



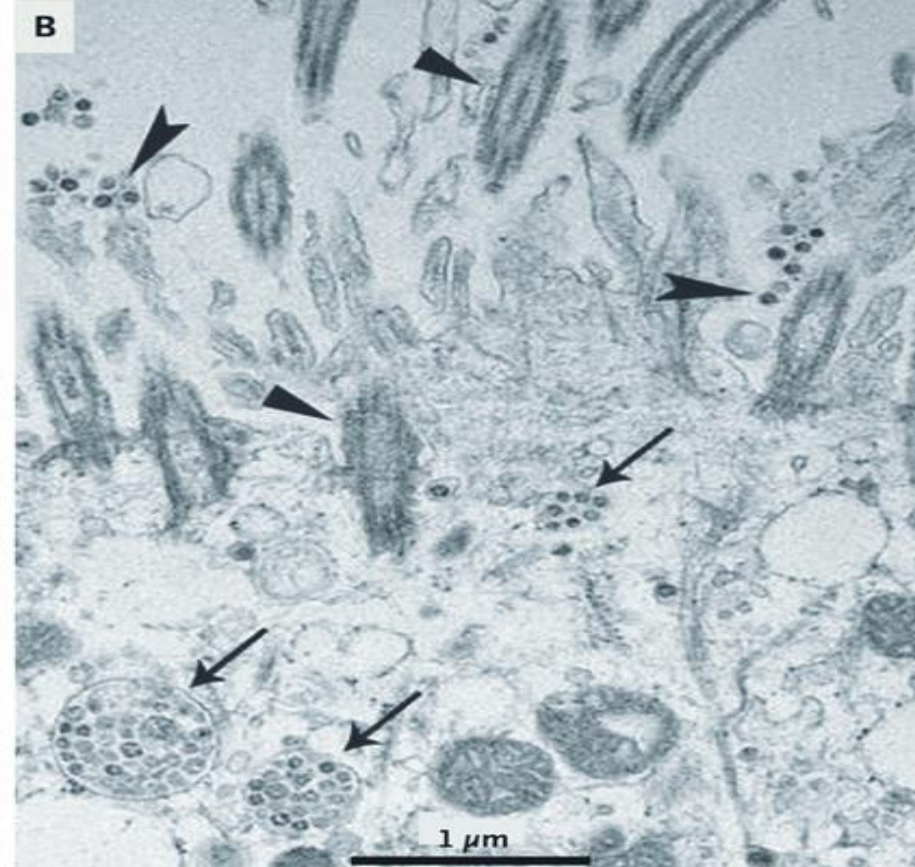
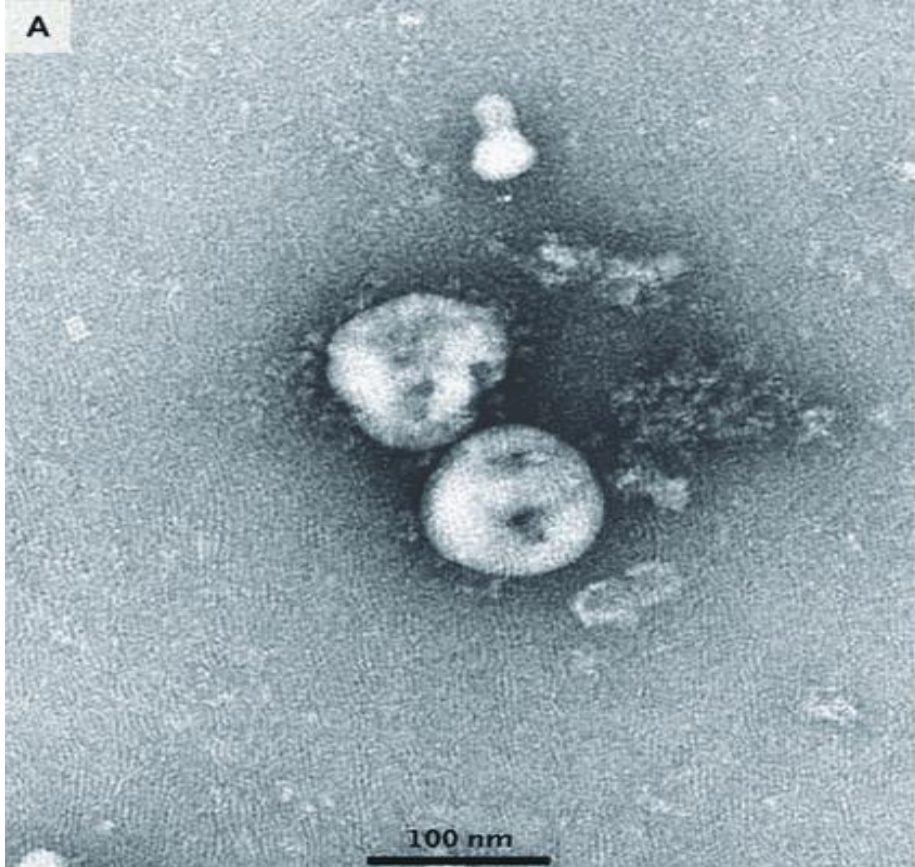
Evaluarea testării microbiologice și aspecte imunologice în COVID-19

Mariana Ulinici

Asistent universitar, Departamentul Medicină Preventivă, Disciplina microbiologie și imunologie
Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu"



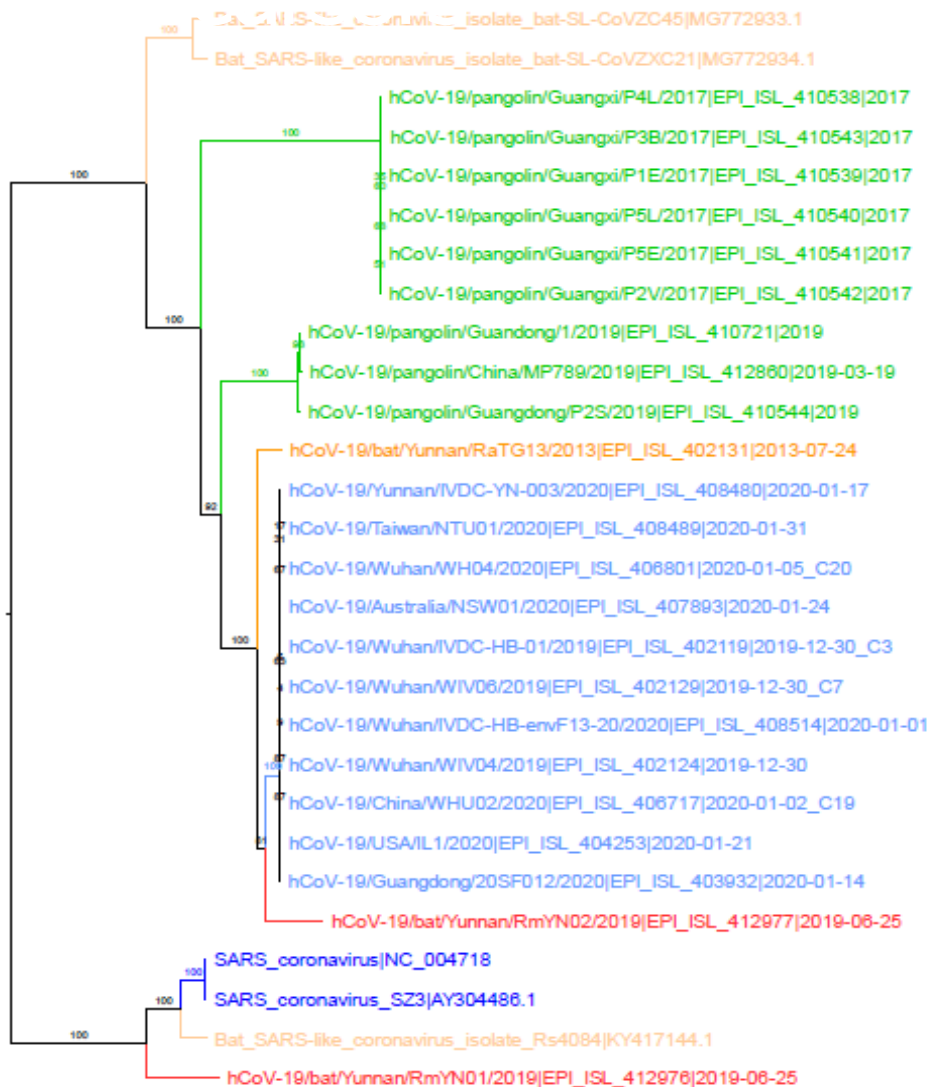
Prima identificare a virusului SARS-CoV-2



Vizualizarea 2019-nCoV cu microscopie electronică de transmisie



Arborele genomului complet al hCoV-19



- New nearest bat precursor from Yunnan 2019 (high identity in Orf1ab, greatest difference in Spike protein, recombination or mixed viruses in metagenomic sample, not yet peer-reviewed)
- Nearest pangolin precursors from Guangdong (Southern China)
- Previous closest bat precursor also from Yunnan (Southern China) but sample from 2013

Light Orange ... previous bat CoVs
 Orange ... previous closest bat precursor (Yunnan 2013)
 Red ... new bat CoVs (Yunnan 2019)
 Light blue ... hCoV-19 2019-2020
 Green ... pangolin CoV (Southern China 2019)
 Blue ... SARS CoV

We gratefully acknowledge the Authors from Originating and Submitting laboratories of sequence data on which the analysis is based.

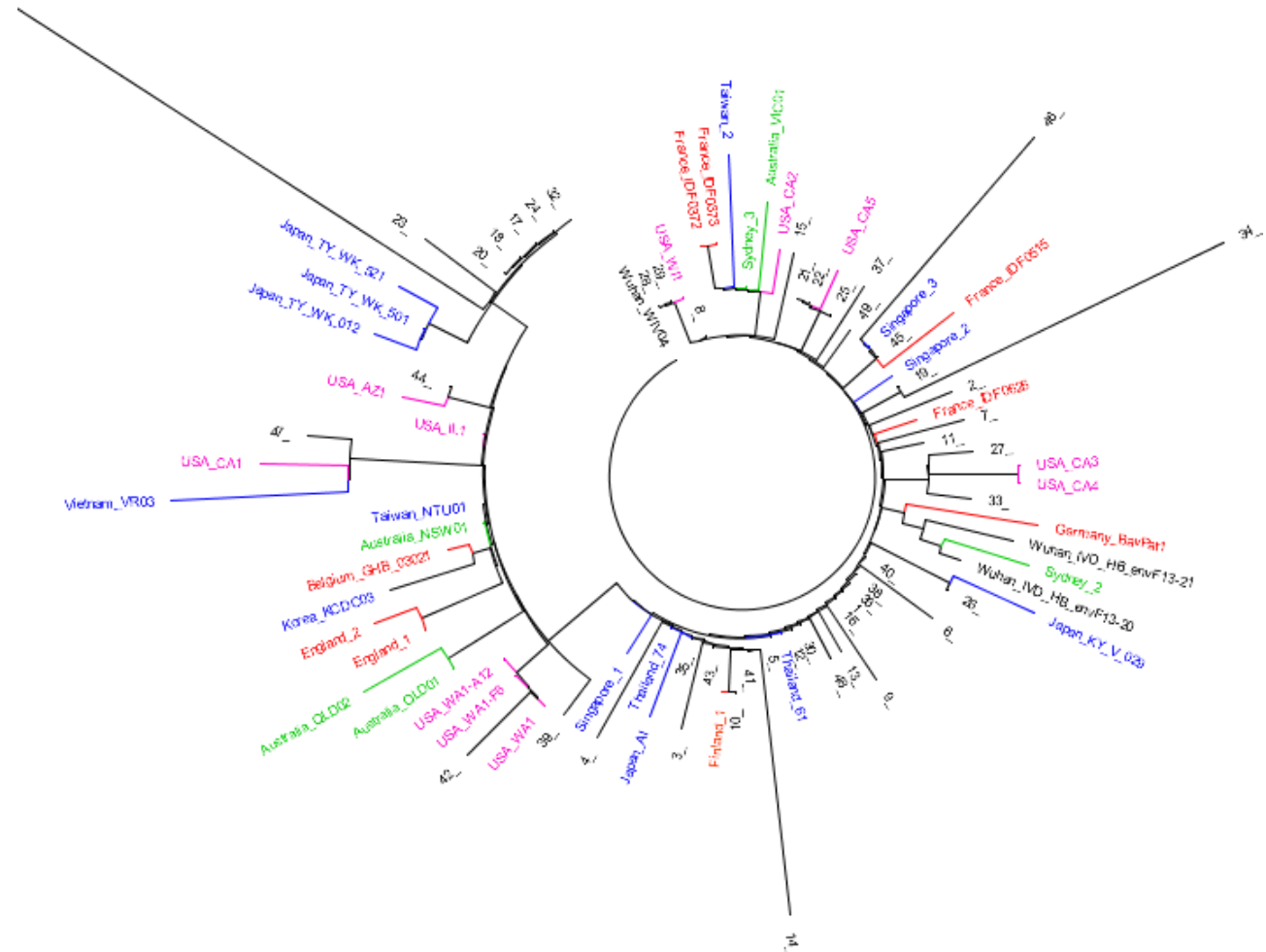




Virusul (emergența)



• 11-2-2020



We gratefully acknowledge the Authors from Originating and Submitting laboratories of sequence data on which the analysis is based.





Virusul (difuzie)

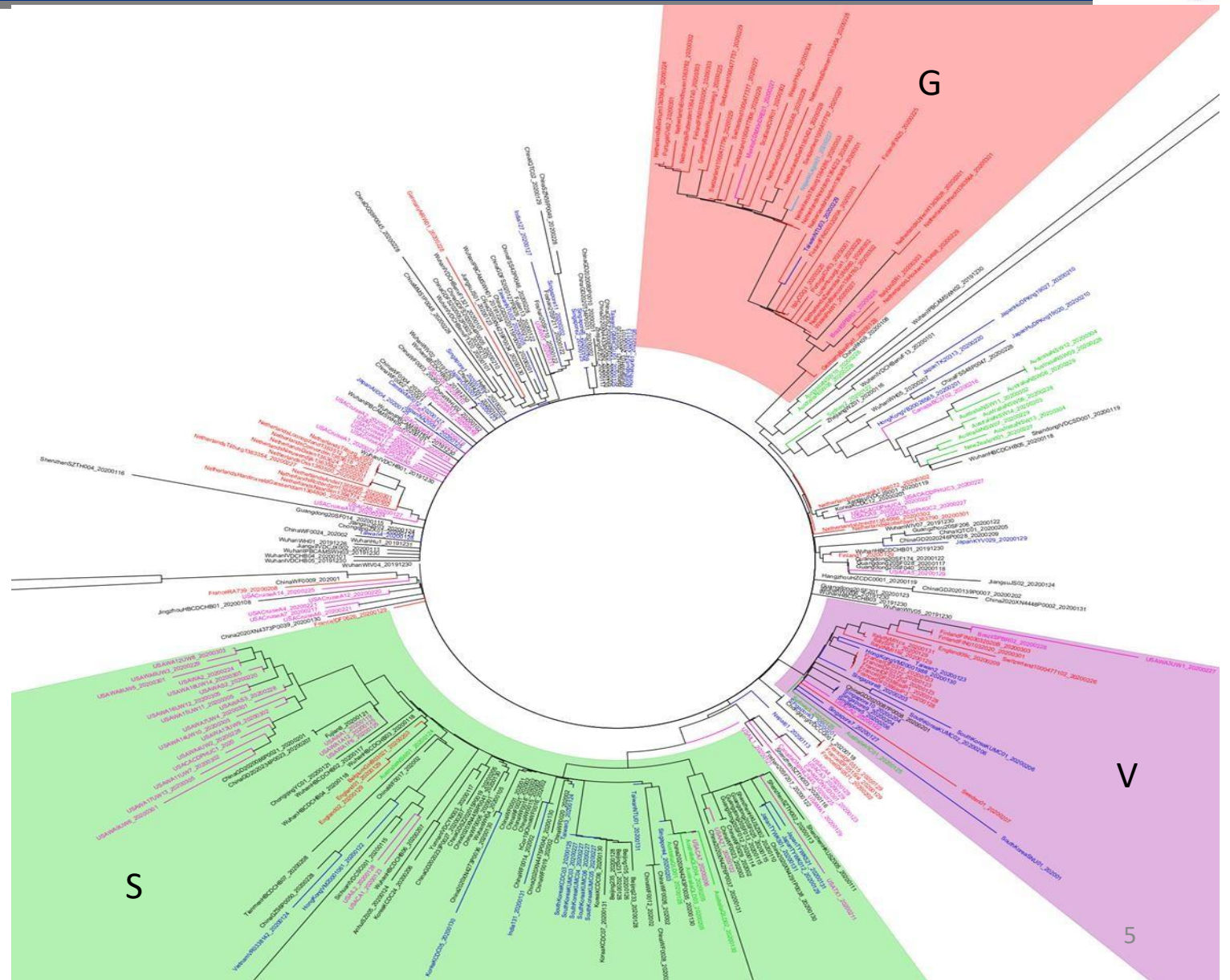


• 10-3-20

We gratefully acknowledge the Authors from Originating and Submitting laboratories of sequence data on which the analysis is based.



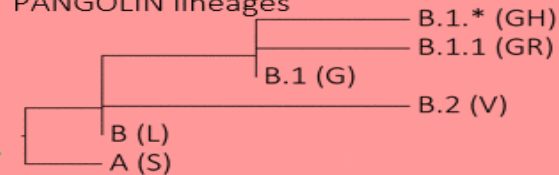
04/09/2020



Larger clades in GISAID were named in context of marker variants relative to WIV04-reference:

S C8782T,T28144C NS8-L84S
 L C241,C3037,A23403,C8782,G11083,G25563,G26144,T28144,G28882 (WIV04-reference)
 V G11083T,G26144T NSP6-L37F + NS3-G251V
 G C241T,C3037T,A23403G S-D614G
 GH C241T,C3037T,A23403G,G25563T S-D614G + NS3-Q57H
 GR C241T,C3037T,A23403G,G28882A S-D614G + NS3-G204R

PANGOLIN lineages

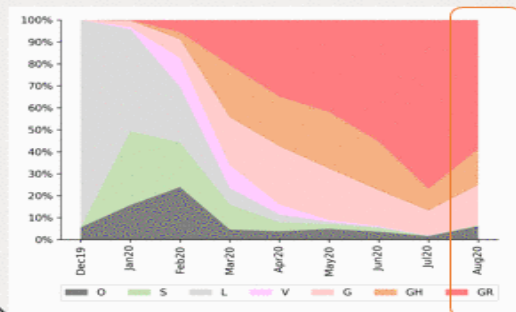


Full genome tree derived from all outbreak sequences 2020-08-28

Melbourne outbreak with Spike S477N

GR

Variable, small sample size



L

S

V

G

GH

Notable changes:

83,387 full genomes (+5,427) (excluding low coverage, out of 90,027 entries)

Updated clades:

- S clade 5,290 (+169)
- L clade 3,923 (+54)
- V clade 4,727 (+84)
- G clade 18,382 (+281)
- GR clade 29,059 (+4295)
- GH clade 18,297 (+447)
- Other clades 3,658 (+97)

We gratefully acknowledge the Authors from Originating and Submitting laboratories of sequence data on which the analysis is based.



by BII/GIS, A*STAR Singapore

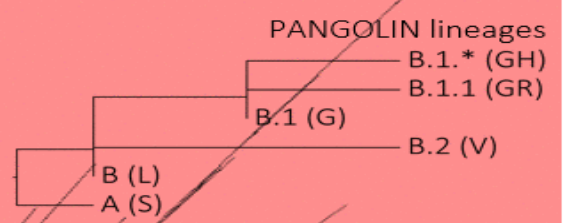
Neighbor-joining tree with rapidNJ visualized in FigTree.

Blue: new from Asia
 Green: new from Oceania
 Magenta: new from Americas
 Red: new from Europe
 Yellow: new from Africa
 Black: from previous updates

04/09/2020

Larger clades in GISAID were named in context of marker variants relative to WIV04-reference:

S	C8782T, T28144C	NS8-L84S	
L	C241T, C3037T, A23403G, C8782T	G11083G, G25563G, G26144T, T28144C, G28882T	(WIV04-reference)
V	G11083T, G26144T	NS5F-L37F + NS3-G251V	
G	C241T, C3037T, A23403G	S-D614G	
GH	C241T, C3037T, A23403G, G25563T	S-D614G + NS8-L057P	
GR	C241T, C3037T, A23403G, G28882A	S-D614G + N-G204R	



Full genome tree derived from all outbreak sequences 2020-09-01

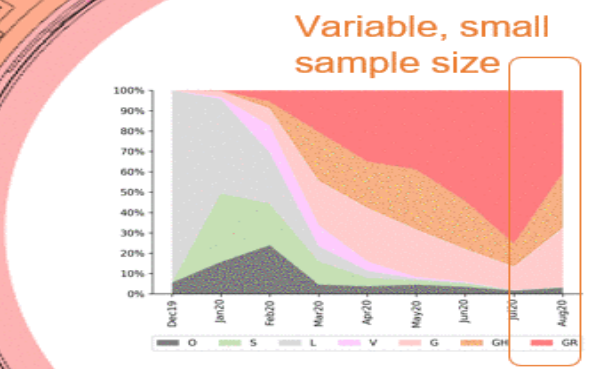
Notable changes:

85,759 full genomes (+2,378) (excluding low coverage, out of 92,560 entries) (1 temporarily removed for updating)

Updated clades:

- S clade 5,326 (+36)
- L clade 3,975 (+52)
- V clade 4,755 (+28)
- G clade 18,946 (+565)
- GR clade 29,562 (+503)
- GH clade 19,464 (+1167)
- Other clades 36,85 (+27)

We gratefully acknowledge the Authors from Originating and Submitting laboratories of sequence data on which the analysis is based.



GH

Blue: new from Asia
 Green: new from Oceania
 Magenta: new from Americas
 Red: new from Europe
 Yellow: new from Africa
 Black: from previous updates

Neighbor-Joining tree with rapidNJ visualized in FigTree.



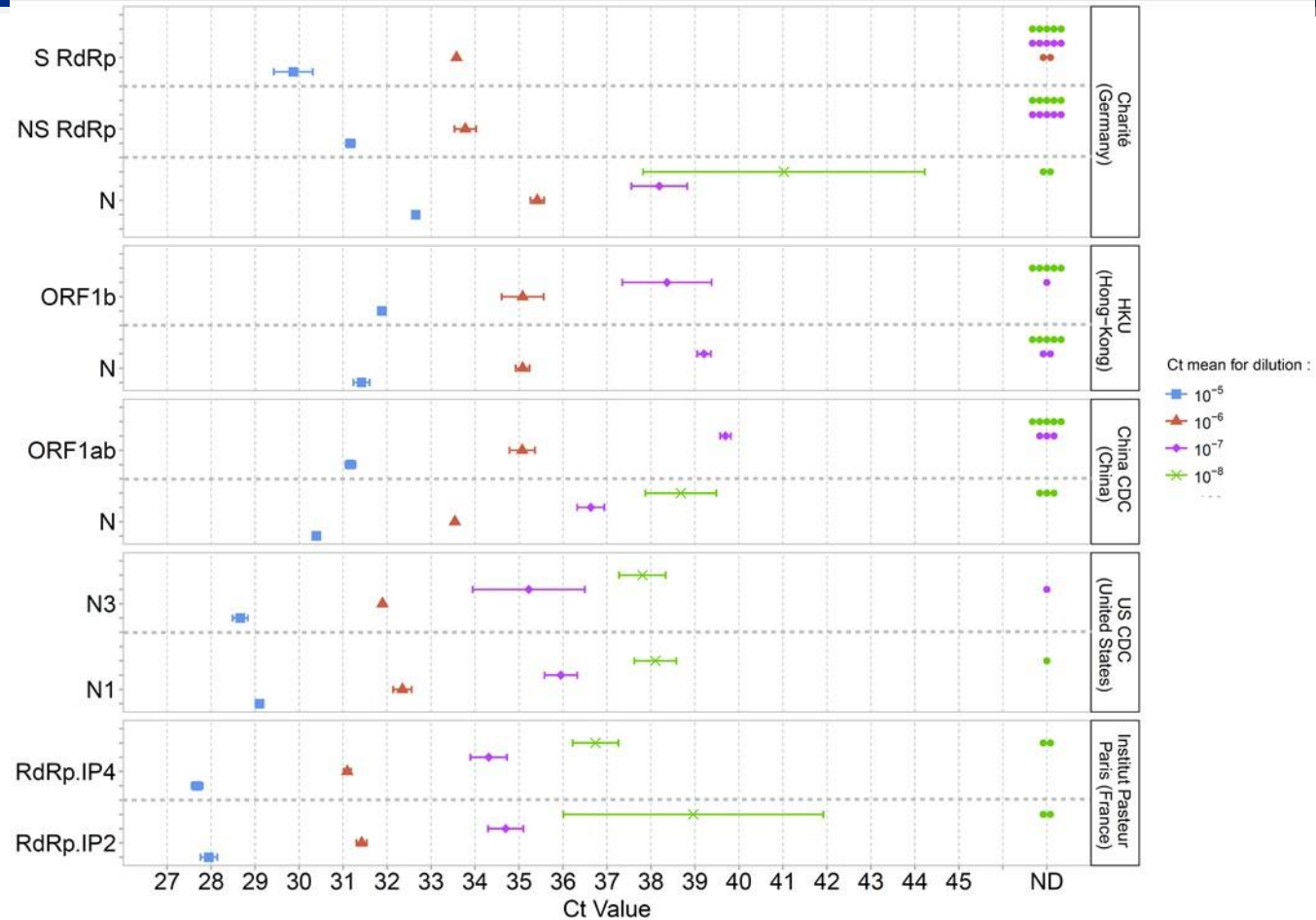
Testarea pentru SARS-CoV-2



- Dinamica virusului
- Răspunsul imun la infecție



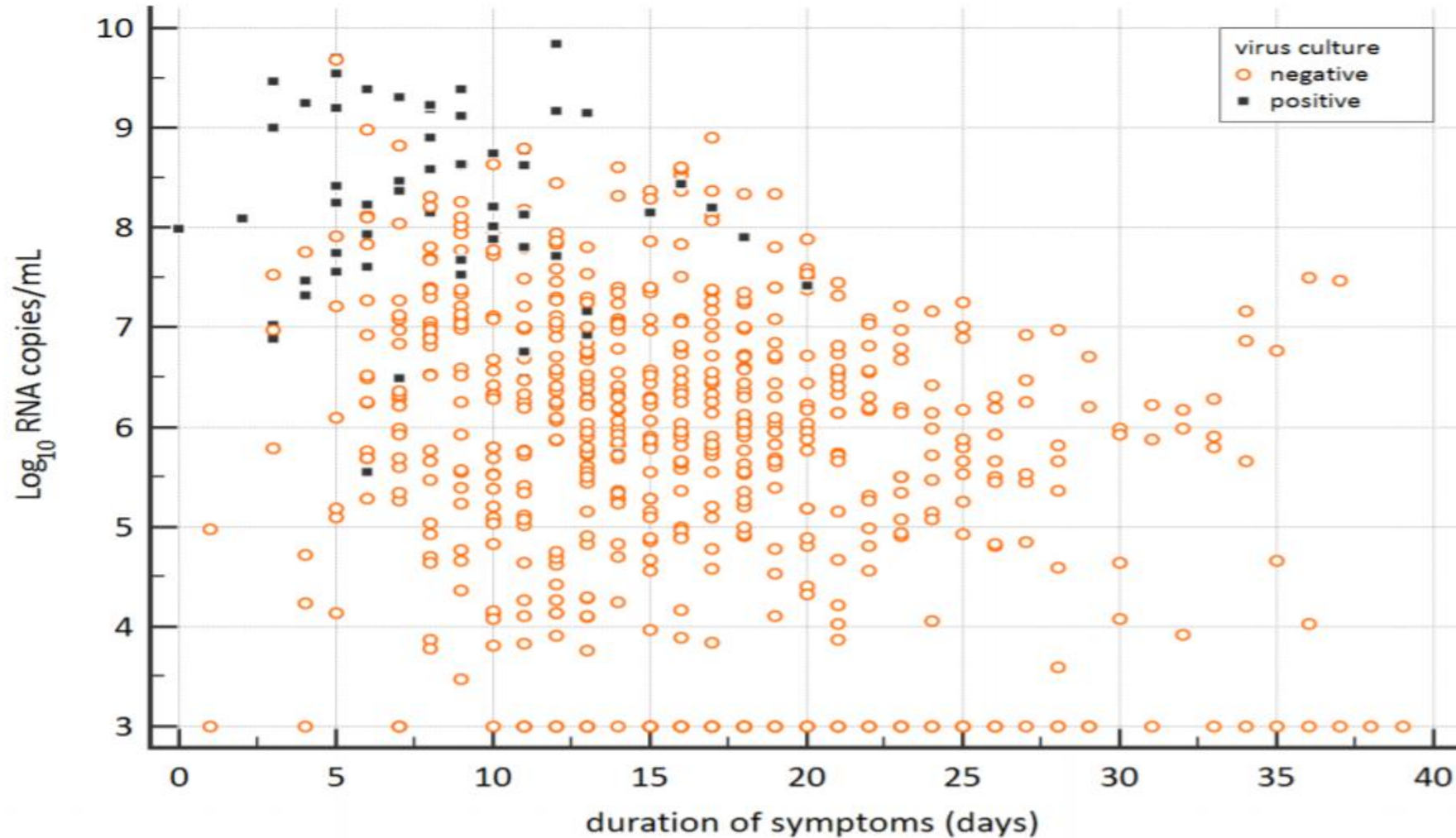
Performanța testelor RT-PCR



Mean Ct values and standard deviations obtained using five PCR-based methods for SARS-CoV-2 detection. Serial dilutions of SARS-CoV-2 cell culture supernatants were used and are represented by a single colour (10⁻⁵ blue, 10⁻⁶ red, 10⁻⁷ pink, 10⁻⁸ green). A point in the ND (non-detected) column (Ct value axis) indicates a negative result for one replicate.

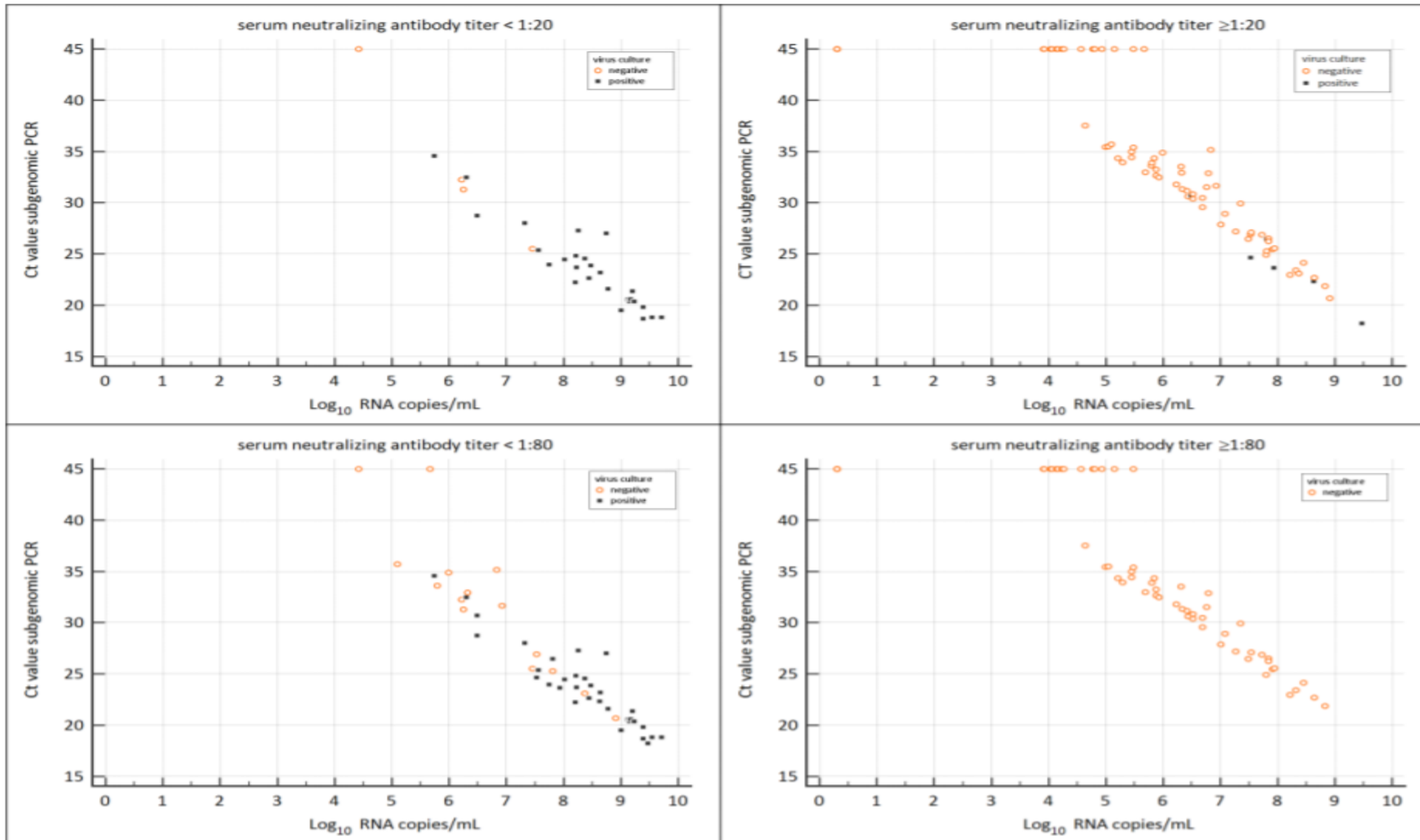


Detectarea virusului în probele respiratorii





Durata răspândirii virusului (infecțiozitate)





Dinamica virusului – “*Take home message*”



- ❑ Există o corelație slabă între detectarea ARN-ului viral și eliminarea particulelor virale infecțioase. ARN-ul viral este sintetizat numai în celule infectate în mod activ și nu este asamblat în virioni.
- ❑ Particule de ARN viral pot fi încă detectate chiar și atunci când rezultatele cultivării virusului sunt negative. Acest lucru ar putea indica faptul că replicarea activă continuă la pacienții cu forme severe de COVID-19 chiar și după seroconversie și după ce eliminarea particulelor virale infecțioase s-a oprit.
- ❑ Posibil, sunt produși virioni infecțioși, dar aceștia sunt neutralizați direct de anticorpul din tractul respirator.
- ❑ Timpul de înjumătățire al ARN-urilor subgenomice virale nu este cunoscut în COVID-19 și aceste ARN-uri pot fi detectate în continuare după oprirea replicării.

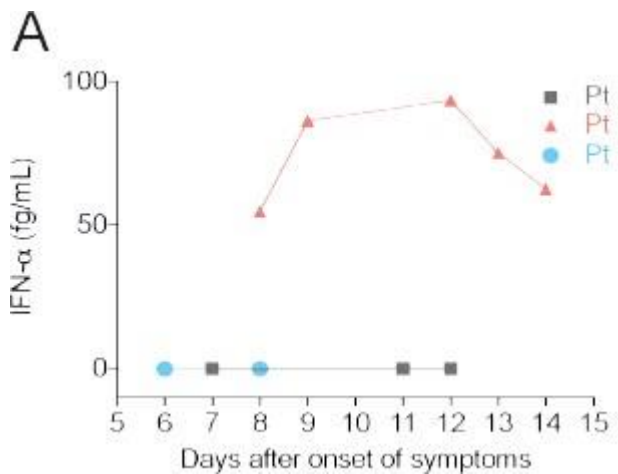


Răspunsul imun la infecție





Răspuns imun înnăscut



Troullet-Assant S et al, JACI 2020

Formes graves

04/09/2020

Zhou F et al , Lancet 2020

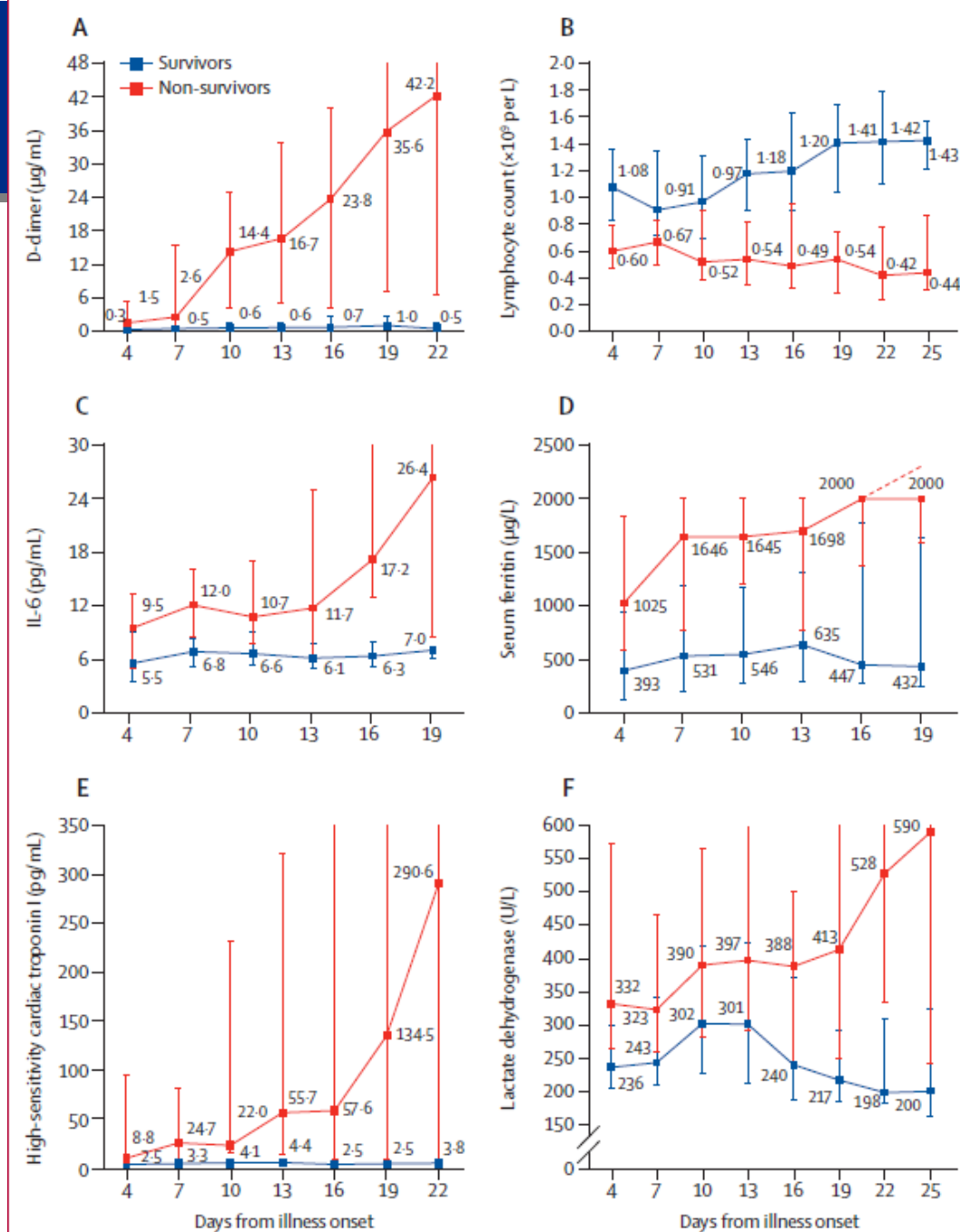
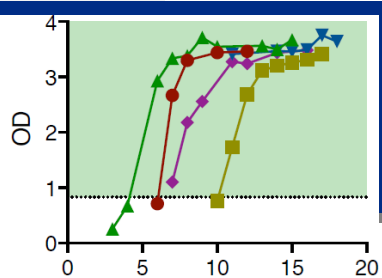


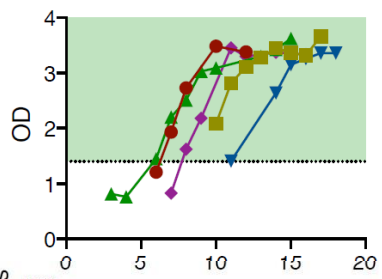
Figure 2: Temporal changes in laboratory markers from illness onset in patients hospitalized with COVID-19



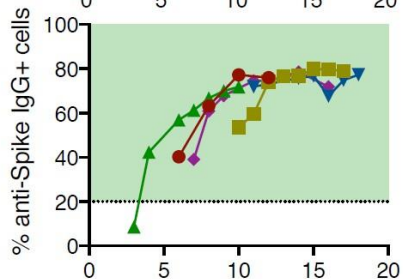
ELISA N



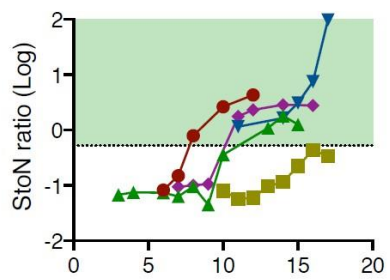
ELISA tri-S



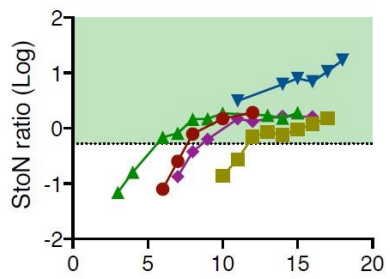
S-Flow



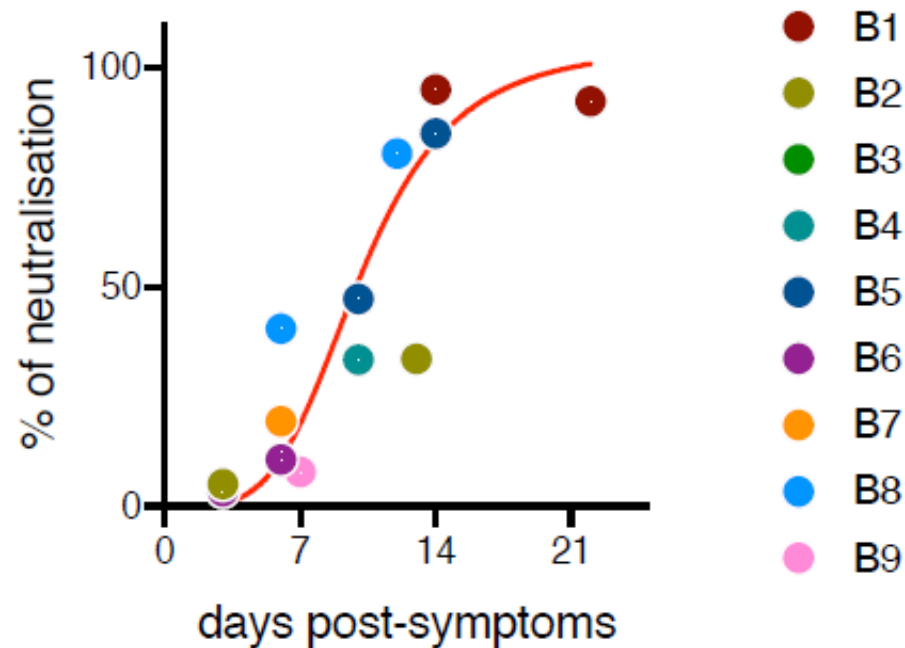
LIPS S1



LIPS N

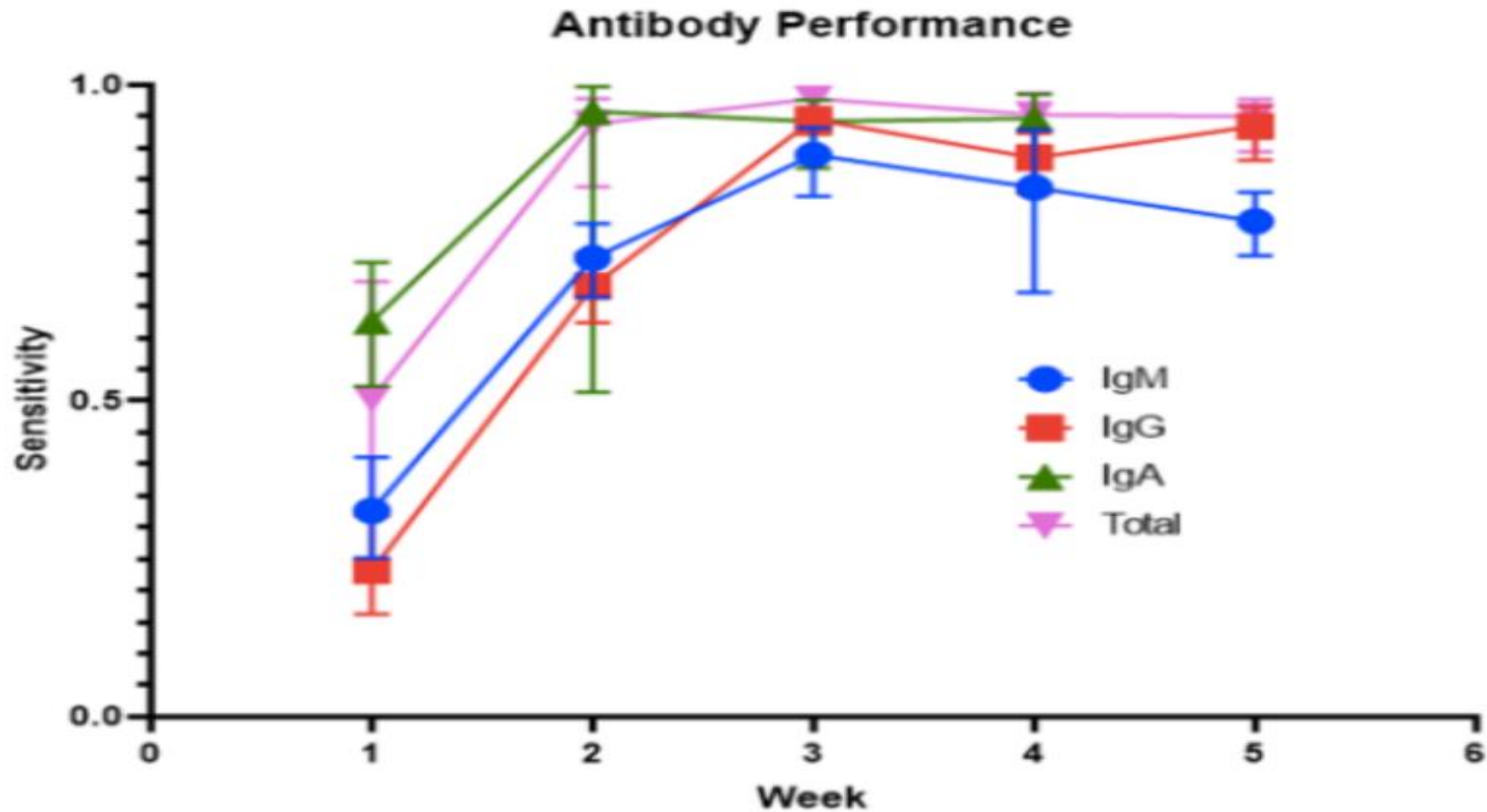


Serologie - primul set de date





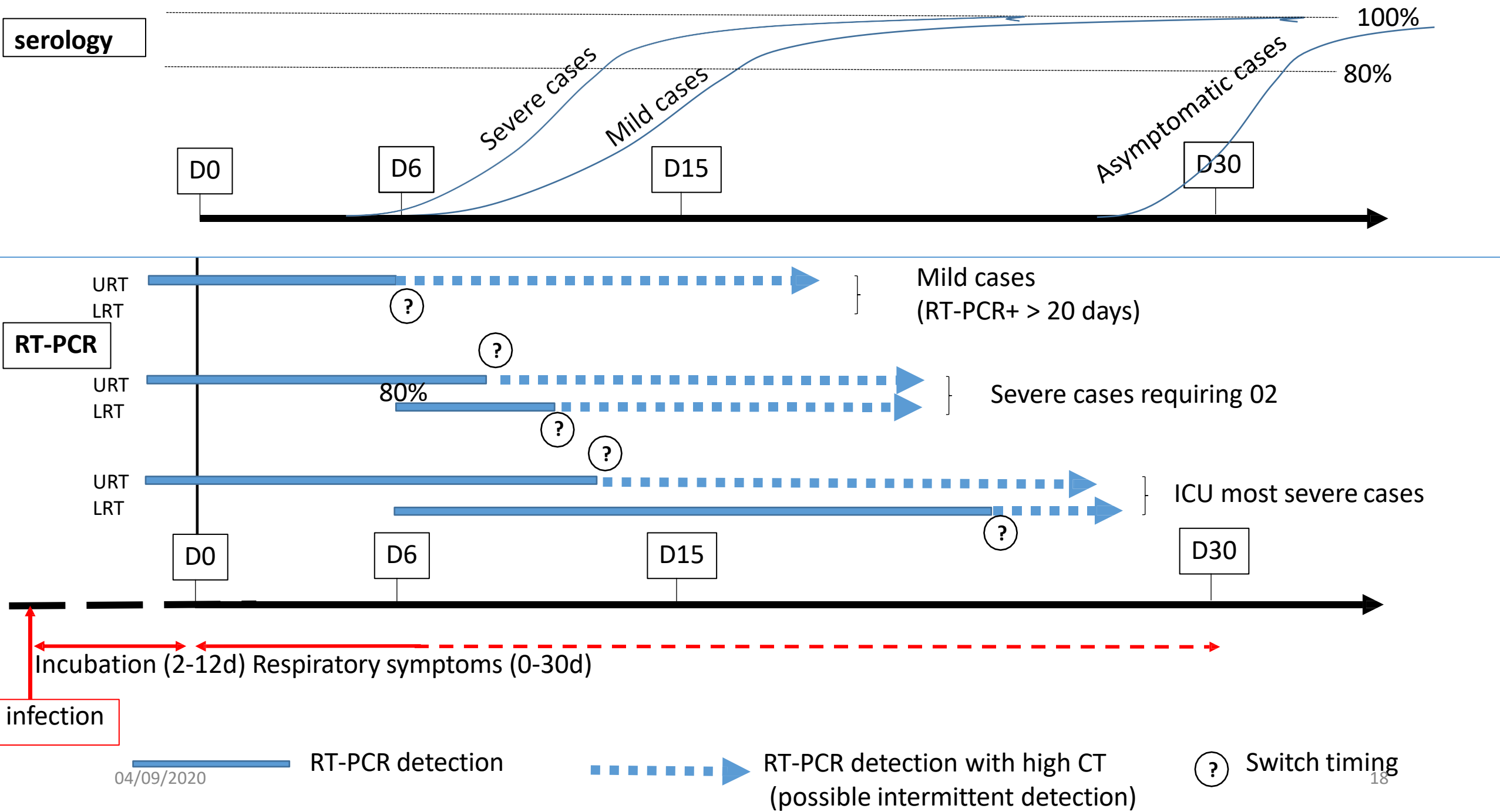
Sensibilitatea testelor imunologice





Diagnostic strategy







Testarea contează



- **Testarea este prima linie de apărare împotriva COVID-19.** Salvează vieți. Aceasta permite economiilor să se redeschidă – și să rămână deschise. În viitor, va fi vital pentru introducerea vaccinurilor și a tratamentelor terapeutice.
- **Cel mai important, trebuie de acționat acum:** testarea, urmărirea și izolarea cazurilor confirmate funcționează.
- Testarea înseamnă că un pacient poate fi confirmat pozitiv COVID-19, astfel încât acestea să poată solicita îngrijire adecvată, și auto-izola pentru a rupe lanțul de transmisie. Atunci când vom avea un tratament, acesta va permite punerea în aplicare a strategiilor de testare și tratament.



Testarea contează



- Testarea înseamnă că cunoaștem dacă un tratament sau o altă intervenție funcționează așa ar trebui.
- Testarea înseamnă că înțelegem cine a fost expus la virus, astfel încât să putem construi o imagine a imunității populației – care este esențială pentru implementarea vaccinului.
- Testarea este singura modalitate de a identifica dispozitivele de semnalizare și hotspoturile, astfel încât să poată fi puse în aplicare măsuri adecvate de izolare.