavirus and avian coronaviruses as the gene source of gammacoronavirus and delta-coronavirus. *J Virol* 2012;86:3995–4008. <https://doi.org/10.1128/JVI.06540-11>
- [25] Woo PCY, Huang Y, Lau SKP, Yuen K-Y. Coronavirus genomics and bio-informatics analysis. *Viruses*. 2010;2:1804–1820. <https://doi.org/10.3390/v2081803>
- [26] Irigoyen N, Firth AE, Jones JD, Chung BY-W, Siddell SG, Brierley I. High-resolution analysis of coronavirus gene expression by RNA sequencing and ribosome profiling. *PLoS Pathog* 2016;12:e1005473. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005473>
- [27] ViralZone. Coronavirinae; 2021. [https://viralzone.expasy.org/785?outline=all\\_by\\_species](https://viralzone.expasy.org/785?outline=all_by_species)
- [28] Li BX, Ge JW, Li YJ. Porcine aminopeptidase N is a functional receptor for the PEDV coronavirus. *Virology*. 2007;365:166–172. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2007.03.031>
- [29] Boileau MJ, Kapil S. Bovine coronavirus associated syndromes. *Vet Clin N Am Food Anim Pract* 2010;26:123–146. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2009.10.003>
- [30] Mandelik R, Sarvas M, Jackova A, Salamonova S, Novotny J, Vilcek S. First outbreak with chimeric swine enteric coronavirus (SeCoV) on pig farms in Slovakia—lessons to learn. *Acta Vet Hung* 2018;66:488–492. <https://doi.org/10.1556/004.2018.043>

- [31] Su S, Wong G, Shi W, Liu J, Lai ACK, Zhou J, et al. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. *Trends Microbiol* 2016;24:490–502. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.03.003>
- [32] Lai MMC, Cavanagh D. The molecular biology of coronaviruses. In *Advances in Virus Research*. New York: Elsevier; 1997: 1–100. [https://doi.org/10.1016/S0065-3527\(08\)60286-9](https://doi.org/10.1016/S0065-3527(08)60286-9)
- [33] Centers for Disease Control and Prevention. Human coronavirus types; 2021, March 17. <https://www.cdc.gov/coronavirus/types.html>.
- [34] Zhang XM, Herbst W, Kousoulas KG, Storz J. Biological and genetic characterization of a hemagglutinating coronavirus isolated from a diarrhoeic child. *J Med Virol* 1994;44:152–161. <https://doi.org/10.1002/jmv.1890440207>
- [35] Zhong NS, Zheng BJ, Li YM, et al. Epidemiology and cause of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangdong, People's Republic of China, in February 2003. *Lancet* 2003;362:1353–1358. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)14630-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)14630-2)
- [36] Ksiazek TG, Erdman D, Goldsmith CS, et al. A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med* 2003;348:1953–1966. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa030781>
- [37] Zumla A, Hui DS, Perlman S. Middle East respiratory syndrome. *Lancet* 2015;386:995–1007. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)60454-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)60454-8)
- [38] World Health Organization. World Health Organization director-general's opening remarks at the media briefing on COVID-19. <https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19-11-march-2020>.
- [39] Pekar J, Worobey M, Moshiri N, Scheffler K, Wertheim JO. Timing the SARS-CoV-2 index case in Hubei province. *Science* 2021;372:412–417. <https://doi.org/10.1126/science.abbf8003>
- [40] Coronavirus (COVID-19) dashboard. World Health Organization. <https://covid19.who.int>.
- [41] Yuen K-S, Ye Z-W, Fung S-Y, Chan C-P, Jin D-Y. SARS-CoV-2 and COVID-19: the most important research questions. *Cell Biosci* 2020;10:40. <https://doi.org/10.1186/s13578-020-00404-4>
- [42] Andersen KG, Rambaut A, Lipkin WI, Holmes EC, Garry RF. The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nat Med* 2020;26:450–452. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0820-9>
- [43] Liu S-L, Saif LJ, Weiss SR, Su L. No credible evidence supporting claims of the laboratory engineering of SARS-CoV-2. *Emerg Microbes Infect* 2020;9:505–507. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1733440>
- [44] Holmes EC, Goldstein SA, Rasmussen AL, et al. The origins of SARS-CoV-2: a critical review. *Cell* 2021, 184(19):4848–4856. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.08.017>
- [45] Wang N, Li S-Y, Yang X-L, et al. Serological evidence of bat SARS-related coronavirus infection in humans, China. *Virol Sin* 2018;33:104–107. <https://doi.org/10.1007/s12250-018-0012-7>
- [46] Zhang X, Hasoksuz M, Spiro D, et al. Quasi-species of bovine enteric and respiratory coronaviruses based on complete genome sequences and genetic changes after tissue culture adaptation. *Virol Sin* 2007;363:1–10. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2007.03.018>
- [47] Rasmussen AL. On the origins of SARS-CoV-2. *Nat Med*, 27,9 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41591-020-01205-5>
- [48] Shi Z-L. Origins of SARS-CoV-2: focusing on science. *Infect Dis Immun* 2021;1:3–4. <https://doi.org/10.1097/ID9.000000000000008>
- [49] Machado DJ, Scott R, Guirales S, Janies DA. Fundamental evolution of all including three deadly lineages descendent from Chiroptera-hosted coronaviruses: SARS-CoV, MERS-CoV, and SARS-CoV-2. *Cladistics* 2021, 27(5), 461–488. <https://doi.org/10.1111/cla.12454>
- [50] Zhao S, Zhuang Z, Cao P, et al. Quantifying the association between domestic travel and the exportation of novel coronavirus (2019-nCoV) cases from Wuhan, China in 2020: a correlational analysis. *J Travel Med* 2020;27. <https://doi.org/10.1093/jtm/taaa022>
- [51] Li W, Shi Z, Yu M, et al. Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses. *Science* 2005;310:676–679. <https://doi.org/10.1126/science.1118391>
- [52] Lytras S, Hughes J, Martin D, et al. Exploring the natural origins of SARS-CoV-2 in the light of recombination. *bioRxiv* 2021. <https://doi.org/10.1101/2021.01.22.427830>
- [53] Lytras S, Xia W, Hughes J, Jiang X, Robertson DL. The animal origin of SARS-CoV-2. *Science* 2021;373:968–970. <https://doi.org/10.1126/science.abb0117>
- [54] Lam TT-Y, Jia N, Zhang Y-W, et al. Identifying SARS-CoV-2-related coronaviruses in Malayan pangolins. *Nature* 2020;583:282–285. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2169-0>
- [55] Xiao K, Zhai J, Feng Y, et al. Isolation of SARS-CoV-2-related coronavirus from Malayan pangolins. *Nature* 2020;583:286–289. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2313-x>
- [56] Zhang T, Wu Q, Zhang Z. Probable pangolin origin of SARS-CoV-2 associated with the COVID-19 outbreak. *Curr Biol* 2020;30:1346–1351.e2. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.03.022>
- [57] Liu P, Jiang J-Z, Wan X-F, et al. Are pangolins the intermediate host of the 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2)? *PLoS Pathog* 2020;16:e1008421. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008421>
- [58] GISAID—Initiative. Global Initiative on Sharing All Influenza Data website. <https://www.gisaid.org>
- [59] GISAID—Initiative. EpiCov website. <https://www.epicov.org/>
- [60] Wu F, Zhao S, Yu B, et al. Author correction: a new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature* 2020;580:E7. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2008-3>
- [61] European Centre for Disease Control and Prevention. *Sequencing of SARS-CoV-2*. <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/sequencing-of-SARS-CoV-2.pdf>
- [62] World Health Organization. Genomic sequencing of SARS-CoV-2: a guide to implementation for maximum impact on public health. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240018440>
- [63] Truelove S, Smith CP, Qin M, et al. Projected resurgence of COVID-19 in the United States in July–December 2021 resulting from the increased transmissibility of the Delta variant and faltering vaccination. *medRxiv* 2021. <https://doi.org/10.1101/2021.08.28.21262748>
- [64] Lau BT, Pavlichin D, Hooker AC, et al. Profiling SARS-CoV-2 mutation fingerprints that range from the viral pangenome to individual infection quasispecies. *Genome Med* 2021;13:62. <https://doi.org/10.1186/s13073-021-00882-2>
- [65] Hamza M, Ali A, Khan S, et al. nCoV-19 peptides mass fingerprinting identification, binding, and blocking of inhibitors

- flavonoids and anthraquinone of and hydroxychloroquine. *J Biomol Struct Dyn* 2021;39:4089–4099. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1778534>
- [66] Hariton E, Locascio JJ. Randomised controlled trials—the gold standard for effectiveness research: Study design: randomised controlled trials. *BJOG* 2018;125:1716. <https://doi.org/10.1111/1471-0528.15199>
- [67] Boulware DR, Pullen MF, Bangdiwala AS, et al. A randomized trial of hydroxychloroquine as postexposure prophylaxis for COVID-19. *N Engl J Med*. 2020;383:517–525. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2016638>
- [68] Siemieniuk RA, Bartoszko JJ, Ge L, et al. Drug treatments for COVID-19: living systematic review and network meta-analysis. *BMJ* 2020;370: m2980. <https://doi.org/10.1136/bmj.m2980>
- [69] National Human Genome Research Institute. COVID-19 mRNA vaccine production. <https://www.genome.gov/about-genomics/fact-sheets/COVID-19-mRNA-Vaccine-Production>
- [70] Chiara M, D'Erchia AM, Gissi C, et al. Next-generation sequencing of SARS-CoV-2 genomes: challenges, applications and opportunities. *BriefBioinform* 2021;22:616–630. <https://doi.org/10.1093/bib/bbaa297>
- [71] Shaman J, Galanti M. Will SARS-CoV-2 become endemic? *Science* 2020;370:527–529. <https://doi.org/10.1126/science.abe5960>
- [72] Nakanishi N, Yoshio I. The novel coronavirus pandemic and the state of the epidemic in Kobe, Japan. *J Disaster Res* 2021;16:84–87. [https://www.fujipress.jp/main/wp-content/themes/Fujipress/pdf\\_subscribed.php](https://www.fujipress.jp/main/wp-content/themes/Fujipress/pdf_subscribed.php)
- [73] Phillips N. The coronavirus is here to stay—here's what that means. *Nature* 2021;590:382–384. <https://doi.org/10.1038/d41586-021-00396-2>
- [74] Zhou D, Dejnirattisai W, Supasa P, et al. Evidence of escape of SARS-CoV-2 variant B.1.351 from natural and vaccine-induced sera. *Cell* 2021;184:2348–2361.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.02.037>
- [75] Kustin T, Harel N, Finkel U, et al. Evidence for increased breakthrough rates of SARS-CoV-2 variants of concern in BNT162b2-mRNA-vaccinated individuals. *Nat Med* 2021;27:1379–1384. <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01413-7>
- [76] Farinholt T, Doddapaneni H, Qin X, et al. Transmission event of SARS-CoV-2 delta variant reveals multiple vaccine breakthrough infections. *BMC Med* 2021;19:255. <https://doi.org/10.1186/s12916-021-02103-4>
- [77] Giovanetti M, Benedetti F, Campisi G, et al. Evolution patterns of SARS-CoV-2: snapshot on its genome variants. *Biochem Biophys Res Commun* 2021;538:88–91. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.10.102>
- [78] To KK-W, Sridhar S, Chiu KH-Y, et al. Lessons learned 1 year after SARS-CoV-2 emergence leading to COVID-19 pandemic. *Emerg Microbes Infect* 2021;10:507–535. <https://doi.org/10.1080/22221751.2021.1898291>
- [79] Munafò MR, Tilling K, Taylor AE, Evans DM, Davey Smith G. Collider scope: when selection bias can substantially influence observed associations. *Int J Epidemiol* 2018;47:226–235. <https://doi.org/10.1093/ije/dyx206>
- [80] Hernán MA. Invited commentary: selection bias without colliders. *Am J Epidemiol* 2017;185:1048–1050. <https://doi.org/10.1093/aje/kwx077>
- [81] Tattan-Birch H, Marsden J, West R, Gage SH. Assessing and addressing collider bias in addiction research: the curious case of smoking and COVID-19. *Addiction* 2021;116:982–984. <https://doi.org/10.1111/add.15348>
- [82] Brito AF, Semenova E, Dudas G, et al. Global disparities in SARS-CoV-2 genomic surveillance. medRxiv 2021. <https://doi.org/10.1101/2021.08.21.21262393>
- [83] Lauring AS, Hodcroft EB. Genetic variants of SARS-CoV-2—what do they mean? *JAMA* 2021;325:529–531. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.27124>
- [84] Tegally H, Wilkinson E, Giovanetti M, et al. Emergence and rapid spread of a new severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 (SARS-CoV-2) lineage with multiple spike mutations in South Africa. medRxiv 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.12.21.20248640>
- [85] Ford CT, Scott R, Machado DJ, Janies D. Sequencing data of North American SARS-CoV-2 isolates shows widespread complex variants. medRxiv 2021. <https://doi.org/10.1101/2021.01.27.21250648>
- [86] Awadasseid A, Wu Y, Tanaka Y, Zhang W. Current advances in the development of SARS-CoV-2 vaccines. *Int J Biol Sci* 2021;17:8–19. <https://doi.org/10.7150/ijbs.52569>
- [87] Hossain MK, Hassanzadeganroudsari M, Apostolopoulos V. The emergence of new strains of SARS-CoV-2. What does it mean for COVID-19 vaccines? *Expert Rev Vaccines* 2021;20:635–638. <https://doi.org/10.1080/14760584.2021.1915140>
- [88] Ul-Rahman A, Shabbir MAB, Aziz MW, et al. A comparative phylogenomic analysis of SARS-CoV-2 strains reported from non-human mammalian species and environmental samples. *Mol Biol Rep* 2020;47: 9207–9217. <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05879-5>
- [89] Kuhn JH, Bao Y, Bavari S, et al. Virus nomenclature below the species level: a standardized nomenclature for natural variants of viruses assigned to the family *Filoviridae*. *Arch Virol* 2013;158:301–311. <https://doi.org/10.1007/s00705-012-1454-0>
- [90] Parums D. Editorial: revised World Health Organization (WHO) terminology for variants of concern and variants of interest of SARS-CoV-2. *Med Sci Monit* 2021;27:e933622. <https://doi.org/10.12659/MSM.933622>
- [91] Konings F, Perkins MD, Kuhn JH, et al. SARS-CoV-2 variants of interest and concern naming scheme conducive for global discourse. *Nat Microbiol* 2021;6:821–823. <https://doi.org/10.1038/s41564-021-00932-w>
- [92] 92. Janik E, Niemcewicz M, Podogrocki M, Majsterek I, Bijak M. The emerging concern and interest SARS-CoV-2 variants. *Pathogens* 2021;10. <https://doi.org/10.3390/pathogens10060633>
- [93] Tracking SARS-CoV-2 variants. World Health Organization <https://www.who.int/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants>.
- [94] SARS-CoV-2 variant classifications and definitions. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/variants/variant-info.html>.
- [95] Shu Y, McCauley J. GISAID: Global initiative on sharing all influenza data from vision to reality. *Euro Surveill* 2017;22. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2017.22.13.30494>
- [96] Hadfield J, Megill C, Bell SM, et al. Nextstrain: real-time tracking of pathogen evolution. *Bioinformatics* 2018;34:4121–4123.

<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty407>

[97] Rambaut A, Holmes EC, O'Toole Á, et al. A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology. *Nat Microbiol* 2020;5:1403–1407. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0770-5>

[98] Harvey WT, Carabelli AM, Jackson B, et al. SARS-CoV-2 variants, spike mutations and immune escape. *Nat Rev Microbiol* 2021;19:409–424. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00573-0>

[99] Flanagan KL, MacIntyre CR, McIntyre PB, Nelson MR. SARS-CoV-2 vaccines: where are we now? *J Allergy Clin Immunol Pract* 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2021.07.016>

[100] Cevik M, Grubaugh ND, Iwasaki A, Openshaw P. COVID-19 vaccines: keeping pace with SARS-CoV-2 variants. *Cell* 2021. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.09.010>

[101] Schmitz AJ, Turner JS, Liu Z, et al. A vaccine-induced public antibody protects against SARS-CoV-2 and emerging variants. *Immunity* 2021;54: 2159–2166. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.08.013>

[102] Boehm E, Kronig I, Neher RA, et al. Novel SARS-CoV-2 variants: the pandemics within the pandemic. *Clin Microbiol Infect* 2021;27: 1109–1117. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2021.05.022>

[103] Farooqi T, Malik JA, Mulla AH, et al. An overview of SARS-CoV-2 epidemiology, mutant variants, vaccines, and management strategies. *J Infect Public Health* 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2021.08.014>

[104] Krause PR, Gruber MF. Emergency use authorization of COVID vaccines safety and efficacy follow-up considerations. *N Engl J Med* 2020;383: e107. <https://doi.org/10.1056/NEJMp2031373>

[105] Pascual-Iglesias A, Canton J, Ortega-Prieto AM, Jimenez-Guardenõ JM, Regla-Nava JA. An overview of vaccines against SARS-CoV-2 in the COVID-19 pandemic era. *Pathogens* 2021;10. <https://doi.org/10.3390/pathogens10081030>

[106] Chen Y, Zhu L, Huang W, et al. Potent RBD-specific neutralizing rabbit monoclonal antibodies recognize emerging SARS-CoV-2 variants elicited by DNA prime-protein boost vaccination. *Emerg Microbes Infect* 2021;10: 1390–1403. <https://doi.org/10.1080/22221751.2021.1942227>

[107] Hodgson SH, Mansatta K, Mallett G, Harris V, Emary KRW, Pollard AJ. What defines an efficacious COVID-19 vaccine? A review of the challenges assessing the clinical efficacy of vaccines against SARS-CoV-2. *Lancet Infect Dis* 2021;21:e26–e35. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30773-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30773-8)

[108] Zhao T, Hu C, Ayaz Ahmed M, Cheng C, Chen Y, Sun C. Warnings regarding the potential coronavirus disease 2019 (COVID-19) transmission risk: vaccination is not enough. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2021;2. <https://doi.org/10.1016/j.xinn.2021.100116>

[109] Lanzavecchia S, Beyer KJ, Evina Bolo S. Vaccination is not enough: understanding the increase in cases of COVID-19 in Chile despite a high vaccination rate. *Epidemiologia* 2021;2:377–390. <https://doi.org/10.3390/epidemiologia2030028>

[110] Poudel U, Subedi D, Pantha S, Dhakal S. Animal coronaviruses and coronavirus disease 2019: lesson for One Health approach. *Open Vet J* 2020;10: 239–251. <https://doi.org/10.4314/ovj.v10i3.1>

[111] Semenza JC, Menne B. Climate change and infectious diseases in Europe. *Lancet Infect Dis* 2009;9:365–375. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(09\)70104-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(09)70104-5)

[112] Bartlow AW, Manore C, Xu C, et al. Forecasting zoonotic infectious disease response to climate change: mosquito vectors and a changing environment. *Vet Sci China* 2019;6. <https://doi.org/10.3390/vetsci6020040>

[113] Mersha C, Tewodros F. One Health, one medicine, one world: conjoint of animal and human medicine with perspectives, a review. *Veterinary World* 2012, 5(4), 238–243. <https://doi.org/10.5455/vetworld.2012.238-243>

[114] Sánchez-Vizcaíno JM. One world, One Health, one virology. *Vet Microbiol* 2013. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.02.018>

[115] Reeve-Johnson L. One Health and a world of opportunity. *Veterinary Record* 2015. <https://doi.org/10.1136/vr.h2117>

[116] Mwangi W, de Figueiredo P, Criscitiello MF. One Health: addressing global challenges at the nexus of human, animal, and environmental Health. *PLoS Pathog* 2016;12:e1005731. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005731>

[117] Kelly TR, Karesh WB, Johnson CK, et al. One Health proof of concept: bringing a transdisciplinary approach to surveillance for zoonotic viruses at the human-wild animal interface. *Prev Vet Med* 2017;137:112–118. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.11.023>

[118] Colella JP, Stephens RB, Campbell ML, Kohli BA, Parsons DJ, Mclean BS. The open-specimen movement. *Bioscience* 2021;71:405–414. <https://doi.org/10.1093/biosci/biaa146>

[119] Cook JA, Arai S, Armien B, et al. Integrating biodiversity infrastructure into pathogen discovery and mitigation of emerging infectious diseases. *Bioscience* 2020;70:531–534. <https://doi.org/10.1093/biosci/biaa064>

[120] Thompson CW, Phelps KL, Allard MW, et al. Preserve a voucher specimen! The critical need for integrating natural history collections in infectious disease studies. *MBio* 2021;12. <https://doi.org/10.1128/mBio.02698-20>

[121] Bakker FT, Antonelli A, Clarke JA, et al. The Global Museum: natural history collections and the future of evolutionary science and public education. *Peer J* 2020;8:e8225. <https://doi.org/10.7717/peerj.8225>

[122] Colella JP, Bates J, Burneo SF, et al. Leveraging natural history biorepositories as a global, decentralized, pathogen surveillance network. *PLoS Pathog* 2021;17:e1009583. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009583>

[123] Conceicao C, Thakur N, Human S, et al. The SARS-CoV-2 spike protein has a broad tropism for mammalian ACE2 proteins. *PLoS Biol* 2020;18: e3001016. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3001016>

[124] Wang L, Mitchell PK, Calle PP, et al. Complete genome sequence of SARS-CoV-2 in a tiger from a US zoological collection. *Microbiol Resour Announc* 2020;9. <https://doi.org/10.1128/MRA.00468-20>

[125] McAloose D, Laverack M, Wang L, et al. From people to: natural SARS-CoV-2 infection in tigers and lions at the Bronx Zoo. *MBio* 2020;11. <https://doi.org/10.1128/mBio.02220-20>

[126] Bartlett SL, Diel DG, Wang L, et al. SARS-CoV-2 infection and longitudinal fecal screening in Malayan tigers (*Panthera tigris jacksoni*), Amur tigers (*Panthera tigris altaica*), and African lions (*Panthera leo kru-geri*) at the Bronx Zoo, New York, USA. *J Zoo Wildl Med* 2021;51:733–744. <https://doi.org/10.1638/2020-0171>

[127] Oreshkova N, Molenaar RJ, Vreman S, et al. SARS-CoV-2 infection in farmed minks, the Netherlands, April and May 2020. *Euro Surveill* 2020;25.

<https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.23.2001005>

- [128] Hammer AS, Quaade ML, Rasmussen TB, et al. SARS-CoV-2 transmission between mink (*Neovison vison*) and humans, Denmark. *Emerg Infect Dis* 2021;27:547–551. <https://doi.org/10.3201/eid2702.203794>
- [129] Halfmann PJ, Hatta M, Chiba S, et al. Transmission of SARS-CoV-2 in domestic cats. *N Engl J Med* 2020;383:592–594. <https://doi.org/10.1056/NEJMc2013400>
- [130] Gaudreault NN, Trujillo JD, Carossino M, et al. SARS-CoV-2 infection, disease and transmission in domestic cats. *Emerg Microbes Infect* 2020;9:2322–2332. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1833687>
- [131] Braun KM, Moreno GK, Halfmann PJ, et al. Transmission of SARS-CoV-2 in domestic cats imposes a narrow bottleneck. *PLoS Pathog* 2021;17: e1009373. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009373>
- [132] Liu H-L, Yeh I-J, Phan NN, et al. Gene signatures of SARS-CoV/SARS-CoV-2-infected ferret lungs in short- and long-term models. *Infect Genet Evol* 2020;85:104438. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104438>
- [133] Ryan KA, Bewley KR, Fotheringham SA, et al. Dose-dependent response to infection with SARS-CoV-2 in the ferret model and evidence of protective immunity. *Nat Commun* 2021;12:81. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20439-y>
- [134] Kim Y-I, Kim S-G, Kim S-M, et al. Infection and rapid transmission of SARS-CoV-2 in ferrets. *Cell Host Microbe* 2020;27:704–709.e2. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.03.023>
- [135] Freuling CM, Breithaupt A, Müller T, et al. Susceptibility of raccoon dogs for experimental SARS-CoV-2 infection. *Emerg Infect Dis* 2020;26: 2982–2985. <https://doi.org/10.3201/eid2612.203733>
- [136] Munster VJ, Feldmann F, Williamson BN, et al. Respiratory disease in rhesus macaques inoculated with SARS-CoV-2. *Nature* 2020;585: 268–272. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2324-7>
- [137] Rockx B, Kuiken T, Herfst S, et al. Comparative pathogenesis of COVID-19, MERS, and SARS in a nonhuman primate model. *Science* 2020; 368:1012–1015. <https://doi.org/10.1126/science.abb7314>
- [138] Mykytyn AZ, Lamers MM, Okba NMA, et al. Susceptibility of rabbits to SARS-CoV-2. *Emerg Microbes Infect* 2021;10:1–7. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1868951>
- [139] Schlottau K, Rissmann M, Graaf A, et al. SARS-CoV-2 in fruit bats, ferrets, pigs, and chickens: an experimental transmission study. *Lancet Microbe* 2020;1:e218–e225. [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(20\)30089-6](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(20)30089-6)
- [140] Imai M, Iwatsuki-Horimoto K, Hatta M, et al. Syrian hamsters as a small animal model for SARS-CoV-2 infection and countermeasure development. *Proc Natl Acad Sci* 2020;117:16587–16595. <https://doi.org/10.1073/pnas.2009799117>
- [141] Palmer MV, Martins M, Falkenberg S, et al. Susceptibility of white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) to SARS-CoV-2. *J Virol* 2021. <https://doi.org/10.1128/JVI.00083-21>
- [142] Chandler JC, Bevins SN, Ellis JW, et al. SARS-CoV-2 exposure in wild white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). *bioRxiv* 2021. <https://doi.org/10.1101/2021.07.29.454326>
- [143] Gryseels S, De Bruyn L, Gyselings R, Calvignac-Spencer S, Leendertz FH, Leirs H. Risk of human-to-wildlife transmission of SARS-CoV-2. *Mamm Rev* 2020. <https://doi.org/10.1111/mam.12225>
- [144] Griffin JB, Haddix M, Danza P, et al. SARS-CoV-2 Infections and hospitalizations among persons aged ≥16 years, by vaccination status—Los Angeles County, California, May 1–July 25, 2021. *Morb Mortal Wkly Rep* 2021;70:1170–1176. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm7034e5>
- [145] Del Rio C, Malani PN, Omer SB. Confronting the delta variant of SARS-CoV-2, summer 2021. *JAMA* 2021. <https://doi.org/10.1001/jama.2021.14811>
- [146] Lazarevic I, Pravica V, Miljanovic D, Cupic M. Immune evasion of SARS-CoV-2 emerging variants: what have we learnt so far? *Viruses* 2021;13. <https://doi.org/10.3390/v13071192>
- [147] Kemp SA, Collier DA, Datir RP, et al. SARS-CoV-2 evolution during treatment of chronic infection. *Nature* 2021;592:277–282. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03291-y>
- [148] Srivastava S, Banu S, Singh P, Sowpati DT, Mishra RK. SARS-CoV-2 genomics: an Indian perspective on sequencing viral variants. *J Biosci* 2021;46. <https://doi.org/10.1007/s12038-021-00145-7>
- [149] Furuse Y. Genomic sequencing effort for SARS-CoV-2 by country during the pandemic. *Int J Infect Dis* 2021;103:305–307. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.12.034>
- [150] Crawford DC, Williams SM. Global variation in sequencing impedes SARS-CoV-2 surveillance. *PLoS Genet* 2021;17:e1009620. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1009620>
- [151] Adepoju P. Challenges of SARS-CoV-2 genomic surveillance in Africa. *Lancet Microbe* 2021;2:e139. [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(21\)00065-3](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(21)00065-3)
- [152] Blomberg N, Lauer KB. Connecting data, tools and people across Europe: ELIXIR's response to the COVID-19 pandemic. *Eur J Hum Genet* 2020;28:719–723. <https://doi.org/10.1038/s41431-020-0637-5>
- [153] Conesa A, Beck S. Making multiomics data accessible to researchers. *Sci Data* 2019;6:251. <https://doi.org/10.1038/s41597-019-0258-4>
- [154] Hodgecroft EB, De Maio N, Lanfear R, et al. Want to track pandemic variants faster? Fix the bioinformatics bottleneck. *Nature* 2021; 591:30–33. <https://doi.org/10.1038/d41586-021-00525-x>
- [155] Turakhia Y, Thornlow B, Hinrichs AS, et al. Ultrafast Sample placement on Existing tRees (USHER) enables real-time phylogenetics for the SARS-CoV-2 pandemic. *Nat Genet* 2021;53:809–816. <https://doi.org/10.1038/s41588-021-00862-7>
- [156] Wenzel J. Origins of SARS-CoV-1 and SARS-CoV-2 are often poorly explored in leading publications. *Cladistics* 2020;36:374–379. <https://doi.org/10.1111/cla.12425>
- [157] Machado DJ, Schneider AB, Guirales S, Janies DA. FLAVi: an enhanced annotator for viral genomes of Flaviviridae. *Viruses* 2020;12. <https://doi.org/10.3390/v12080892>
- [158] Wheeler WC. Sequence alignment, parameter sensitivity, and the phylogenetic analysis of molecular data. *Syst Biol* 1995;44:321–331.
- [159] Grant T. The perils of “point-and-click” systematics. *Cladistics* 2003;19: 276–285. [https://doi.org/10.1016/S0748-3007\(03\)00029-X](https://doi.org/10.1016/S0748-3007(03)00029-X)
- [160] Hovmöller R, Alexandrov B, Hardman J, Janies D. Tracking



the geographical spread of avian influenza (H5N1) with multiple phylogenetic trees. *Cladistics* 2010;26:1–13.  
<https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.2009.00297.x>

[161] de Bernardi Schneider A, Ford CT, et al. StrainHub: a phylogenetic tool to construct pathogen transmission networks. *Bioinformatics* 2020;36:945–947.  
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz646>

[162] Syrowatka A, Kuznetsova M, Alsubai A, et al. Leveraging artificial intelligence for pandemic preparedness and response: a scoping review to identify key use cases. *NPJ Digit Med* 2021;4:96.  
<https://doi.org/10.1038/s41746-021-00459-8>

[163] Chen S, Owolabi Y, Li A, et al. Patch dynamics modeling framework from pathogens' perspective: Unified and standardized approach for complicated epidemic systems. *PLoS One* 2020;15:e0238186. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238186>

[164] COVID-19. Johns Hopkins Coronavirus Resource Center website. [https:// coronavirus.jhu.edu/map.html](https://coronavirus.jhu.edu/map.html)

[165] Henderson DA. The eradication of smallpox—an overview of the past, present, and future. *Vaccine* 2011;29 suppl 4:D7–9.  
<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.06.080>

[166] Arunkumar G, Chandni R, Mourya DT, et al. Outbreak investigation of Nipah virus disease in Kerala, India, 2018. *J Infect Dis* 2019;219: 1867–1878. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy612>

[167] Soh SM, Kim Y, Kim C, Jang US, Lee H-R. The rapid adaptation of SARS- CoV-2-rise of the variants: transmission and resistance. *J Microbiol* 2021;59:807–818.  
[https://doi.org/ 10.1007/s12275-021-1348-5](https://doi.org/10.1007/s12275-021-1348-5)

[168] Schwarze K, Buchanan J, Fermont JM, et al. The complete costs of genome sequencing: a microcosting study in cancer and rare diseases from a single center in the United Kingdom. *Genet Med* 2020;22:85–94. <https://doi.org/10.1038/s41436-019-0618-7>