

# Кратак извештај Нови коронавирус код пацијената са упалом плућа у Кини,

2019 На Зху, Пх.Д., Дингиу Зханг, МД, Венлинг Ванг, Пх.Д., Ксингванг Ли, МД, Бо Ианг, М.С., Јингдонг Сонг, Пх.Д., Ксианг Зхао, Пх.Д., Баоинг Хуанг, Пх.Д., Др Веифенг Схи, др Роујиан Лу, др Пеихуа Ниу, доктор Факиан Зхан, Ксуејун Ма, Пх.Д., Даиан Ванг, Пх.Д., Венбо Ксу, МД, Гуизхен Ву, М.Д., Георге Ф. Гао, Д. Пхил., Анд Вење Тан, МД, Пх.Д., фор Цхина Новел Тим за истраживање и истраживање коронавируса

Децембра 2019. група пацијената са упалом плућа непознатог узрока повезана је с велепродајним тржницом морских плодова у кинеском Вухану. Раније непознати бетакоронавирус откривен је употребом непристрасног секвенцирања у узорцима пацијената са упалом плућа. Епителне ћелије хуманих дисајних путева коришћене су за изолацију новог коронавируса, названог 2019-нЦоВ, који је формирао кладу унутар подрода сарбековируса, подпородице Ортохоронавиринае. За разлику од МЕРС-ЦоВ и САРС-ЦоВ, 2019-нЦоВ је седми члан породице коронавируса који инфицирају људе. Појачани надзор и даља истрага су у току. (Финансиран од Националног кључног програма за истраживање и развој Кине и Националног великог пројекта за контролу и превенцију заразних болести у Кини.)

Спајање и поновно појављивање патогена глобални су изазови за јавно здравље.<sup>1</sup> Коронавируси су вируси РНК са овојницом који су широко распрострањени међу људима, другим сисарима и птицама и узрокују респираторну инфекцију. торијске, ентеричке, хепатичне и неуролошке болести.<sup>2,3</sup> Познато је да шест врста коронавируса изазива људске болести.<sup>4</sup> Четири вируса - 229Е, ОЦ43, НЛ63 и ХКУ1 - су распрострањени и типично изазивају симптоме прехладе код имунокомпетентних особа.<sup>4</sup> Друга два соја-коронавирус тешког акутног респираторног синдрома (САРС-ЦоВ) и коронавирус респираторног синдрома Блиског истока (МЕРС-ЦоВ)-зоонотског су порекла и повезани су са понекад смртоносном болешћу.<sup>5</sup> САРС-ЦоВ је био узрочник избијање тешког акутног респираторног синдрома 2002. и 2003. године у провинцији Гуангдонг, Кина. велика генетска разноликост и честа рекомбинација њихових генома, те све веће активности међу људима и животињама, нови коронавируси ће се вјероватно појављивати периодично код

људи због честих међуврсте инфекција и повремени догађаји преливања.<sup>5,10</sup> Крајем децембра 2019. године, неколико локалних здравствених установа пријавило је групе пацијената са упалом плућа непознатог узрока који су епидемиолошки повезани са велепродајом морских плодова и влажних животиња у Вухану, провинција Хубеи, Кина.<sup>11</sup> 31. децембра 2019. Кинески центар за болести Контрола и превенција (Кинески ЦДЦ) послао је тим за брзо реаговање који ће пратити здравствене власти провинције Хубеи и града Вухана и спровести епидемиолошку и етиолошку истрагу.

**Из НХЦ Кључне лабораторије за биолошку безбедност, Националног института за контролу и превенцију вирусних болести, Кинески центар за контролу и превенцију болести (НЗ, ВВ, ЈС, КСЗ, БХ, РЛ, ПН, КСМ, ДВ, ВКС, ГВ, ГФГ, ВТ), и Одељење за заразне болести, Пекиншка болница Дитан, Универзитет Цапитал Медицал (КСЛ) - оба у Пекингу; Болница Ву-хан Јининтан (ДЗ), Дивизија за откривање вирусних болести, Провинцијски центар за контролу и превенцију болести Хубеи (БИ, ФЗ) и Центар за мега-науку о биолошкој безбедности, Кинеска академија наука (ВТ) - све у Вухану; и Првог медицинског универзитета Шандонг и Академије медицинских наука Шандонг, Јинан, Кина (В.С.). Обратите се захтевима за поновно штампање доктору Тан-у у Националној институцији за контролу и превенцију вирусних болести, Национални завод за контролу и превенцију вирусних болести, Кина ЦДЦ, 155 Цхангбаи Рoad, округ Цхангпинг, Пекинг 102206, Цхи-на; или на танвј@ивдц.цхинацдц.цн, др Гао из Националног института за контролу и превенцију вирусних болести, Кина ЦДЦ, Пекинг 102206, Кина, или на гаоф@им.ац.цн, или Др. Ву у НХЦ кључној лабораторији за биолошку безбедност, Национални институт за контролу и превенцију вирусних болести, Кина ЦДЦ, Пекинг 102206, Кина, или на вузг@ивдц.цхинацдц.цн. Др. Зху, Зханг, В. Ванг, Ли и Ианг су једнако допринели овом чланку. Овај чланак је објављен 24. јануара 2020. године, а ажуриран 29. јануара 2020. године на НЕЈМ.org. Н Енгл Ј Мед 2020; 382: 727-33. DOI: 10.1056/НЕЈМoa2001017**  
**Ауторска права © 2020 Массачусеттс Медицал Социет**

**Извештавамо о резултатима ове истраге, идентификујући извор пнеумоније кластери и описују нови коронавирус откривен код пацијената са упалом плућа чије је узорке тестирао кинески ЦДЦ у раној фази избијања. Такође описујемо клиничке карактеристике упале плућа код два од ових пацијената.**

МЕТОДА

**ВИРАЛНЕ ДИЈАГНОСТИЧКЕ МЕТОДЕ**

Четири узорка доњег респираторног тракта, укључујући бронхоалвеоларну течност за испирање, прикупљена су од пацијената са упалом плућа непознатог узрока који су идентификовани у Вухану 21. децембра 2019. године или касније и који су били присутни на пијаци морских плодова Хуанан близу времена Клиничка слика. Седам узорака течности за бронхоалвеоларно испирање прикупљено је од пацијената у пекиншким болницама са упалом плућа познатог узрока који ће послужити као контролни узорци. Екстракција нуклеинских киселина из клиничких узорака (укључујући незаражене културе које су служиле као негативне контроле) изведена је комплетом високо чисте вирусне нуклеинске киселине, како је описао произвођач (Роцхе). Екстраховани узорци нуклеинске киселине тестирани су на вирусе и бактерије ланчаном реакцијом полимеразе (ПЦР), користећи РеспифиндерСмарт22кит (ПатхоФиндер БВ) и ЛигхтЦицлер 480 ПЦР систем у реалном времену, у складу са упутствима произвођача.<sup>12</sup> Узорци су анализирани за 22 патогена (18 вируса и 4 бактерије) како је детаљно наведено у Додатном прилогу. Поред тога, непристрасно, високопропусно секвенцирање, претходно описано, "коришћено је за откривање микробних секвенци које се не могу идентификовати на горе описане начине. Тест обрнуте транскрипције у реалном времену (РТ-ПЦР) је коришћен за детекцију вирусне РНК помоћу циљање консензусног РдРп региона пан /3-ЦоВ, како је описано у Додатном додатку. ИЗОЛАЦИЈА ВИРУСА Узорци течности за бронхоалвеоларно испирање сакупљени су у стерилне чаше у које је додат медијум за пренос вируса. Узорци су затим центрифугирани како би се уклонили ћелијски остаци. Супернатант је инокулиран у епителне ћелије хуманих дисајних путева, "које су добијене из узорака дисајних путева ресецираних од пацијената на операцији због рака плућа, а НГС је потврдио да су без специјалних патогена. Епителне ћелије хуманих дисајних путева проширене су на пластичну подлогу како би се генерисале ћелије пролаза-1, а затим су постављене на густину од

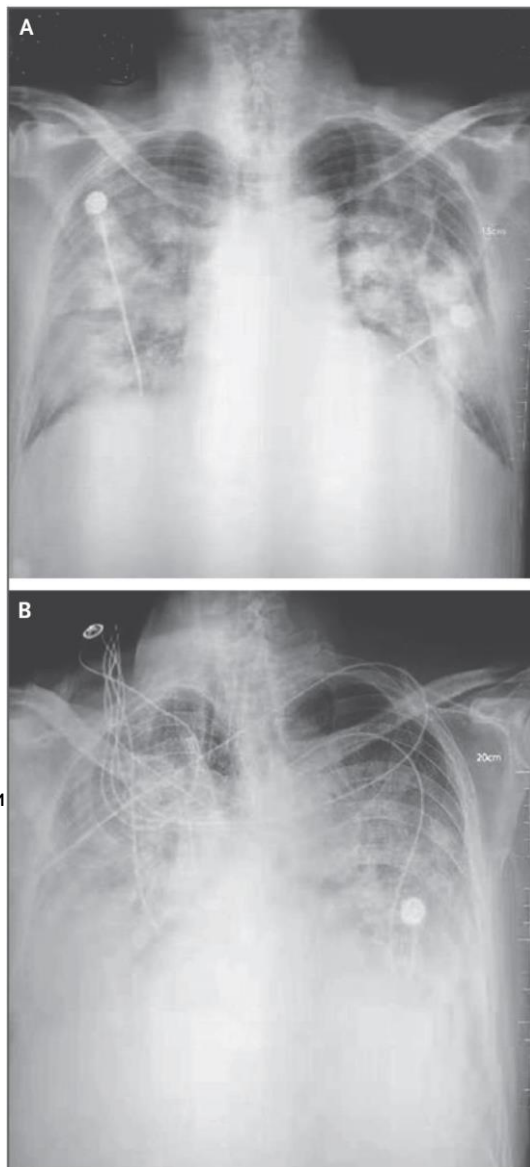
ћелије хуманих дисајних путева генерисане су у интерфејсу ваздух-течност током 4 до 6 недеља како би се формирале добро диференциране, поларизоване културе које подсећају на ин виво псеудостратификовани мукоцилијарни епителијум. " Пре инфекције, апијалне површине епителних ћелија хуманих дисајних путева испране су три пута физиолошким раствором пуферисаним фосфатом; 150, у1 супернатанта из узорака течности за бронхоалвеоларно испирање инокулирано је на апијалну површину ћелијских култура. После 2-часовне инкубације на 37 ° Ц, невезани вирус је уклоњен испирањем са 500 Ал физиолошког раствора пуферисаног фосфатом током 10 минута; епителне ћелије хуманих дисајних путева одржаване су у интерфејсу ваздух -течност инкубираним на 37 ° Ц са 5% угљен -диоксида. Сваких 48 сати, 150, у, 1 физиолошког раствора пуферисаног фосфатом нането је на апијалне површине епителних ћелија људских дисајних путева, а након 10 минута инкубације на 37 ° Ц узорци су сакупљени. Псеудостратификоване ћелије мукоцилијарног епитела су одржаване у овој средини; апијални узорци су пасирани у 1: 3 разблажене бочице до нових ћелија. Ћелије су свакодневно праћене светлосном микроскопијом, на цитопатске ефекте и РТ-ПЦР, на присуство вирусне нуклеинске киселине у супернатанту. Након три пролаза, апијални узорци и епителне ћелије хуманих дисајних путева припремљени су за преносну електронску микроскопију. ПРЕНОС ЕЛЕКТРОНСКА МИКРОСКОПИЈА Супернатант из епителних ћелијских култура хуманих дисајних путева који је показао цитопатске ефекте је прикупљен, инактивиран са 2% параформалдехидом током најмање 2 сата и ултрацентрифугиран да таложи честице вируса. Обогаћени супернатант био је негативно обојен на решеткама прекривеним филмом ради испитивања. Епителне ћелије хуманих дисајних путева које показују цитопатске ефекте сакупљене су и фиксиране са 2% параформалдехид-2,5% глутаралдехида, а затим су фиксиране са 1% осмијум тетроксидом дехидрираног етанолом уграђеног са смолом ПОН812. Пресеци (80 нм) су исечени из смолног блока и одвојено обојени уранил ацетатом и оловним цитратом. Негативно обојене мреже и ултратанки пресеци примећени су под микроскопијом трансмисионих електрона.

2.5к10<sup>6</sup> ћелија по јажици на пропусним носачима Трансвелл-ЦОЛ (пречника 12 мм). Епителне ћелијске

**СЕКВЕНЦИЈА ВИРАЛНИХ ГЕНОМА РНК**

екстрахована из бронхоалвеоларно лаваже флуида и супернатаната културе је коришћена као тем-плоча за клонирање и секвенцирање генома. За карактеризацију генома вируса користили смо комбинацију секвенцирања Иллумине и нанопора. Очитавања секвенци су састављена у цонтиг мапе (скуп преклапајућих сегмената ДНК) уз употребу ЦЛЦ Геномицс софтвера, верзија 4.6.1 (ЦЛЦ Био). Специфични прајмери су накнадно дизајнирани за ПЦР, а 5' или 3'-РАЦЕ (брза амплификација крајева цДНА) је коришћен за попуњавање геномских празнина из конвенционалног Сангеровог секвенцирања. Ови ПЦР производи су пречишћени од гелова

секвенцирани са комплетом за секвенцирање циклуса БигДие Терминатора v3.1 и генетским анализатором 3130КСЛ, у складу са упутствима произвођача. Поравнавање више секвенци 2019-нЦов и референтних секвенци изведено је употребом Мускле. Филогенетска анализа комплетних генома изведена је са РАКМЛ (13) са 1000 реплика боотстрапа и опште временски реверзибилним моделом који је коришћен као модел супституције нуклеотида. РЕЗУЛТАТИ ПАЦИЈЕНТИ Три одрасла пацијента имала су тешку пнеумонију и примљени су у болницу у Вухану 27. децембра 2019. Пацијент 1 је била 49-годишња жена, Пацијент 2 је био 61-годишњи мушкарац, а Пацијент 3 је био 32-годишњи мушкарац. Клинички профили су били доступни за пацијенте 1 и 2. Пацијент 1 пријављен је без хроничних здравствених стања, али је пријавио температуру (температура, 37 ° Ц до 38 ° Ц) и кашаљ са нелагодом у грудима 23. децембра 2019. Четири дана након почетак болести, њен кашаљ и нелагода у грудима, али грозница је смањена; Дијагноза пнеумоније заснована је на компјутеризованој томографији (ЦТ). Њено занимање било је малопродаја на велетржници морских плодова. Пацијент 2 је прво пријавио грозницу и кашаљ 20. децембра 2019; респираторни дистрес се развио 7 дана након почетка болести и погоршао се у наредна 2 дана (видети радиографију грудног коша, слика 1), када је започета механичка вентилација. Био је чест посетилац велетржнице морских плодова. Пацијенти 1 и 3 су се опоравили и отпуштени из болнице 16. јануара 2020. Пацијент 2 је умро 9. јануара 2020. Нису узети узорци биопсије.



**Слика 1. Рендгенски снимци грудног коша.** Приказани су рендгенски снимци грудног коша пацијента 2 8. и 11. дана након почетка болести. Душник је интубиран и покренута је механичка вентилација у периоду између добијања две слике. Билатерални пахуљаста замућења присутни су на обе слике, али су повећани у густини, обиљу и ушћу на другој слици; ове промене су најизраженије у доњим плућним пољима. Промене у складу са накупљањем плеуралне течности су такође видљиве на другој слици.

## ОТКРИВАЊЕ И ИЗОЛАЦИЈА НОВОГ КОРОНАВИРУСА

Три узорка бронхоалвеоларног испирања прикупљена су из болнице Вухан Јиниинтан 30. децембра 2019. Нису откривени специфични патогени (укључујући ХЦоВ-229Е, ХЦоВ-НЛ63, ХЦоВ-0Ц43 и ХЦоВ-ХКУ1) у клиничким узорцима од ових пацијената РеспиФиндерСмарт-22 комплетом. РНК екстрахована из бронхоалвеоларне течности за испирање пацијената је коришћена као шаблон за клонирање и секвенцирање генома помоћу комбинације секвенцирања Иллумина и секвенцирања нанопора. Добијено је више од 20.000 вирусних очитања из појединачних узорака, а већина контига се подудара са геномом из линије Б рода бетакоронавируса- показујући више од 85% идентитета са ЦоВ сличним слепом мишу САРС (бат-СЛ-ЦоВ3Ц45, МГ772933.1) геном претходно објављен. Позитивни резултати су такође добијени коришћењем РТ-ПЦР теста у реалном времену за циљање РНК на консензусну РдРп регију пан /3-ЦоВ (иако је вредност прага циклуса била већа од 34 за откривене узорке). Изолација вируса из клиничких узорака изведена је са епителним ћелијама хуманих дисајних путева и ћелијским линијама Веро Е6 и Хух-7. Изоловани вирус добио је назив 2019-нЦоВ. Да би се утврдило да ли се честице вируса могу визуализовати у епителним ћелијама хуманих дисајних путева заражених 2019-нЦоВ-ом, лажне микроскопије дневно су прегледане епителне културе хуманих дисајних путева заражене и 2019-нЦоВ- и 6 дана након инокулације. Цитопатски ефекти су примећени 96 сати након инокулације на површинским слојевима ху- епителне ћелије човекових дисајних путева; светлосном микрокопијом у центру фокуса примећен је недостатак откуцаја цилијума (слика 2). Нису примећени никакви специфични цитопатски ефекти у ћелијским линијама Веро Е6 и Хух-7 до 6 дана након инокулације. Електронске микрографије честица 2019-нЦоВ обојених

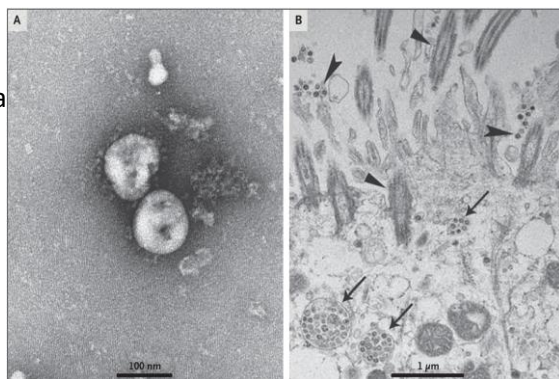
негативно обојене су углавном биле сферичне са извесним плеоморфизмом (слика 3). Пречник варира од око 60 до 140 нм. Честице вируса имале су прилично осебујне шилке, око 9 до 12 нм, и давале су вирионима изглед соларне короне. Изванћелијске слободне честице вируса и инклузијска тела испуњена честицама вируса у везикулама везаним за мембрану у цитоплазми нађене су у ултратанким пресецима епитела хуманих дисајних путева. Ова уочена морфологија је у складу са урунавинуае раррми. За даљу карактеризацију вируса, секвенцирањем Иллумине и нанопора добијене су де ново секвенце генома 2019-нЦоВ из клиничких узорака (течност бронхоалвеоларног лаважа) и изолата вируса епителних ћелија хуманих дисајних путева. Нови коронавирус идентификован је код сва три пацијента. Две секвенце коронавируса скоро целе дужине добијене су из бронхоалвеоларне течности за испирање (БетаЦоВ/Вухан/ИВДЦ-ХБ-04/2020, БетаЦоВ/Вухан/ИВДЦ-ХБ-05/20201ЕПЛИСЛ\_402121), а једна секвенца пуне дужине добијена је из вирус изолован од пацијента (БетаЦоВ/Вухан/ИВДЦ-ХБ-01/20201ЕПЛИСЛ\_402119). Комплетне секвенце генома три нова коронавируса достављене су ГИСАИД-у (БетаЦоВ/Вухан/ИВДЦ-ХБ-01/2019, приступни ИД: ЕПИ\_ИСЛ\_402119; БетаЦоВ/Вухан/ИВДЦ-ХБ-04/2020, приступни ИД: ЕПИ\_ИСЛ\_402120; БетаЦоВ/Вухан/ИВДЦ-ХБ-05/2019, приступни ИД: ЕПЛИСЛ\_402121) и имају 86,9% идентитет секвенце нуклеотида у претходно објављеном геному ЦоВ сличном слепом мишу САРС (бат-СЛ-ЦоВ3Ц45, МГ772933.1). Три генома 2019-нЦоВ груписана заједно у подроду сарбековируса, који показује типичну организацију бета-корона вируса: 5 'непреведен регион (УТР), комплекс репликазе (орфлаб), С ген, Е ген, М ген, Н ген, 3 'УТР, и неколико неидентификованих неструктурних отворених оквира за читање. Иако је 2019-нЦоВ сличан неким бета-коронавирусима откривеним код слепих мишева (слика 4),



не разликује се од САРС-ЦоВ и МЕРС-ЦоВ. Три коронавируса 2019-нЦоВ из Вухана, заједно са два соја слична САРС-у изведена од слепих мишева, ЗЦ45 и ЗКСЦ21, формирају засебну пропланку. Сојеви САРС-ЦоВ од људи и генетски слични коронавируси слични САРС-у од слепих мишева прикупљених из југозападне Кине формирали су још једно пропланак унутар подрода сарбековируса. Будући да је идентитет секвенце у очуваним доменама репликаза (ОРФ лабораторија) мањи од 90% између 2019-нЦоВ и других чланова бета-коронавируса, 2019-нЦоВ-вероватни узрочник вирусне упале плућа у Вухану-је нови бета- коронавирус који припада подроду сарбековируса породице Цоронавиридае.

### ДИСКУСИЈА

Извештавамо о новом ЦоВ (2019-нЦоВ) који је идентификован код хоспитализованих пацијената у Вухану, Кина, у децембру 2019. и јануару 2020. Докази о присуству овог вируса укључују идентификацију у бронхоалвеоларно-лаважној течности код три пацијента по целом секвенцирање генома, директна ПЦР и култура. Болест коју је вероватно изазвао овај ЦоВ названа је „нова пнеумонија заражена коронавирусом“ (НЦИП). Комплетни геноми су предати ГИСАИД -у. Филогенетичка анализа открила је да 2019-нЦоВ спада у род бетакоронавируса, који укључује коронавирусе (САРС-ЦоВ, ЦоВ сличан шишмишу САРС и други) откривене код људи, слепих мишева и других дивљих животиња.<sup>15</sup> Извештавамо о изолацији вирус и почетни опис његових специфичних цитопатских ефеката и морфологије. Молекуларне технике се успешно користе за идентификацију инфективних агенаса дуги низ година.



Слика 3. ВизуАлизиција 2019-нЦоВ помоћу трансмисионе електронске микроскопије. Негативно обојене честице 2019-нЦоВ приказане су на табли А, а честице 2019-нЦоВ у ултратанким пресецима епителних ћелија хуманих дисајних путева приказане су на табли Б. Стрелице означавају екстрацелуларне честице вируса, стрелице означавају инклузивна тела формирана од компоненти вируса, и троуглови означавају цитилије.

Приказани су шема 2019-нЦоВ (Панел А) и целокупна филогенетска анализа 2019-нЦоВ и других генома бета коронавируса у потпородици Ортохоронавиринае (Панел Б):

**A**  
 >BetaCoV/Wuhan/IVDC-HB-01/20191EPI\_ISL\_402119 (29892 bp)

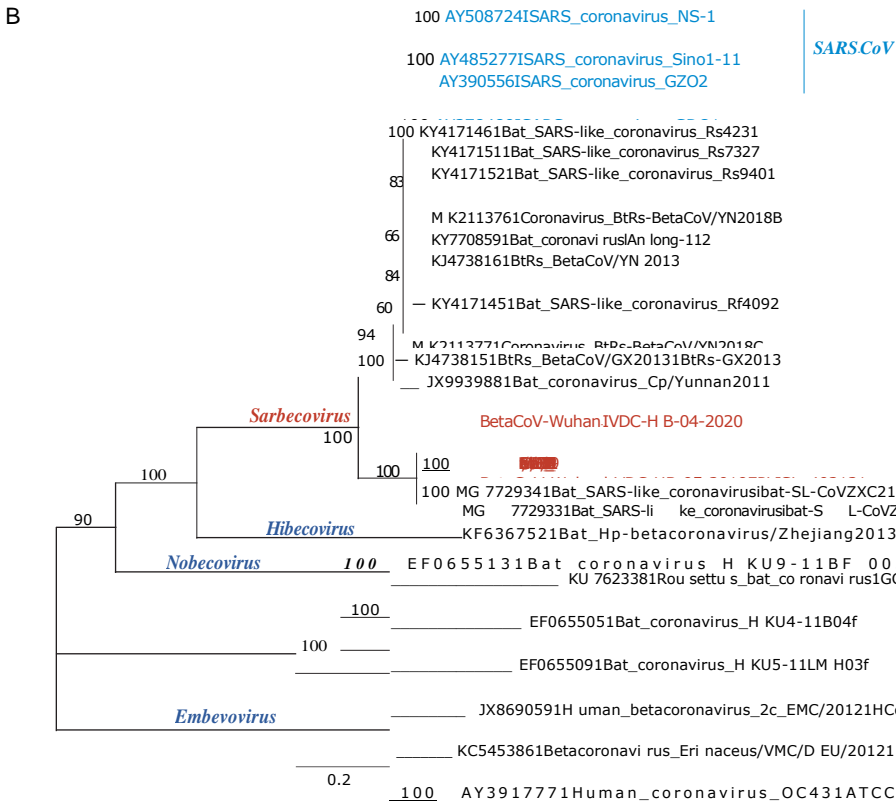
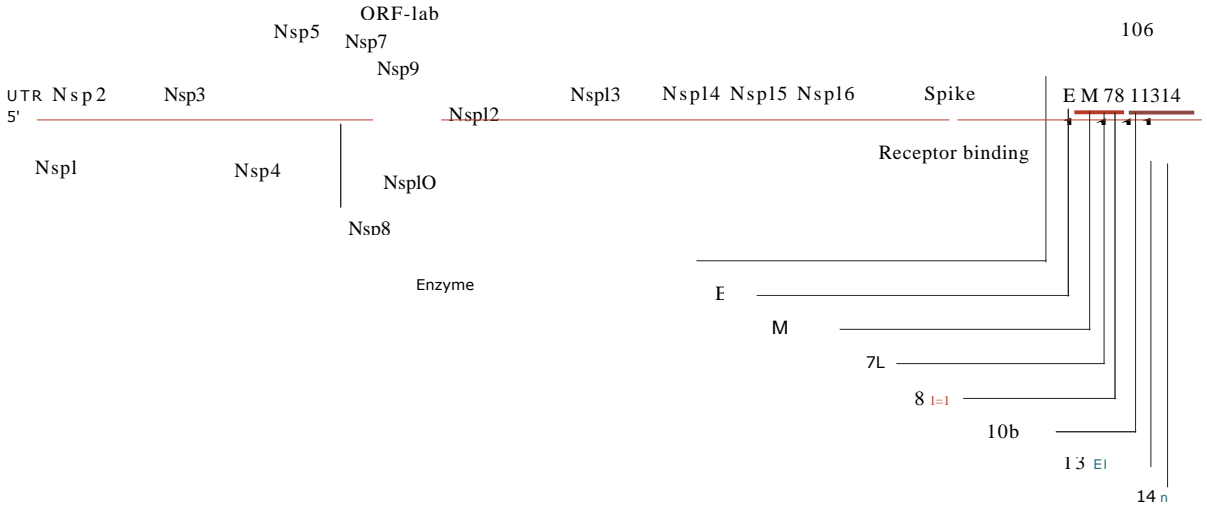


Figure 4.

Схема 2019-нЦов и филогенетска анализа 2019-нЦов и других генома бета-коронавируса.

Непристрасно, високопропусно секвенцирање је дало моћно оруђе за откривање патогена.<sup>14,16</sup> Секвенцирање следеће генерације и биоинформатика мењају начин на који можемо

да одговоримо на избијање заразних болести, побољшавајући наше разумевање појаве и преношења болести, убрзавајући идентификацију патогена –генима и промовисање размене података. У овом извештају описујемо употребу молекуларних техника и непристрасног секвенцирања ДНК за откривање новог бета -коронавируса који је вероватно био узрок тешке упале плућа код три пацијента у кинеском Вухану. Иако је успостављање епителних ћелија епителних ћелија људских дисајних путева радно интензивно, чини се да су оне драгоцен истраживачки алат за анализу хуманих респираторних патогена.<sup>13</sup> Наше истраживање је показало да је почетно ширење људских респираторних секрет на епителне ћелије људских дисајних путева туре, праћене трансмисијском електронском микроскопијом и секвенцирањем цијелог генома супернатанта културе, успјешно су кориштене за визуализацију и детекцију новог хуманог коронавируса који евентуално може избјећи идентификацију традиционалним приступима. Даљи развој прецизних и брзих метода за идентификацију непознатих респираторних патогена је и даље потребан. На основу анализе три комплетна генома добијена у овој студији, осмислили смо неколико специфичних и осетљивих тестова усмерених на ОРФлаб, Н и Е регионе генома 2019-нЦоВ за откривање вирусне РНК у клиничким узорцима. Комплекти прајмера и стандардни оперативни поступци подељени су са Светском здравственом организацијом и намењени су надзору и откривању инфекције 2019-нЦоВ глобално и у Кини. Најновији подаци показују да је откривање 2019-нЦоВ код 830 особа у Кини?

**Иако наша студија не испуњава Кохове постулате, наше анализе пружају доказе који**

**указују на 2019-нЦоВ у епидемији у Вухану. Додатни докази који потврђују етиолошки значај 2019-нЦоВ у епидемији у Вухану укључују идентификацију антигена 2019-нЦоВ у плућном ткиву пацијената имунохистохемијском анализом, откривање ИгМ и ИгГ антивирусних антитела у узорцима серума од пацијента у две временске тачке како би се демонстрирала се-роконверзија, и експерименте на животињама (мајмунима) ради пружања доказа о патогености. Од критичне важности су епидемиолошка истраживања како би се окарактеризирали начини преношења, интервал репродукције и клинички спектар произашао из инфекције како би се информирале и побољшале стратегије које могу спријечити, контролирати и зауставити ширење 2019-нЦоВ.**

Овај рад је подржан грантовима Националног кључног програма за истраживање и развој Кине (2016ИФД0500301) и Националног великог пројекта за контролу и превенцију заразних болести у Кини (20183КК10101002). Обрасци за откривање података које су дали аутори доступни су са пуним текстом овог чланка на NEJM.org.

Захваљујемо се др. Зхонгије Ли, др. Гуангкуе Хе, др. Ланце Роде-валд, Иу Ли, Феи Ие, Ли Зхао, Веимин Зхоу, Јун Лиу, Иао Менг, Хуијуан Ванг и многим запосленима у Кинеском ЦДЦ-у на њиховом доприносе и помоћ у овој припреми и подношењу раније верзије рукописа..

1. Gao GF. From "A"IV to "Z"IKV: attacks from emerging and re-emerging pathogens. *Cell* 2018;172:1157-9.
2. Weiss SR., Leibowitz JL. Coronavirus pathogenesis. *Adv Virus Res* 2011;81:85164.
3. Masters PS, Perlman S. Coronaviridae. In: Knipe DM, Howley PM, eds. *Fields virology*. 6th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2013:825-58.
4. Su S, Wong G, Shi W, et al. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. *Trends Microbiol* 2016;24:490-502.
5. Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol* 2019;17:181-92.
6. 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;362:1353-8.
7. Ksiazek TG, Erdman D, Goldsmith CS, et al. A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med* 2003;348:1953-66.
8. Drosten C, Gunther S, Preiser W, et al. Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med* 2003;348:1967-76.
9. Zaki AM, van Boheemen S, Bestebroer TM, Osterhaus AD, Fouchier RA. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *N Engl J Med* 2012;367:1814-20.
10. Wong G, Liu W, Liu Y, Zhou B, Bi Y, Gao GF. MERS, SARS, and Ebola: the role of super-spreaders in infectious disease. *Cell Host Microbe* 2015;18:398-401.
11. Report of clustering pneumonia of unknown etiology in Wuhan City. Wuhan Municipal Health Commission, 2019. (<http://wjw.wuhan.gov.cn/front/web/showDetail/2019123108989>).
12. Liu GS, Li H, Zhao SC, Lu RJ, Niu PH, Tan WJ. Viral and bacterial etiology of acute febrile respiratory syndrome among patients in Qinghai, China. *Biomed Environ Sci* 2019;32:438-45.
13. Jonsdottir HR, Dijkman R. Coronaviruses and the human airway: a universal system for virus-host interaction studies. *Virology* 2016;13:24.
14. Palacios G, Druce J, Du L, et al. A new arenavirus in a cluster of fatal transplant-associated diseases. *N Engl J Med* 2008; 358:991-8.
15. Tan WJ, Zhao X, Ma XJ, et al. A novel coronavirus genome identified in a cluster of pneumonia cases - Wuhan, China 2019-2020. *China CDC Weekly* 2020;2: 61-2.
16. Armstrong GL, MacCannell DR., Taylor J, et al. Pathogen genomics in public health. *N Engl J Med* 2019;381:2569-80.
17. Report of novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan City. Wuhan Municipal Health Commission, 2020 (<http://wjw.wuhan.gov.cn/front/web/showDetail/2020012009077>).

Copyright © 2020 Massachusetts Medical Society



