

7. TMF-Jahreskongress 2015 Hannover

## Entdeckung des MERS-Virus

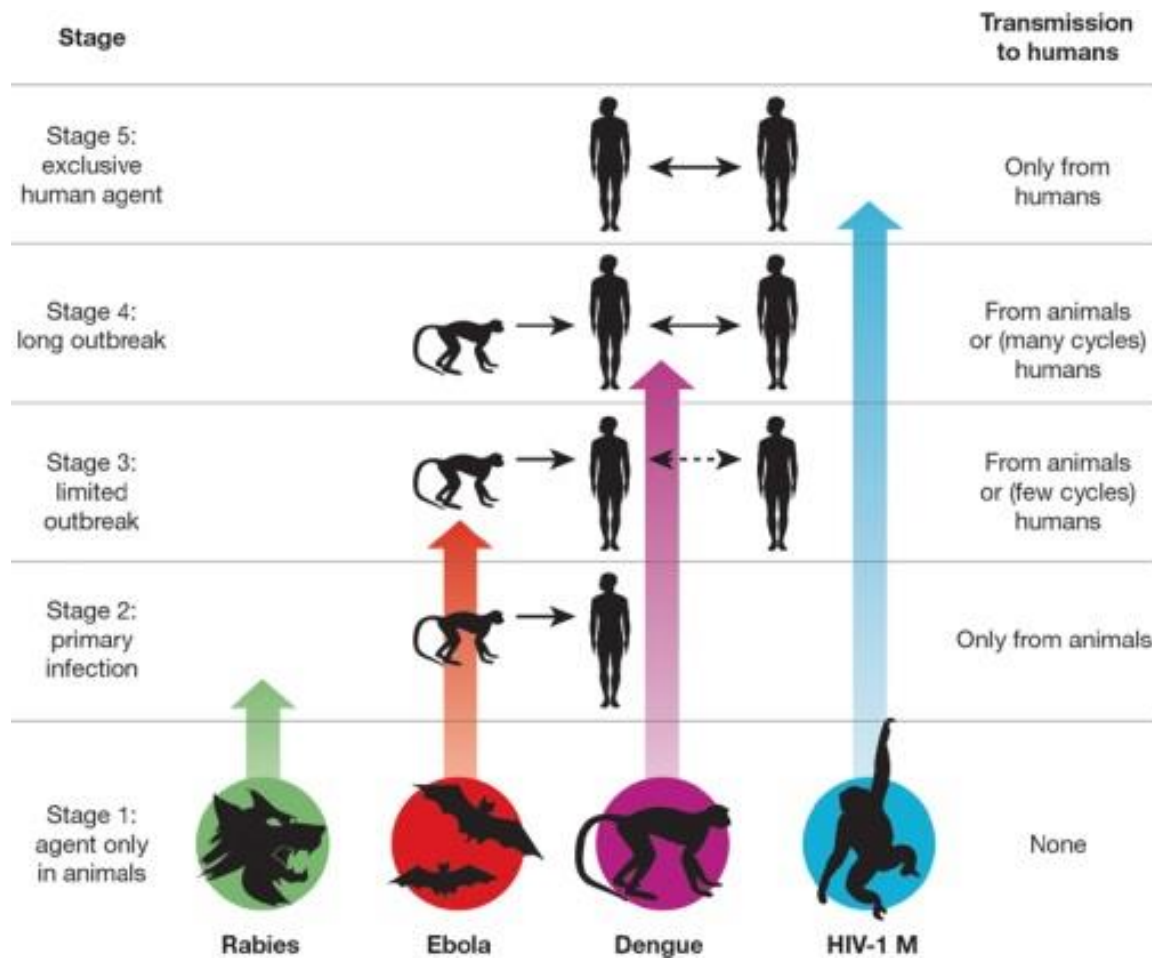
---

**Victor Corman**

**Institut für Virologie, Bonn**

**Konsiliarlabor für Coronaviren (Prof. Drosten)**

**Deutsches Zentrum für Infektionsforschung, Standort Bonn-Köln**



1.400 humanpathogene Erreger:

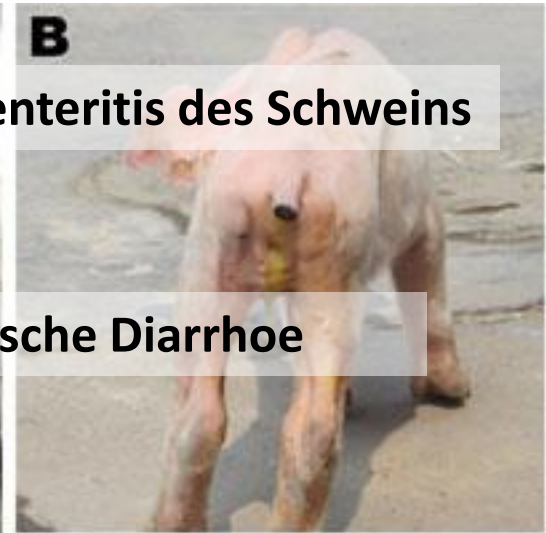


ca. 60% zoonotisch

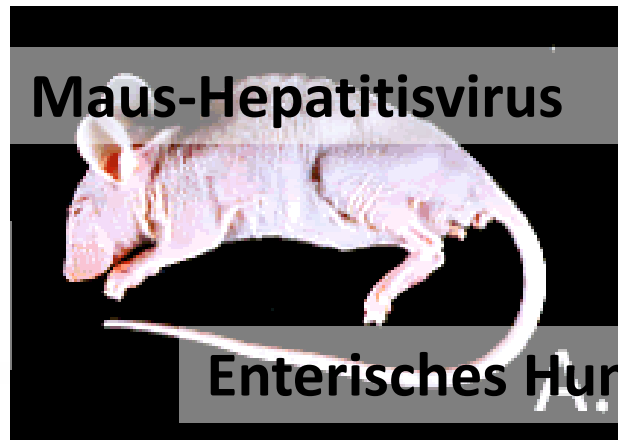


davon ~ 200 „Emerging viruses“:

ca. 75% zoonotisch



**Respiratorisches  
Hundecoronavirus**



**Virus der infektiösen  
Bronchitis bei Geflügel**

**Enterisches Hundecoronavirus**

Virus	Bekannt seit	Klinik ARE = akute respiratorische Erkrankung) ILI = influenza like illness
HCoV-OC43	1960er	“Erkältung“, ARE, ILI
HCoV-229E	1960er	“Erkältung“, ARE, ILI
HCoV-NL63	2003	“Erkältung“, ARE, ILI
HCoV-HKU1	2004	“Erkältung“, ARE, ILI
<b>SARS-CoV</b>	<b>2003</b>	<b>Schwere Lungenentzündung</b>

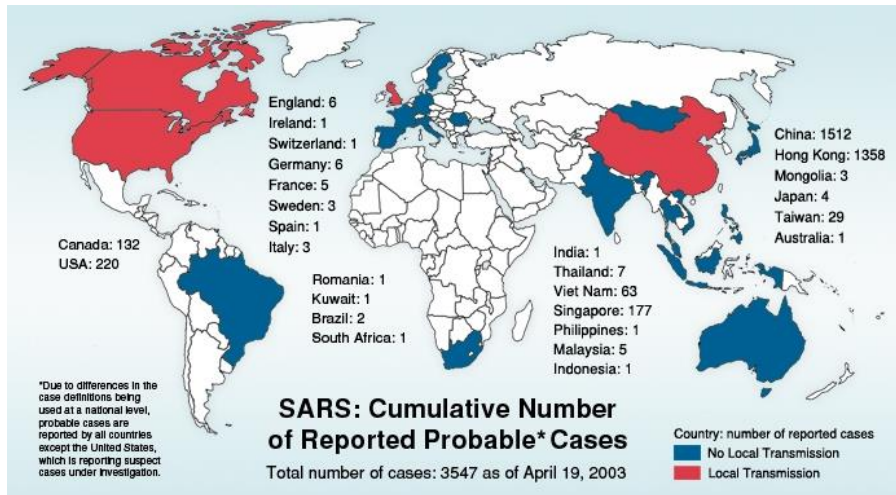


## SARS-CoV:

- 2002/2003: Ausbruch ausgehend von Ostasien
  - Seit 2004 keine Fälle mehr

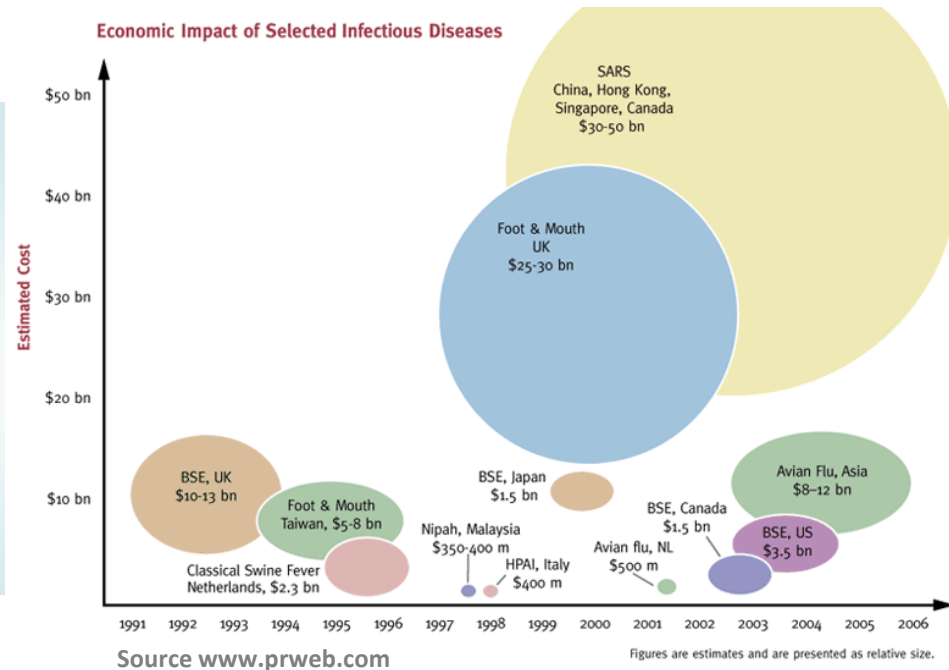
Health: 8000 infected, 800 deaths = 10% fatality rate

Economy: 30-50 billion US\$



Source [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)

Nov 2002 – Apr 2003





Virus	Bekannt seit	Klinik ARE = akute respiratorische Erkrankung) ILI = influenza like illness
HCoV-OC43	1960er	“Erkältung“, ARE, ILI
HCoV-229E	1960er	“Erkältung“, ARE, ILI
HCoV-NL63	2003	“Erkältung“, ARE, ILI
HCoV-HKU-1	2004	“Erkältung“, ARE, ILI
<b>SARS-CoV</b>	2003	Schwere Lungenentzündung

## Seit 2012 weiteres Coronavirus im Menschen:

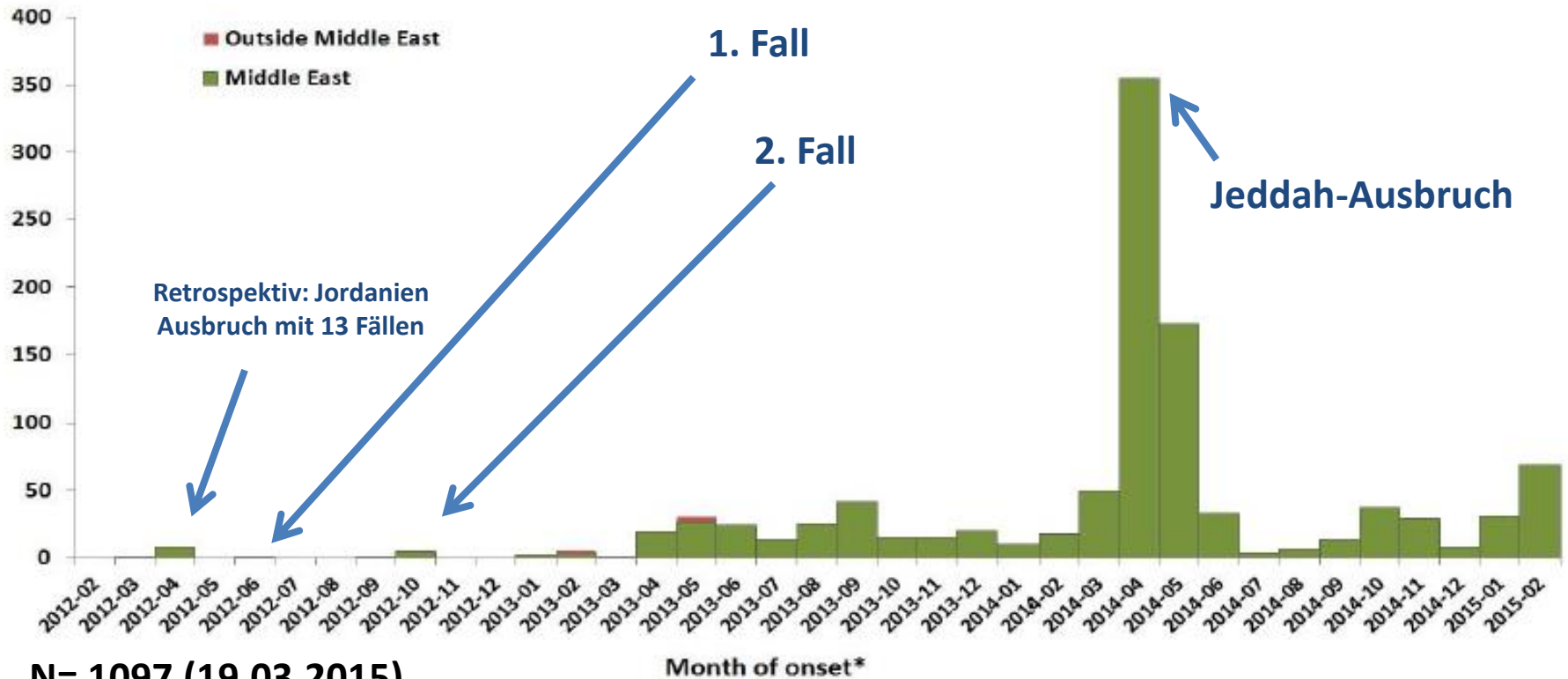
SARS-CoV:

- Pandemie in 2002/2003: seit 2004 keine Fälle mehr
- über 8000 Fälle; ca. 10% Letalität

# MERS-CoV

(Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus)

Number of cases



**N= 1097 (19.03.2015)**

- 30% Letalität
- 60 % Männer!
- > 10% Krankenhausmitarbeiter



Röntgen bei Aufnahme



- 60-jähriger Patient in Saudi-Arabien
- seit 7 Tagen Fieber, Husten, Kurzatmigkeit
- keine kardiopulmonale/renale Vorerkrankung

Tag 1: Aufnahme: 38,3°C; RR 140/80 mm Hg

.

Tag 2: Intubation aufgrund resp. Insuffizienz

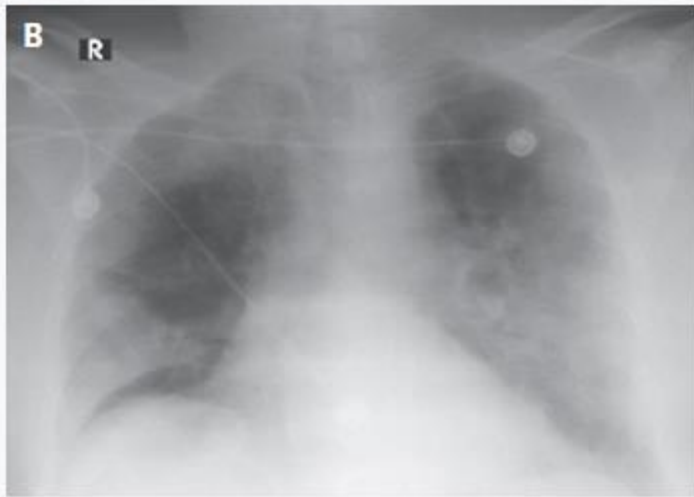
.

Tag 3: Nierenretentionsparameter-Anstieg

.

.

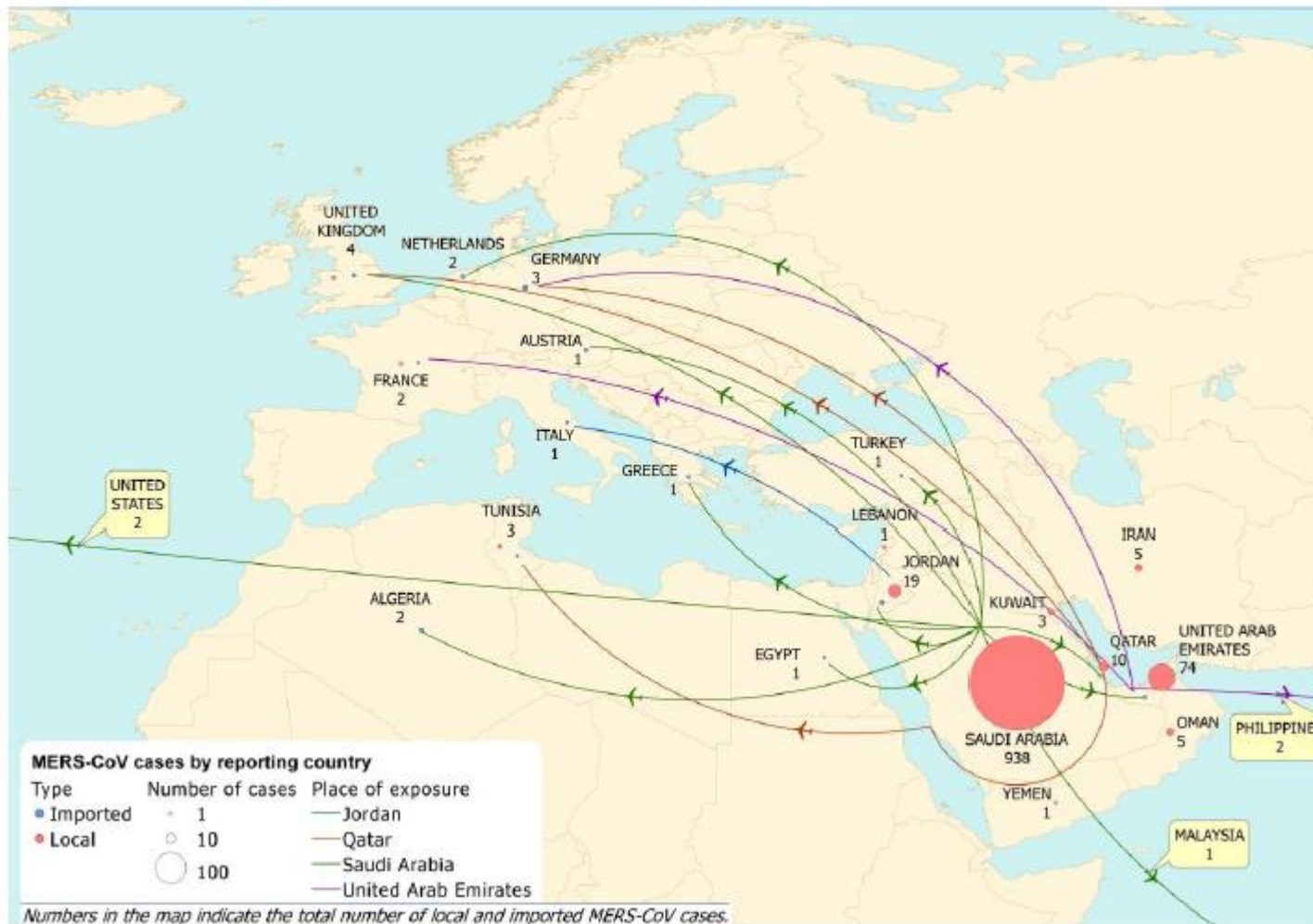
Tag 11: Multiorganversagen, Tod



Röntgen 2 Tage später



- Medizintouristen!
- Drehkreuz für den Flugverkehr!
- Urlauber!



Länder	Anzahl Fälle
Saudi Arabia	938
UAE	74
Jordan	19
Qatar	10
Iran	5
Oman	5
UK	4
Kuwait	3
Tunisia	3
Germany	3
France	2
Netherlands	2
Algeria	2
USA	2
Egypt	1
Yemen	1
Lebanon	1
Turkey	1
Austria	1
Italy	1
Greece	1
Malaysia	1
Philippines	1

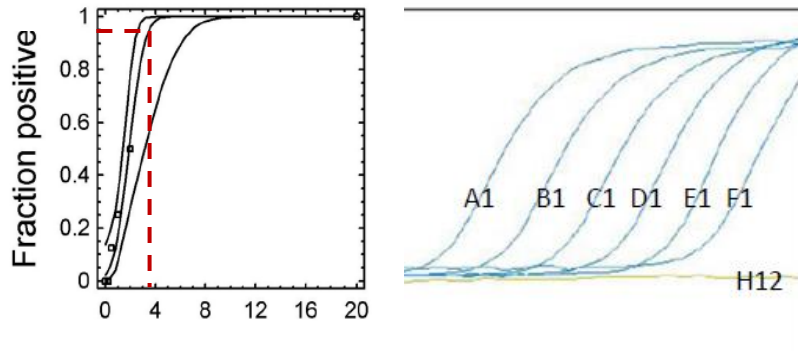
# Ein “neues“ Virus !

## Aufgaben und Fragen:

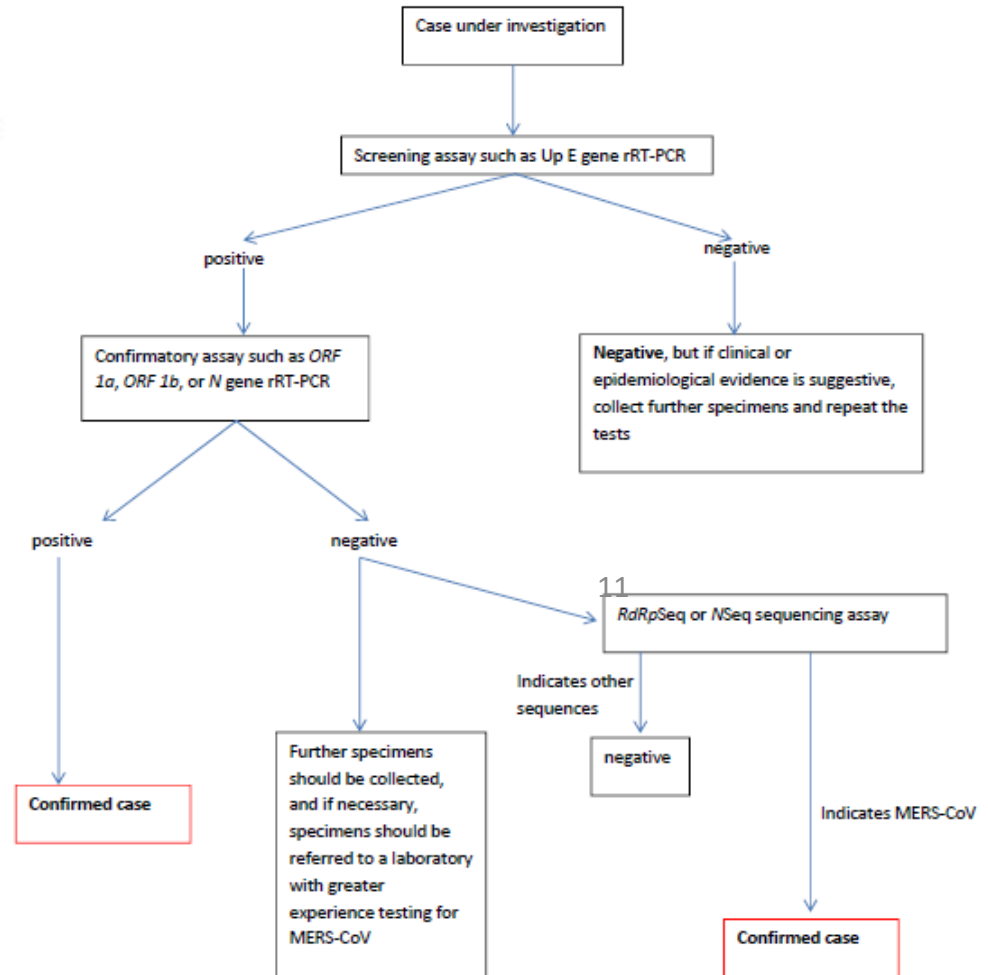
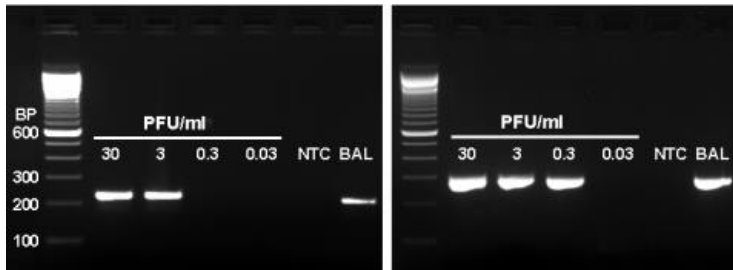
1. Diagnostik?
2. Ansteckungsquellen?
3. Transmission?
4. Intervention?

## Nachweisverfahren: PCR

### Quantitative Real-time PCR



### PCR für Sequenzierung



## Identifikation von Patienten zur weiteren diagnostischen Abklärung

Eine spezifische Untersuchung auf eine Erkrankung durch MERS-CoV muss durchgeführt werden bei

1. Patienten mit **respiratorischen Symptomen** unabhängig von deren Schwere UND *Kontakt* mit einem *bestätigten* oder *wahrscheinlichen* Fall
2. Patienten mit erfüllttem *klinischen Bild* UND **Aufenthalt in einem Risikogebiet**

Diese Patienten müssen mittels eines *geeigneten labordiagnostischen Verfahrens* abgeklärt und einer der vier Falldefinitionskategorien („Bestätigter Fall“, „Wahrscheinlicher Fall“, „Ungeklärter Fall“ oder „Ausgeschlossener Fall“) zugordnet werden.

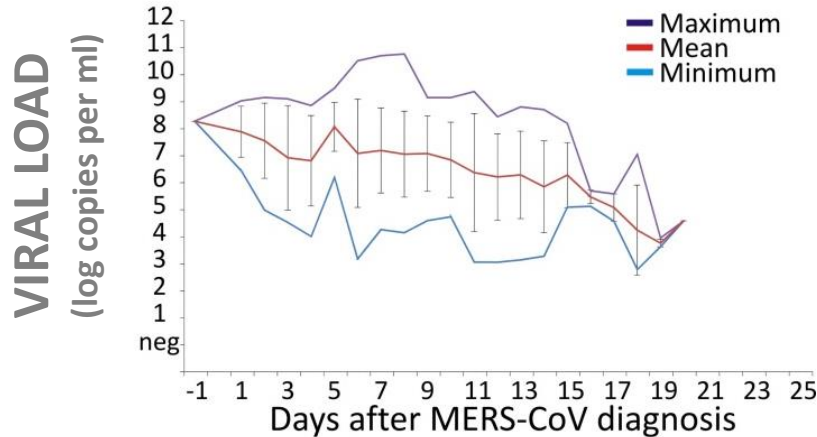
**Inkubationszeit: <7 Tage (1-14)**

**Symptome: Fieber, Husten, Atemnot...**

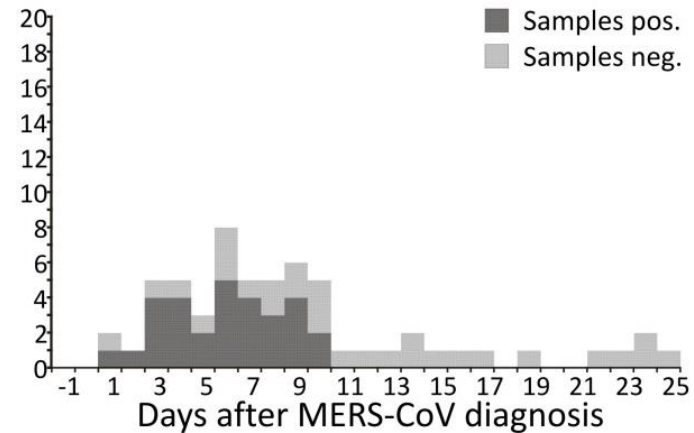
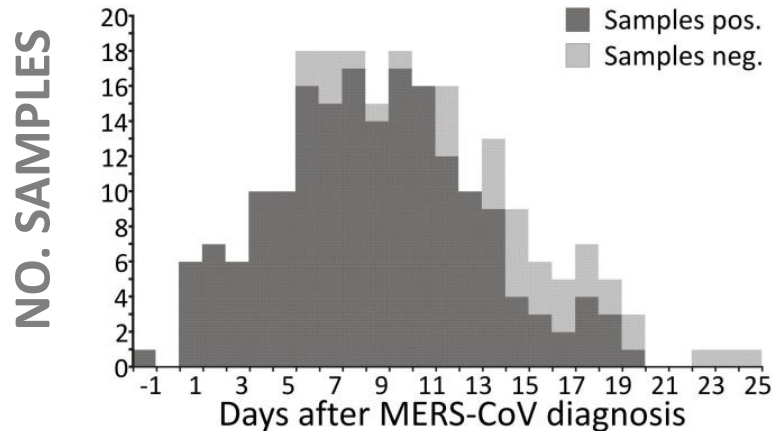
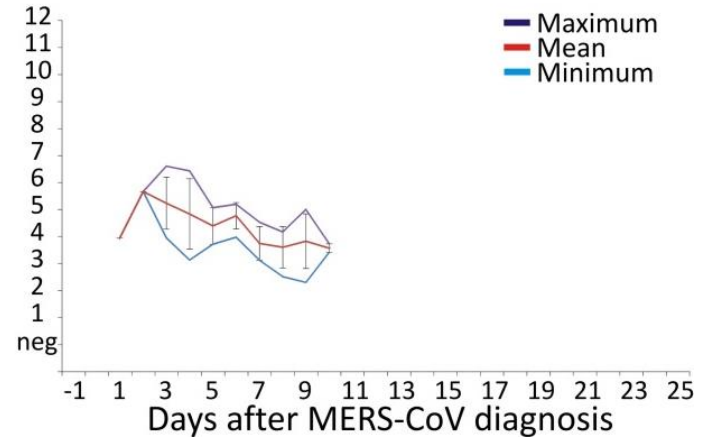
Jemen, Katar, Kuwait, Oman, Saudi-Arabien, Vereinigte Arabische Emirate sowie Irak, Jordanien, Bahrain, Syrien, Libanon, Iran, Palästinensische Gebiete, Israel, Ägypten  
(Stand: 09.05.2014)

Falldefinition des RKI (21.08.2012)

## Hohe Viruslast Untere Atemweg



## Niedrige Viruslast Oberer Atemweg



**Proben aus den unteren Atemwegen !**

Proben aus den oberen Atemwegen ( 2 konsekutive Proben >1 Tag Abstand)

**Diagnostik eines Patienten  PCR !**

---

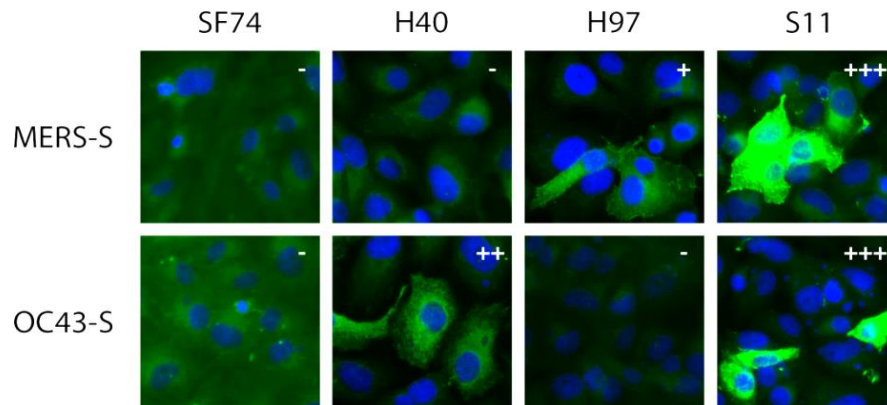
**Für die Epidemiologie: Serologie ?**

## Probleme:

- Menschen: 90% IgG gegen andere HCoV
- Kreuzreaktivität

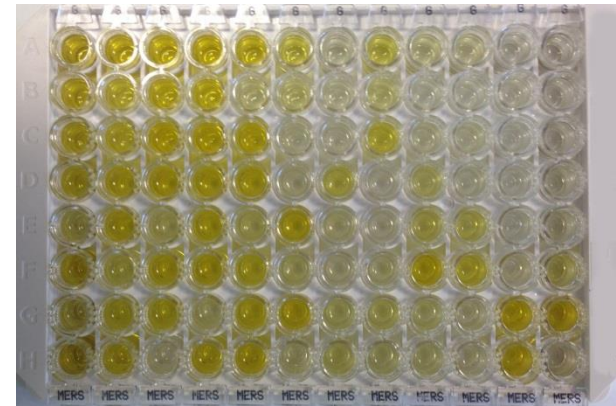
### 1. Bestätigung IFT

Antigen: Spike MERS/OC43



### Screening: ELISA

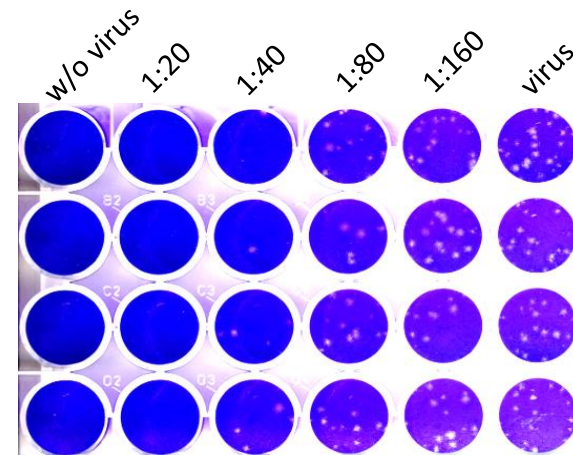
Antigen: MERS S1 Spike Subdomain



### 2. Bestätigung:

#### Neutralisationstest

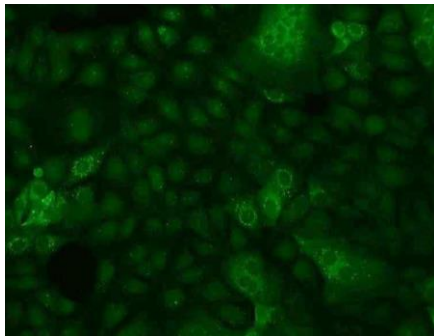
(Plaque-Reduction assay, BSL3-Labor)



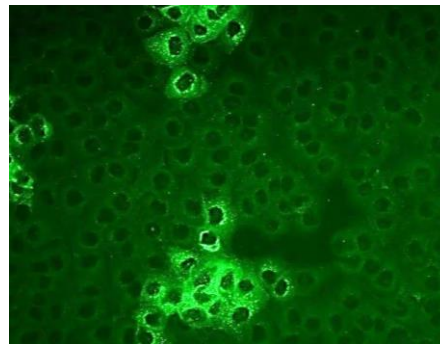
## Screening der 120 Kontaktpersonen (Fall in Essen)

**2 Kontakte positiv für MERS-CoV IgM (1:20)**

Kontakt

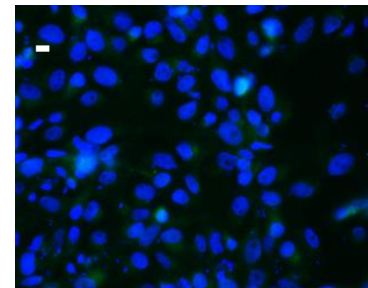


Patient

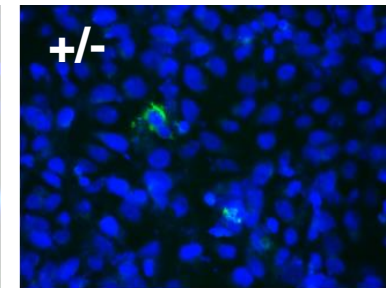


Kontakt 1 MERS-Spike

IgG



IgM



**Kontakt: Stark positive für NL63 (IgM) UND  
negative im MERS-CoV-Neutralisationstest**

**□ Kürzliche HCoV-NL63 Infektion: Keine MERS-CoV Infektion !**



# Ein “neues“ Virus !

## Aufgaben und Fragen:

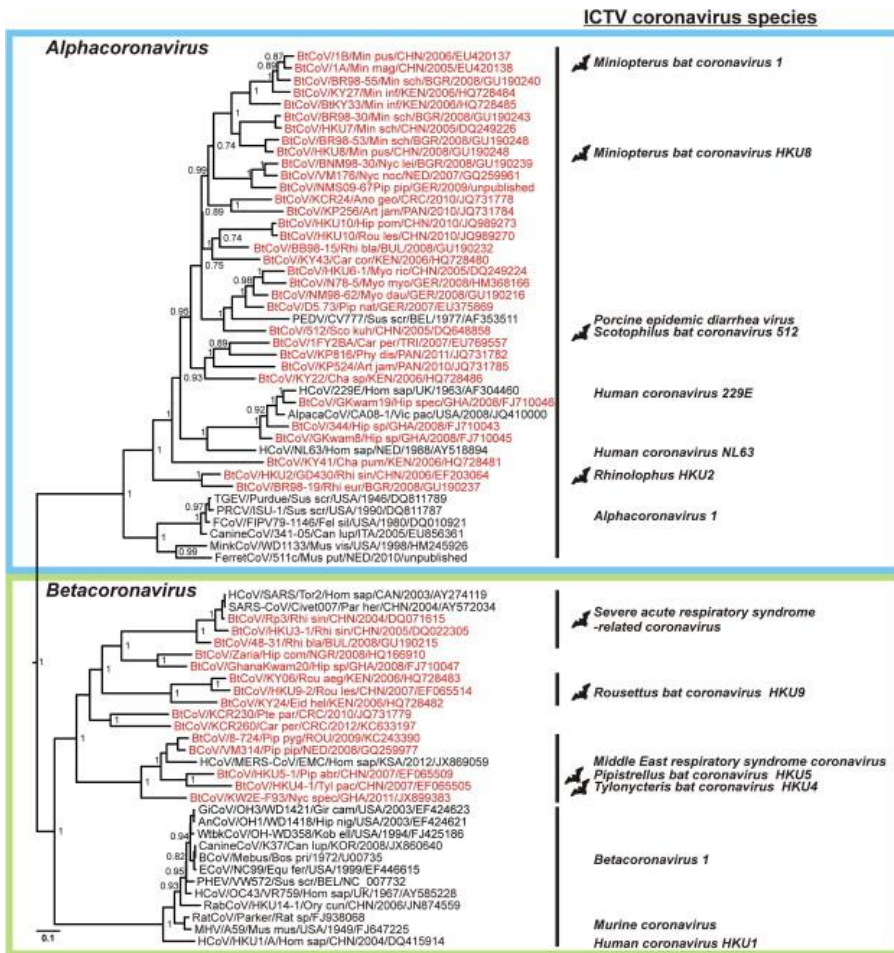
1. Diagnostik?

**2. Ansteckungsquellen?**

3. Transmission?

4. Intervention?

## Für viele CoV □ Vorläuferviren in Fledermäusen



EUROPA

AFRIKA

CHINA

AFRIKA

- BtCoV/VMM314/Pip pip/NEL/2008/GQ259977
- BtCoV/UKR-G17/Pip nat/UKR/2011/KC243392
- BtCoV/8-691/Pip nat/ROU/2009/KC243391
- BtCoV/8-724/Pip pyg/ROU/2009/KC243390
- MERS-CoV/Jordan-N3/Hom sap/JOR/2012/KC776174
- MERS-CoV/England 1/Hom sap/GBR/2012/KC164505
- MERS-CoV/EMC/Hom sap/KSA/2012/JX869059
- BtCoV/PML\_PHI/Neo zul/RSA/2012
- BtCoV/HKU5-2/Pip abr/CHN/2007/DQ249218
- BtCoV/HKU5-1/Pip abr/CHN/2007/EF065509
- BtCoV/133/Tyl pac/CHN/2005/DQ648794
- BtCoV/HKU4-1/Tyl pac/CHN/2007/EF065505
- BtCoV/KW2E-F93/Nyc spec/GHA/2011/JX899383
- BtCoV/KW2E-F53/Nyc spec/GHA/2011/JX899382

## Kontakt mit Fledermäusen? Selten !



**2013: 11/11 (100%)**



2013: 0/150 (0%)



2013: 0/91 (0%)



**2003: 151/151 (100%)**

**2013: 481/500 (96.2%)**



**2013: 50/50 (100%)**

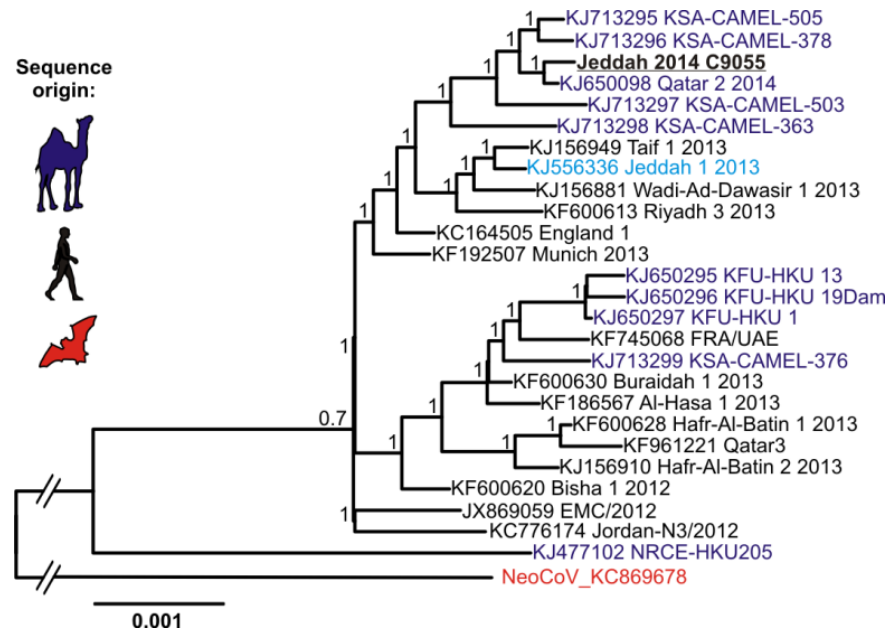


**MERS-CoV in Kamelen !**

## Isolation of MERS Coronavirus from Dromedary Camel, Qatar, 2014

V. Stalin Raj,<sup>1</sup> Elmoubasher A.B.A. Farag,<sup>1</sup> Chantal B.E.M. Reusken, Mart M. Lamers, Suzan D. Pas, Jolanda Voermans, Saskia L. Smits, Albert D.M.E. Osterhaus, Naema Al-Mawlawi, Hamad E. Al-Romaihi, Mohd M. AlHajri, Ahmed M. El-Sayed, Khaled A. Mohran, Hazem Ghobashy, Farhoud Alhajri, Mohamed Al-Thani, Salih A. Al-Marri, Mamdouh M. El-Maghraby, Marion P.G. Koopmans, and Bart L. Haagmans

Sequence origin:



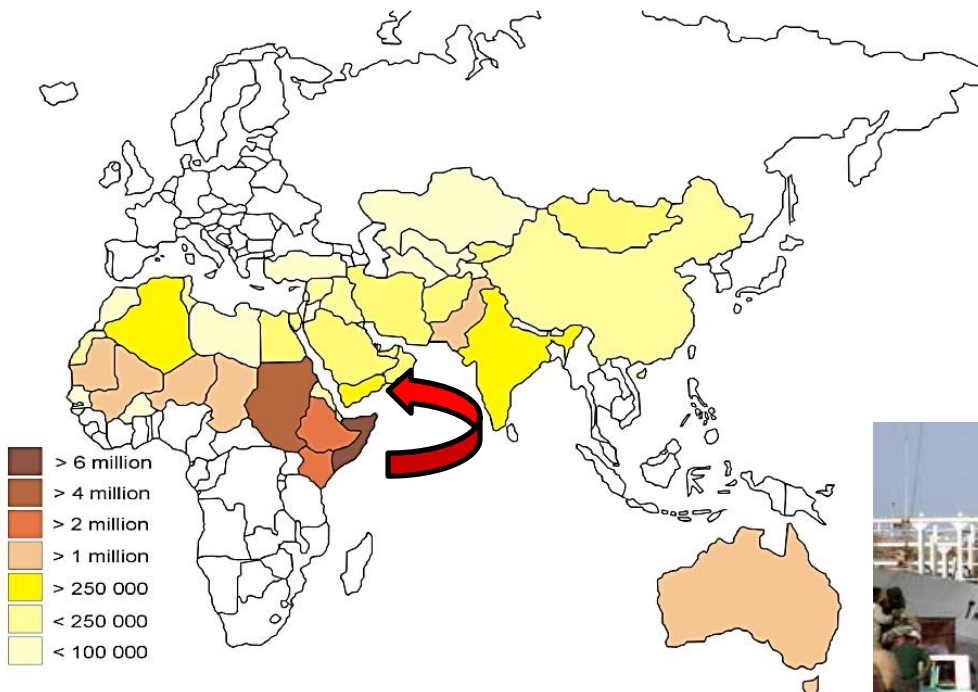
## Human Infection with MERS Coronavirus after Exposure to Infected Camels, Saudi Arabia, 2013

Ziad A. Memish, Matthew Cotten, Benjamin Meyer, Simon J. Watson, Abdullah J. Alsahafi, Abdullah A. Al Rabeeah, Victor Max Corman, Andrea Sieberg, Hatem Q. Makhdoom, Abdullah Assiri, Malaki Al Masri, Souhaib Aldabbagh, Berend-Jan Bosch, Martin Beer, Marcel A. Müller, Paul Kellam, and Christian Drosten

# junge Kamele !

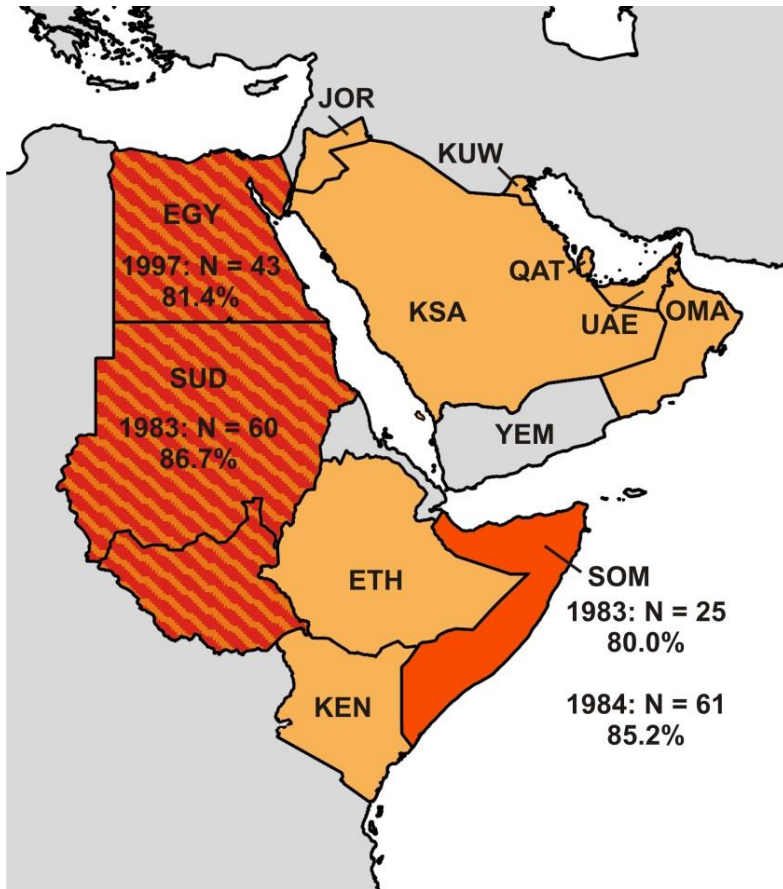
	Serum antibody detection by ELISA	RNA detection by RT-PCR (%)	Virus isolation
Adults, >4	298/310 (96.1)	0/250 (0)	0/12 (0)
Subadults, 2–4	328/340 (96.5)	10/344 (2.9)	1/14 (7.1)
Calves, <1	92/108 (85.2)	24/68 (35.3)	6/44 (13.6)

# Die meisten arabischen Kamele kommen aus Afrika:



Source: FAOSTAT 2013





- Hohe Seroprävalenzen auch in Kamelen aus Afrika!
- Seit min. 30 Jahren in Kamelen!

# Ein “neues“ Virus !

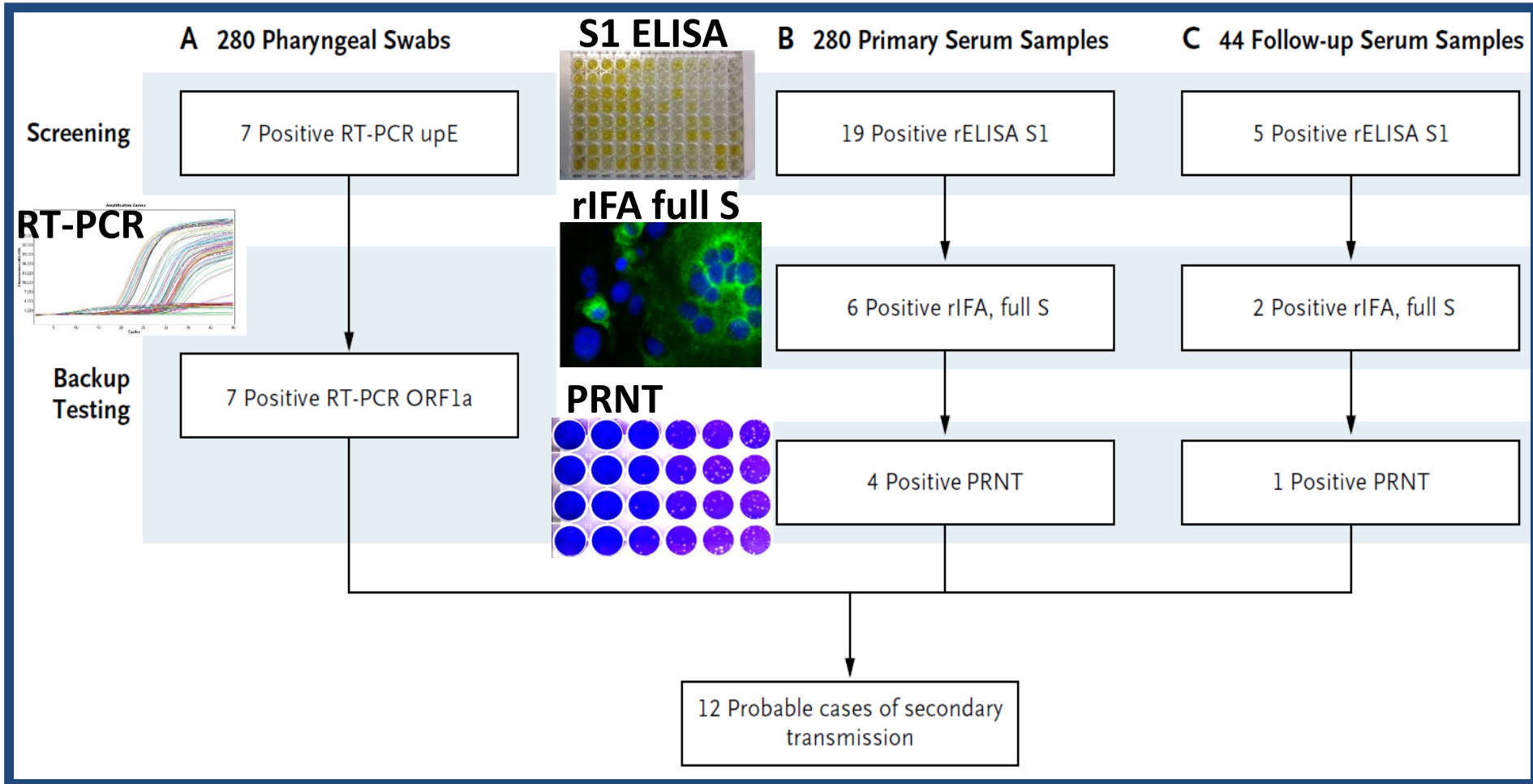
## Aufgaben und Fragen:

1. Diagnostik?
2. Ansteckungsquellen?
- 3. Transmission?**
4. Intervention?

**Gibt es effiziente Mensch zu  
Mensch Ansteckung?**



# Case contact study



**Bei 26 Index-Fälle gab es 12 Infektionen in 280 Kontakten (4%)  
(d.h.  $\sim R_0 < 0.5$ )**

# Gibt es viele unentdeckte evtl. asymptomatische Fälle?



Ministry of Health Riyadh

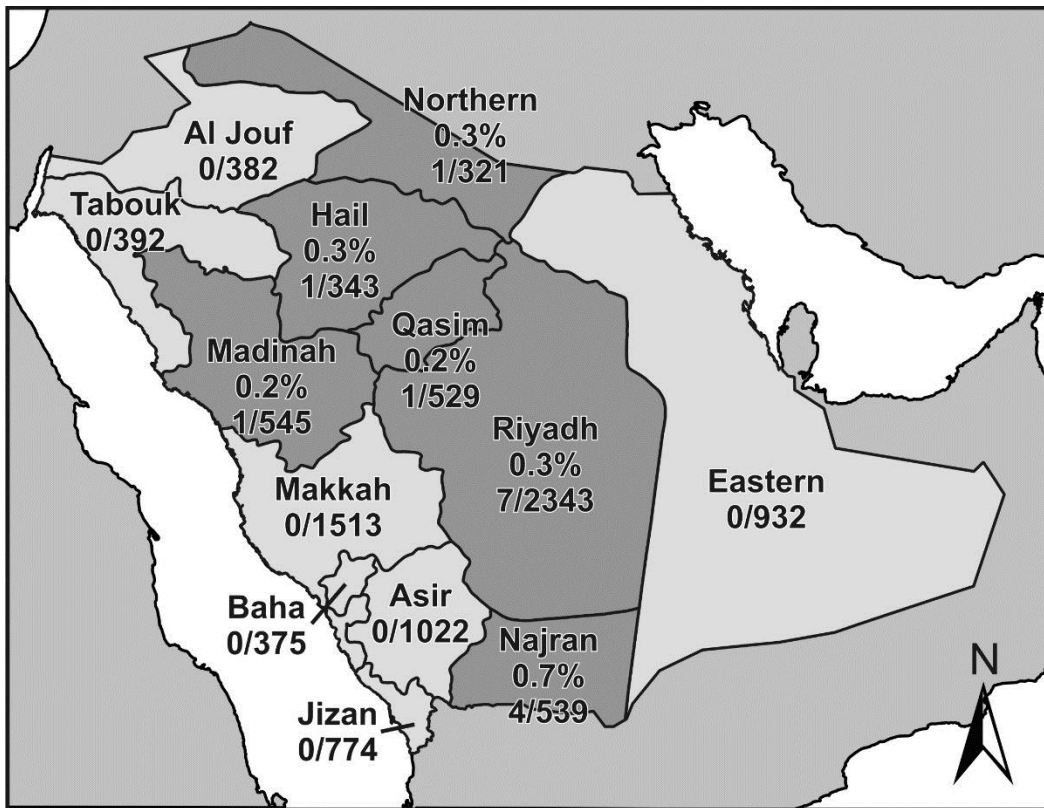


Regional lab Riyadh



## Serologiestudie in Saudi Arabien

# Studie in Saudi Arabien: >10,000 Blutproben aus allen 13 Regionen (Dezember 2012 bis Dezember 2013)



**0.15% der Individuen  
haben neutralisierende  
Antikörper gegen  
MERS-CoV**

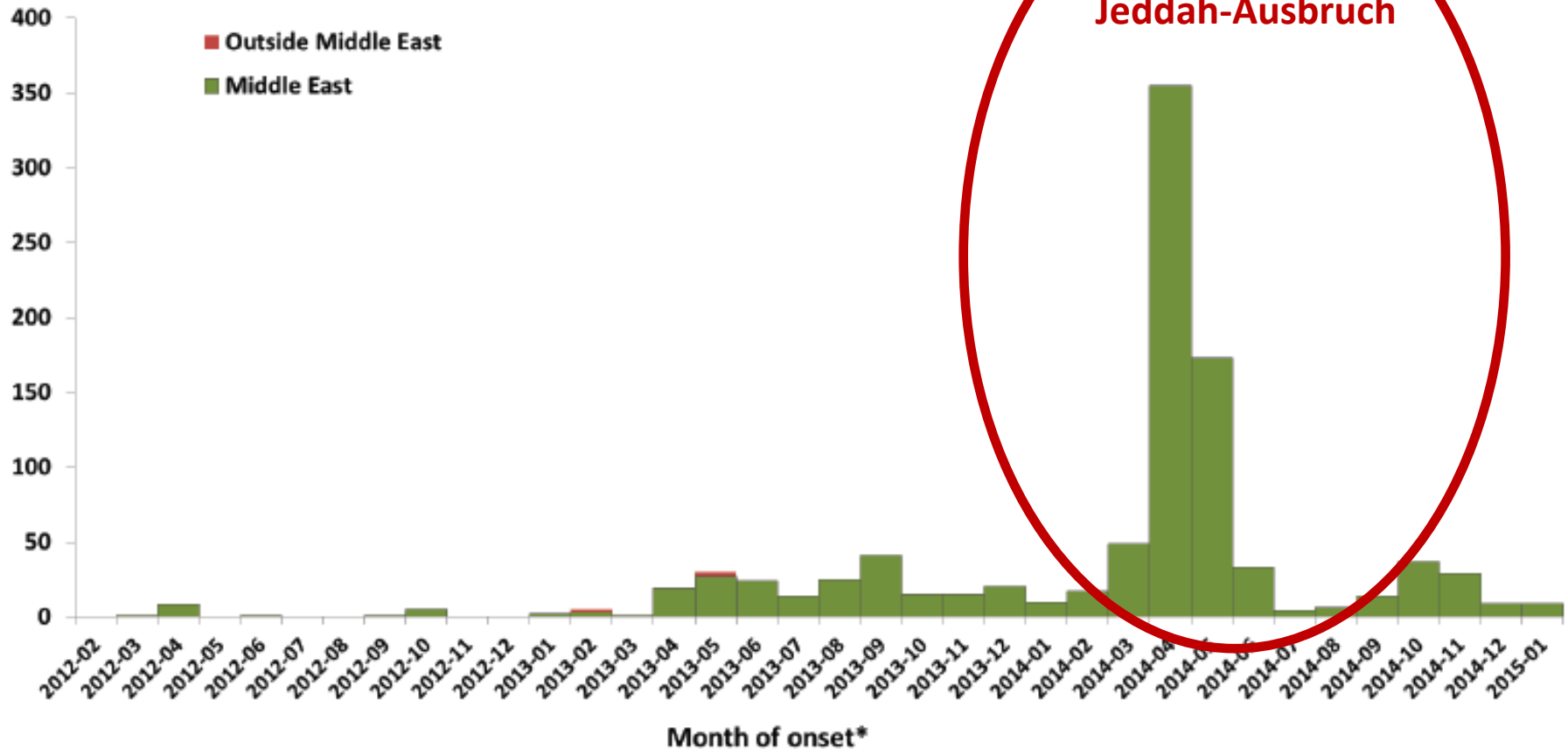
# Risikogruppen?

Gruppe	Jahr der Probennahme	Anzahl Individuen	MERS-CoV seropositiv N (%)
Normalbevölkerung	2012/2013	10,009	15 (0.15%)
Kamelhirten	2014	87	<b>2 (2.3%)</b>
Schlachter	2013	140	<b>5 (3.6%)</b>

**Mensch zu Mensch  
Ansteckung eher selten...**

# ...aber was ist Anfang 2014 passiert?

Number of cases





ALJAZEERA  
AMERICA

NEWS

OPINION

VIDEO

SHOWS

SCHEDULE

SECTIONS

U.S.

INTERNATIONAL

ECONOMY

TECHNOLOGY

SCIENCE

ENVIRONMENT

SPORTS

TRENDING

FLASHPOINT FERGUSON

LOW-WAGE WORKERS

SPECIAL COVERAGE

HEALTH

## 2 more expats die of MERS in Jeddah



TAKING NO CHANCES: Health officials inspect villagers who had contact with a man who died from the MERS virus in Batu Pahat, Johor, Malaysia. Malaysia has quarantined 15 people who came into contact with a man who died from MERS. (EPA)

FRONT PAGE

MERS kills two doctors in Jeddah

FABRICE COFFRINI / AFP / GETTY IMAGES

# Saudi Arabia announces 92 more MERS deaths, sacks deputy health minister

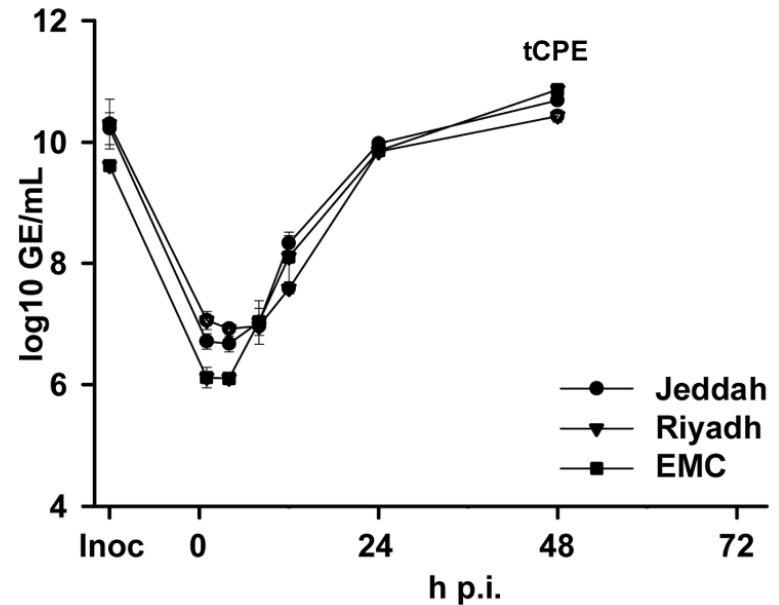
- Bessere Surveillance ?  **Nein**
- Laborartefakte ?  **Nein**
- Mehr Übertragung aus Kamelen ?  **Nein**
- **Mutiertes Virus ?**



- Sequenzierung
  - ORF1a/b
  - Spike, nucleocapsid
  - Accessory genes

Keine auffälligen  
Veränderungen

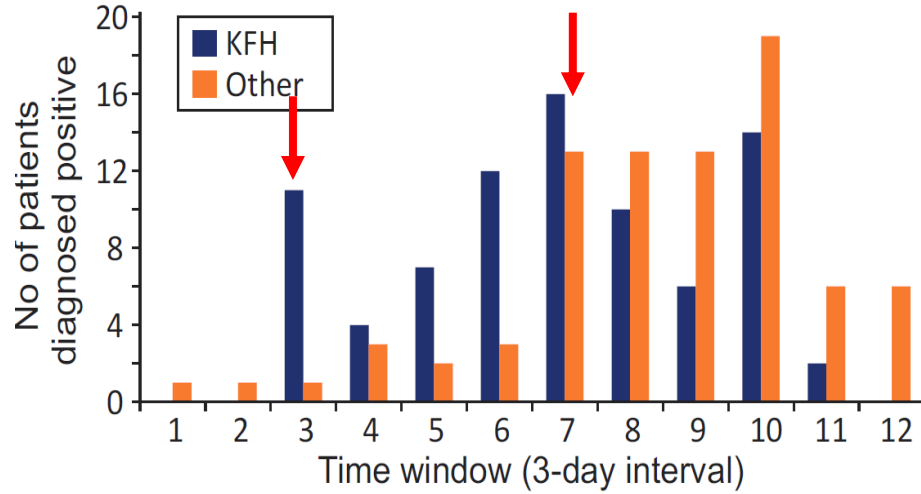
- Wachstum in Zellkultur



Keine Unterschiede in  
der Zellkultur

- Bessere Surveillance ?  **Nein**
- Laborartefakte ?  **Nein**
- Mehr Übertragung aus Kamelen ?  **Nein**
- Mutiertes Virus ?  **Nein**

# Krankenhausausbruch !



## King Fahd Hospital



# Ein “neues“ Virus !

## Aufgaben und Fragen:

1. Diagnostik?
2. Ansteckungsquellen?
3. Transmission?
- 4. Intervention?**

## Hygiene!

- In Krankenhäusern
- beim Umgang mit Kamelen

## Behandlung?

- Interferon und Ribavirin?
  - Klinischer Nutzen unklar

## Impfung?

- Erste Kandidaten entwickelt
- Kamele oder Menschen?



HEALTH ADVISORY: MERS

Middle East Respiratory Syndrome

Were you in the Middle East recently?

- Watch for fever with cough or difficulty breathing.
- If you get sick within 14 days of leaving, call a doctor.
- Tell the doctor you traveled.

www.cdc.gov/travel

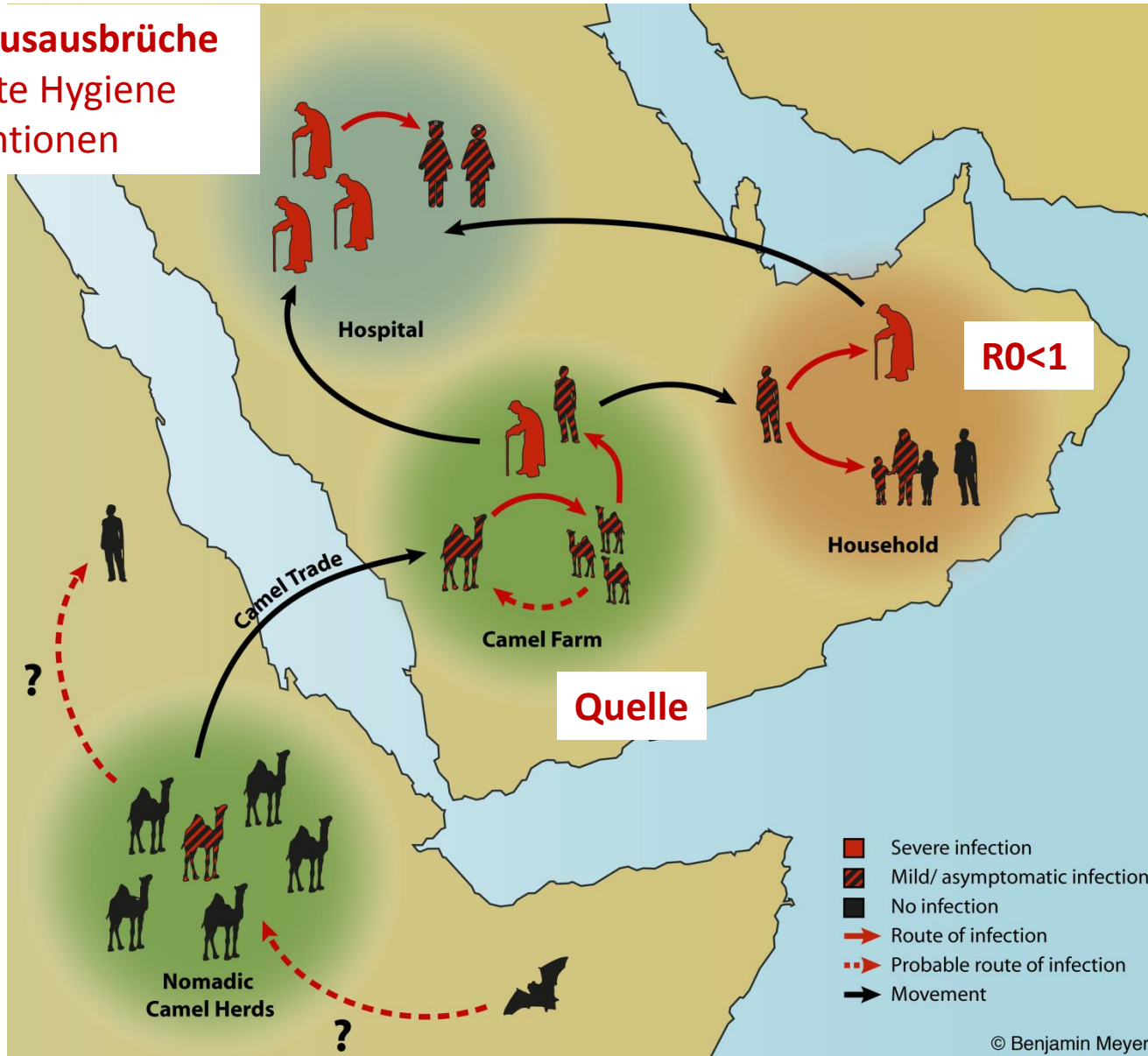


U.S. Department of Health and Human Services  
Centers for Disease Control and Prevention

**Bei Reiserückkehrern an MERS-CoV denken!**

## Krankenhausausbrüche

- Schlechte Hygiene
- Interventionen



Deutschland im März 2015:

Nach Urlaub in Abu Dhabi

zuletzt aktualisiert am 07.03.2015 um 19:02 Uhr

## Mann mit tödlichem Mers-Virus in Osnabrücker Marienhospital behandelt



FOCUS-MONEY FOCUS-TV FOCUS Familie FOCUS Magazin Heft-Abos ePaper Service Kleinanzeigen

**ONLINE FOCUS** Startseite Politik Finanzen Wissen Gesundheit Kultur Pan

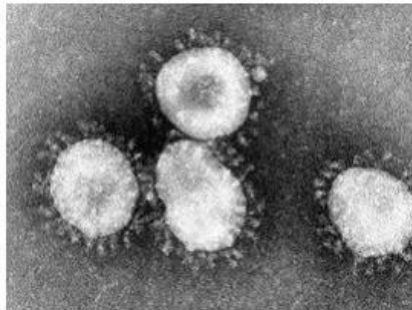
» News » Ratgeber » Gesund leben » Ernährung » Coaches » Schwangerschaft & Kinc

### Nach Rückkehr aus Abu Dhabi Deutscher an seltenem, tödlichen Mers-Virus erkrankt

Samstag, 07.03.2015, 17:37

Gefällt mir Teilen 31 Twittern G+1 Fehler

Anzeigen **Fußheberschwäche Ursache**  
Der Schlaganfall ist eine häufige Ursache der Fußheberschwäch  
[fussheberschwaech.de/Schlaganfall](http://fussheberschwaech.de/Schlaganfall)



In Osnabrück ist ein 65-jährig an dem tödlichen Mers-Virus es ist der dritte bekannte Fal Erkrankung in Deutschland. I war Anfang Februar von eine Urlaubsreise aus Abu Dhabi zurückgekehrt.

- 65-Jähriger hat tödliches Mers-Virus
- Mann erkrankte im Urlaub

Suche

DIE WELT

Home Politik Wirtschaft Geld Sport Wissen Panorama Feuilleton ICON Reise PS W

» Wissen » Gesundheit » Tödlicher Erreger: 100 Personen werden auf Mers-Virus getestet

DIE WELT 1 Jahr DIGITAL Komplett für nur 99,99 € statt

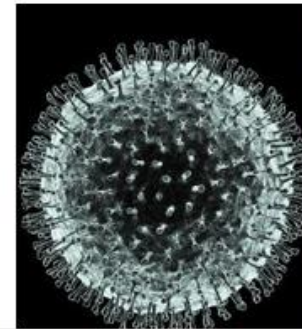
GESUNDHEIT TÖDLICHER ERREGER

## 100 Personen werden auf Mers-Virus getestet

Nach dem Urlaub folgt der Albtraum: Bei einem 65-Jährigen wird nach der Vereinigten Arabischen Emiraten das Coronavirus Mers diagnostiziert. Me weitere Mitreisende.

1 Empfehlen 0 Twittern 9 G+1 0

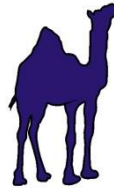
Von Thomas Strü



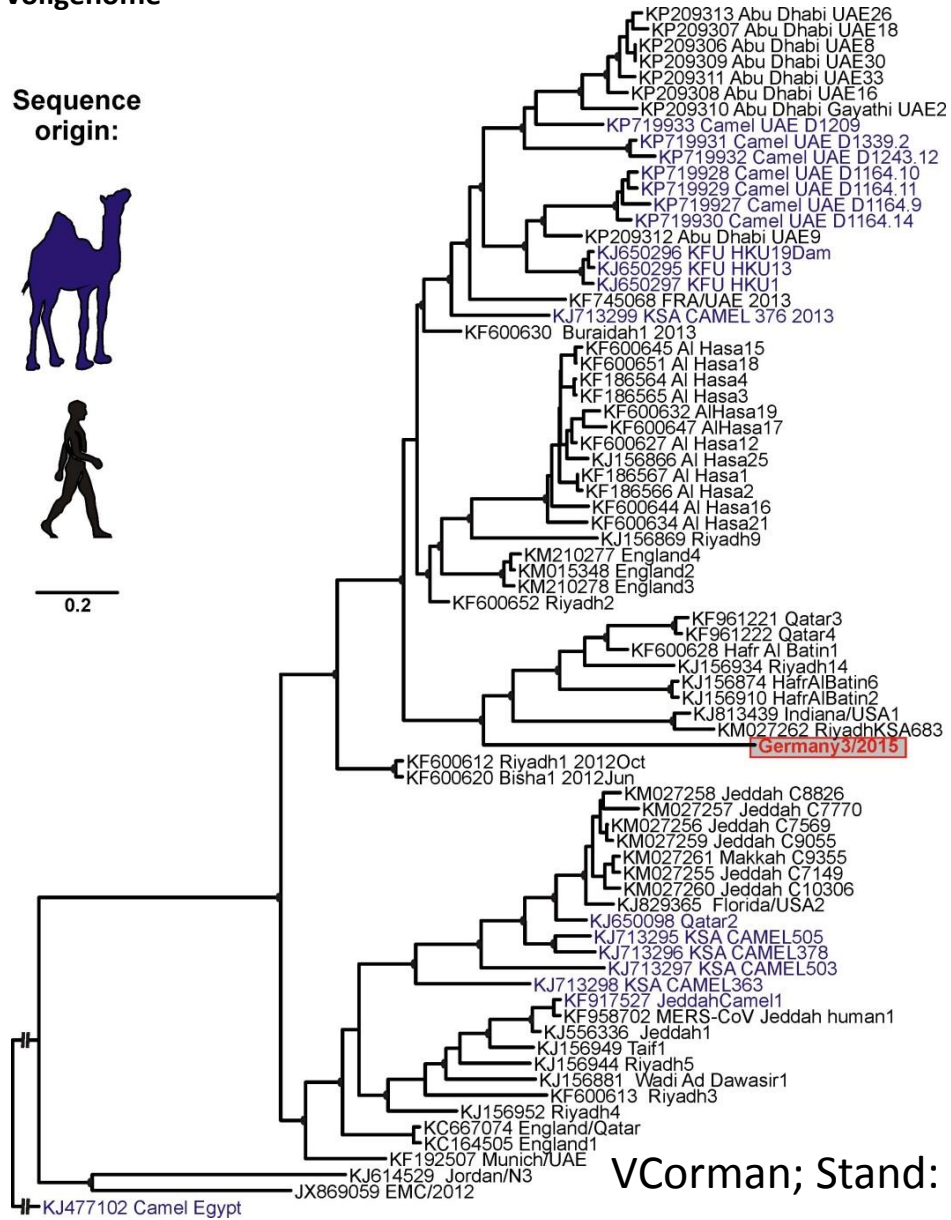
Wobel Business Sie un  
Jetzt Te  
Vodafone Power to  
MEIST

## Phylogenetische Analyse MERS-CoV Vollgenome

Sequence  
origin:



0.2





## Weitere Information zur MERS-CoV Diagnostik sind verfügbar über [www.virology-bonn.de](http://www.virology-bonn.de)

Konsiliarlabor für Coronaviren (Prof. Drosten, Bonn)

Startseite = Novel Coronavirus (MERS-CoV) Detection
Kontakt Anfahrt Impressum

Mitarbeiter/Staff Research Lehre Diagnostik Funding Geschichte Stellenangebote BMBF SARS Consortium DFG Priority Programme SPP 1596 Novel Coronavirus (MERS-CoV) Detection MERS-CoV (genome sequences) Influenza A (H7N9) Detection	<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 30%;"> <p><b>Novel human Coronavirus MERS-CoV</b></p> <p>As announced by the Coronavirus Study Group, we use the virus designation "MERS-CoV"</p> <p><b>Conventional Immunofluorescence assay (MERS-CoV):</b></p> <p><b>Materials:</b> MERS-CoV immunofluorescence slides with 12 inoculation fields (inactivated) The DM5 coverslips PBS Tween20 EUROIMMUN sample buffer (ready contains a blocking solution) Cy3-conjugated anti-MERS-CoV antibody (1:4) for 30 minutes and look-look solution (see below) (step 11) for 10 minutes Preparations: Prepare PBS with Tween20 detergent and mix thoroughly before use. (PBS-T can be stored at 4°C for max. 1 week). Serum dilutions should be used at the same day.</p> <p><b>Procedure:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Slide human sera (25 µl per spot) in dilutions 1:10 and 1:100 in sample buffer (for screening purposes)</li> <li>2. Apply the 25 µl serum dilutions directly to the spots</li> <li>3. incubate at 37°C for 1 h in a humid chamber</li> <li>4. Rinse the slides with PBS-Tween 0.1% (PBS-T, see preparations) and additionally wash 3 times for 5 minutes with PBS-T in a glass cuvette on a rocking shaker</li> <li>5. Dry edges of slides with a piece of paper (Please do not touch the inoculation fields)</li> <li>6. Prepare the Cy3-conjugated anti-MERS-CoV antibody (ready to use) (antibody in a glycerol) and make a 1:100 dilution in PBS.</li> <li>7. Add 25 µl human conjugate per field (goat-anti human immunoglobulin labeled with Cy3)</li> <li>8. incubate at 37°C for 30 minutes in a humid chamber</li> <li>9. Rinse with PBS-T and wash 3 times with PBS-T for 5 minutes on a rocking shaker</li> </ol> </div> <div style="width: 60%;"> <p><b>Example of MERS-CoV (hCoV-EMC2012) antibody-positive serum samples using slides (DAPI stained nuclei).</b></p> <p><b>Reactivity with hCoV-EMC2012</b></p> <p><b>Cross-reactivity test with SARS-CoV</b></p> <p><b>References:</b> CormanMüller et al., Eurosurveillance, Volume 17, Issue 49, 6 December 2012</p> </div> </div>
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

**upE assay and ORF1b assay**

**upE assay and ORF1b assay**

**Example of MERS-CoV (hCoV-EMC2012) antibody-positive serum samples using slides (DAPI stained nuclei).**

Material	Final Vol. µl	Order
5.0 (10x) (see text)	2.0	95°C 20'
MycD (10x) (see text)	0.4	94°C 3'
2x Fast-Buffer	0.8	94°C 3'
ESB (1 mg/ml)**	1	54°C 15'
Fast primer (10 µM)	1	58°C 30'
Rev primer (10 µM)	1	40°C 30'
COINTECH-Buffer*	1	* + intravertebral; * - in control
Template RNA	20	

**References:**  
CormanMüller et al., Eurosurveillance, Volume 17, Issue 49, 6 December 2012

**Primer**

**upE assay and ORF1b assay**

**Example of MERS-CoV (hCoV-EMC2012) antibody-positive serum samples using slides (DAPI stained nuclei).**

**References:**  
CormanMüller et al., Eurosurveillance, Volume 17, Issue 49, 6 December 2012

**RdRpSeq assay**

**References:**  
CormanMüller et al., Eurosurveillance, Volume 17, Issue 49, 6 December 2012

**NSeq assay**

**References:**  
CormanMüller et al., Eurosurveillance, Volume 17, Issue 49, 6 December 2012