# Twitter Thread by Coroldo1



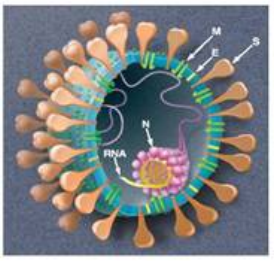
**Coroldo1**
@coroldo1

**A thread ONLY aimed to present PREVIOUS information on PREVIOUS outbreaks. History sometimes repeats itself, so do persons/institutions/procedures. Any analysis based on reappearance of similar institutions/procedures/persons should take difference in time/tech into consideration**

#MERS The 2012-2013 also had similarities, the first beta coronavirus outbreak after 2003 #SARS, person in charge was the same compared with #COVID19.
So, let's roll.

#MERS 20131015 presentation by Wenjie Tan of China CDC, on pathogenicity and detection. 1/12

20131015




# 中东呼吸道综合征冠状病毒（MERS-CoV）感染 ------病原学与实验室检测

谭文杰

中国疾控中心病毒病所

病毒病应急技术中心

（卫生部SARS 参比实验室）

#MERS 2/12

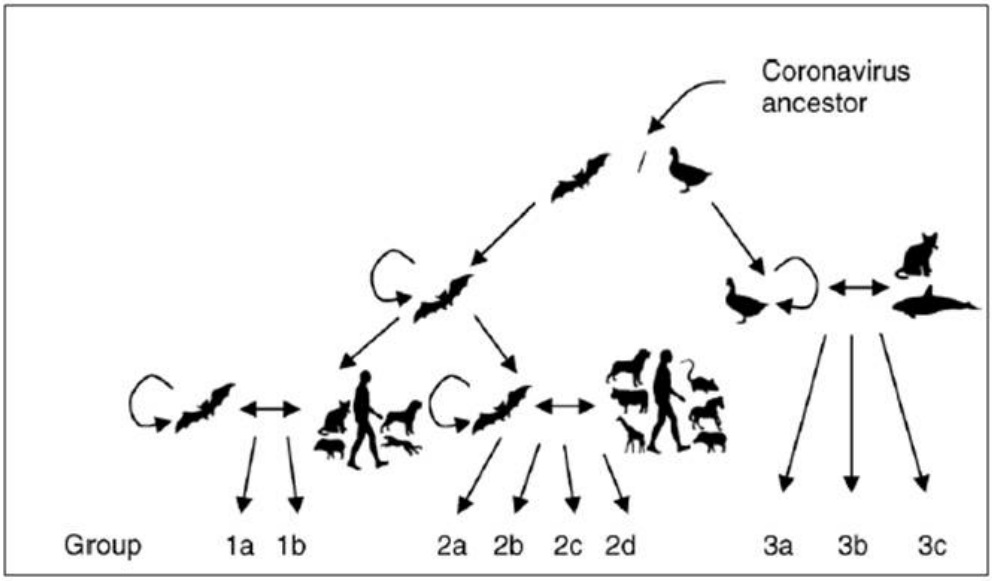
# 冠状病毒（coronavirus)

## 概述：

- 1933年，Baudette等描述了鸡的“哮喘病”，1937年首次从小鸡体内分离出冠状病毒，分离的病毒被鉴定为传染性支气管炎病毒(Infectious bronchitis,IBV);
- 1951 年，Gledhill等分离出鼠肝炎病毒(Murine hepatitis virus,MHV)；
- 1965年，Tyrrell和 Bynoe首次在体外用人胎鼻和气管培养方法，从普通感冒病人鼻洗液中分离出一株病毒，命名为B814病毒。

#MERS 3/12

# 冠状病毒跨种属传播与进化




**CoVs in bats are the hypothesized gene pool of group 1 and group 2 CoVs and CoVs in birds are the hypothesized gene pool of group 3 CoVs.**

**Coronavirus Diversity, Phylogeny and Interspecies Jumping**
Patrick C. Y. Woo, Susanna K. P. Lau, Yi Huang and Kwok-Yung Yuen

*Experimental Biology and Medicine* 2009, 234:1117-1127.
doi: 10.3181/0903-MR-94

#MERS 4/12

# MERS-CoV ORFs组成

Table 2. Nonconsensus variants detected in the sequence of a novel human betacoronavirus

| Name* | Start† | End | ≥0.01–0.05‡ | >0.05–0.1 | >0.1 | Total§ | Length | %¶# |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| NSP9 | 12659 | 12988 | 3 | 0 | 0 | 3 | 329 | 0.91 |
| NSP10 | 12989 | 13408 | 3 | 0 | 0 | 3 | 419 | 0.72 |
| NSP14 | 18001 | 19572 | 6 | 1 | 1 | 8 | 1571 | 0.51 |
| NSP6 | 10937 | 11812 | 4 | 0 | 0 | 4 | 875 | 0.46 |
| NSP3 | 2837 | 8497 | 25 | 0 | 0 | 25 | 5660 | 0.44 |
| NSP12 | 13432 | 16206 | 11 | 1 | 0 | 12 | 2774 | 0.43 |
| NSP7 | 11813 | 12061 | 1 | 0 | 0 | 1 | 248 | 0.40 |
| NSP5 | 10019 | 10936 | 3 | 0 | 0 | 3 | 917 | 0.33 |
| N | 28565 | 29806 | 4 | 0 | 0 | 4 | 1241 | 0.32 |
| S | 21455 | 25516 | 12 | 0 | 1 | 13 | 4061 | 0.32 |
| ORF 4a | 25851 | 26180 | 1 | 0 | 0 | 1 | 329 | 0.30 |
| M | 27852 | 28511 | 2 | 0 | 0 | 2 | 659 | 0.30 |
| ORF 8b | 28761 | 29099 | 1 | 0 | 0 | 1 | 338 | 0.30 |
| NSP13 | 16307 | 18000 | 5 | 0 | 0 | 5 | 1693 | 0.30 |
| NSP4 | 8498 | 10018 | 4 | 0 | 0 | 4 | 1520 | 0.26 |
| NSP2 | 857 | 2836 | 4 | 0 | 0 | 4 | 1979 | 0.20 |
| NSP8 | 12062 | 12658 | 1 | 0 | 0 | 1 | 596 | 0.17 |
| ORF 4b | 26092 | 26832 | 0 | 1 | 0 | 1 | 740 | 0.14 |
| NSP15 | 19573 | 20601 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1028 | 0.10 |
| NSP1 | 278 | 856 | 0 | 0 | 0 | 0 | 578 | 0.00 |
| NSP11 | 13409 | 13453 | 0 | 0 | 0 | 0 | 44 | 0.00 |
| NSP16 | 20602 | 21513 | 0 | 0 | 0 | 0 | 911 | 0.00 |
| ORF 3 | 25531 | 25842 | 0 | 0 | 0 | 0 | 311 | 0.00 |
| ORF 5 | 26839 | 27513 | 0 | 0 | 0 | 0 | 674 | 0.00 |
| E | 27589 | 27837 | 0 | 0 | 0 | 0 | 248 | 0.00 |

*ORF nomenclature is from van Boheemen et al. (*3*). ORF, open reading frame; NSP, nonstructural protein.
†Nucleotide position in England/Qatar/2012 genome.
‡No. nucleotide positions showing the indicated fraction of nonconsensus nucleotides. Only positions with a minimum of 1,000-fold coverage and a Phred quality score of 30 were included.
§No. nucleotide positions with ≥0.01 (1%) nonconsensus nucleotides.
¶Total no. positions with variation divided by length of ORF) × 100.
#ORFs were sorted by decreasing amino acid percentage change.

#MERS 5/12

# 目前国内外有关MERS病毒的重要研究进展

迄今，国内外已在流行病学、病原学和诊断、药物和疫苗等方面的科研工作，并取得重要进展。

**（1）病毒发现和分离：**沙特阿拉伯和欧洲的英法德等科学家从病人标本中成功分离出中东呼吸综合症冠状病毒，并进行了全基因序列测定。

**（2）病毒受体的发现：**荷兰的研究团队发现和确定了MERS病毒的受体为DPP4；我国中科院和清华大学的研究团队随后证实了这种病毒受体。

**（3）免疫保护机制研究：**荷兰的科学家、美国纽约血液研究中心和军事医学科学院微生物流行病研究所的研究团队发现和确定了病毒诱导产生中和抗体的病毒蛋白功能区，为疫苗的研究奠定了基础。

**（4）动物模型研究：**美国NIH的研究团队建立了猕猴感染模型，为药物和疫苗的评价提供了技术支持。

**（5）抗病毒治疗研究：**美国的科学家证明利巴韦林和IFN-α2b联合应用可以有效抑制病毒复制。上述研究为进行防控和治疗奠定了基础。

#MERS 6/12

# 实验室检测相关生物安全要求

- 1、标本的分装和核酸提取在生物安全二级实验室的生物安全柜内进行；病毒培养物的核酸提取必须在生物安全三级实验室的生物安全柜内进行。
- 2、标本的抗原快速检测以及采用灭活抗原进行ELISA检测血清抗体时，要求在生物安全二级实验室内操作；采用微量中和试验进行血清抗体检测应在生物安全三级实验室操作。
- 3、中东呼吸综合征冠状病毒的分离、鉴定和中和实验应在生物安全三级实验室里进行。
- 4、阳性标本和分离物的保存及销毁应按照《病原微生物实验室生物安全管理条例》（国务院第424号令）执行。

#MERS 7/12

# 标本采集要求

- 从事中东呼吸综合征冠状病毒检测标本采集的技术人员应经过生物安全培训（培训合格）和具备相应的实验技能。在标本采集过程中，采样人员可参照人感染高致病性禽流感H5N1的防护措施进行安全防护。
- 住院病例的标本由所在医院医护人员在当地疾控机构专业人员指导下采集。
- 密切接触者标本由当地疾控机构负责采集。
- 根据实验室检测工作的需要，结合病程再次采样。

#MERS 8/12

# 标本送检

- 样本采集后应尽快的送往实验室，当呼吸道样本或血清运往实验室的运输中出现耽搁时，适当的低温保存处理是非常重要的，建议在能获得干冰的地方采用干冰保藏运输样本。
- 7.1 上送标本：检测结果阳性或可疑的原始标本或分离物应及时送中国疾病预防控制中心复核和进一步检测；省级疾病预防控制机构实验室检测阴性，但有明确流行病学证据的病例标本应送中国疾病预防控制中心进一步检测。

#MERS 9/12

# MERS-CoV的实验室检测靶标

- 目前病毒核酸的检测方法主要有检测E蛋白上游基因（upE）、ORF1b基因和ORF1a基因三种。这些方法均高度敏感，检测ORF1b基因的方法不如针对ORF1a的方法敏感，但比其更加特异。另外，已确定了中东呼吸综合征冠状病毒基因组中位于RNA依赖的RNA聚合酶（RdRp）和衣壳蛋白（N）基因的几个适合测序验证的靶序列。

# RT-PCR扩增RdRp或N基因测序检测MERS-CoV

**RdRpSeq assay:**

EMC-SeqRdRP-Rev: GCA TWG CNC WGT CAC ACT TAG G
EMC-SeqRdRP-Fwd: TGC TAT WAG TGC TAA GAA TAG RGC
EMC-SeqRdRP-Rnest: CAC TTA GGR TAR TCC CAW CCC A
W=A/T, N=A/C/T/G, R=A/G
Fragment size: first round : 242bp (including primers),
second round 228 bp (including primers)

**Nseq assay:**

EMC-SeqN-Fwd: CCT TCG GTA CAG TGG AGC CA
EMC-SeqN-Rev: GAT GGG GTT GCC AAA CAC AAA C
EMC-SeqN-Fnest: TGA CCC AAA GAA TCC CAA CTA C
Fragment size: first round : 306-312 bp (including primers),
second round 279-285 bp (including primers)

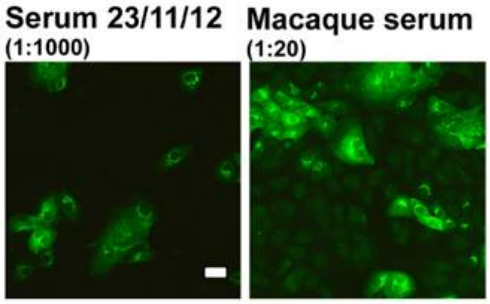
**Reference:**

Corman/Müller et al.; Eurosurveillance, Volume 17, Issue 49, 06 December 2012

#MERS 11/12

# IFA抗原片检测MERS-CoV特异抗体

**Example of hCoV-EMC/2012 antibody-positive serum samples using conventional slides:**




universitäts klinikum bonn
Institut für Virologie

**Reference:**

Corman/Müller et al.; Eurosurveillance, Volume 17, Issue 49, 7 December 2012

#MERS 12/12

# SARS实验室检测方法一览表

| 常用检测方法 | 检测所需时间 | 检测结果的解释及意义 |
| --- | --- | --- |
| 病毒核蛋白（N）抗原ELISA检测 | 4 小时 | 发病1-10天（3-5天敏感）的血清样品，阳性有诊断意义。此方法比较敏感，用于早期诊断，方法稳定，受样品质量影响小。 |
| 病毒核酸实时PCR检测 | 4 小时 | 发病期3-10天的咽、肛拭子及血清样品，多样品阳性有诊断意义。此方法用于早期诊断，方法较稳定，比较敏感，但受样品质量影响大。 |
| 病毒核酸常规PCR检测 | 6 小时 | 同上，可用于核酸序列测定，核酸测序有诊断意义。此方法用于早期诊断，方法较稳定，比较敏感，但受样品质量影响大。 |
| IgG和IgM的ELISA和荧光检测 | 4 小时 | 发病10天左右的血清才能检出，4倍升高或阳转有诊断意义。此方法用于中晚期诊断，方法较稳定。 |
| 中和抗体的检测 | 3-5天 | 发病10-22天血清能够检出，4倍升高有诊断意义。此方法用于中晚期诊断，方法较稳定。 |
| 病毒分离 | 5-10天 | 发病1-10天，咽肛拭子及血清样品，阳性有诊断意义。此方法用于中晚期诊断，爱样品影响大。 |