

---

Achtergrondinformatie

# SARS-CoV-2 / COVID-19

**Auteur(s)** Bart Erkamp MSc, Informatiespecialist B&O

**Datum** 1-5-2020

**Status** Versie 3

---

## Inhoudsopgave

<b>Eigenschappen samengevat</b> .....	2
<b>Kan SARS-CoV-2 worden overgedragen via weefseltransplantatie?</b> .....	3
<b>Voorlopige conclusies</b> .....	3
Oogweefsel.....	3
Huid.....	4
Hartkleppen.....	4
Bot- en peesweefsel .....	5
<b>Inleiding</b> .....	6
<b>Incubatietijd</b> .....	6
<b>Symptomen</b> .....	6
<b>Pathogenese en tropisme</b> .....	7
<b>Besmettelijke periode</b> .....	8
<b>Immuniteit</b> .....	9
<b>Overleving buiten de gastheer en inactivatie</b> .....	9
<b>Diagnostiek</b> .....	10
Moleculaire diagnostiek met RT-PCR.....	10
Serologische testen op SARS-CoV-2.....	11
Labwaarden.....	11
<b>Referenties</b> .....	11

## Disclaimer

De informatie in dit stuk is geschreven op basis van de huidige kennis over SARS-CoV-2. Hoewel er dagelijks nieuwe publicaties bijkomen, is de kennis over dit virus nog vrij beperkt. Dit betekent dat de conclusies in dit stuk voorlopige conclusies zijn die mogelijk in de toekomst nog kunnen veranderen.

## Eigenschappen samengevat

COVID-19 ziektebeeld <sup>16</sup>	
<b>Incubatietijd</b>	Gemiddeld 5 tot 6 dagen, spreiding 2 tot 14 dagen
<b>Symptomen</b>	<p><i>Mild</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Neusverkoudheid</li> <li>• Keelpijn (14%)</li> <li>• (droge) Hoest (68%)</li> <li>• Moeheid (38%)</li> <li>• Verhoogde sputumproductie (33%)</li> <li>• Spier- en gewrichtspijn (15%)</li> <li>• Hoofdpijn (14%)</li> <li>• Verhoging</li> <li>• Ook gerapporteerd (bij een kleiner deel van de patiënten): diarree (4%); misselijkheid en braken (5%). Daarnaast wordt ook melding gemaakt van verlies van reukzin (hyposmie/anosmie) en smaakzin (dysgeusie) en neurologische verschijnselen (24.8%) zoals hoofdpijn, duizeligheid, ataxie, epilepsie en acute cerebrovasculaire ziekte</li> </ul> <p><i>Ernstig</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Koorts (&gt; 38 graden Celsius) (88%)</li> <li>• Kortademigheid (19%)</li> <li>• Pneumonie</li> <li>• Acut respiratoir stress syndroom</li> <li>• Septische shock</li> </ul>
<b>Diagnostiek</b>	<p><i>Direct:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Aantonen van viraal RNA middels (real-time) reverse-transcriptie (RT)-PCR op monsters afkomstig van nasale of orale swaps</li> </ul> <p><i>Indirect:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Serologie/CT-scan/Lawaarden (verhoogd CRP, absoluut lymfocytengetal &lt;1500 <math>\mu</math>/L)</li> </ul>
<b>Transmissie</b>	<p><i>Direct:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Transmissie via druppeltjes die loskomen bij hoesten, niezen, praten en ademen vergelijkbaar met influenza. Druppeltjes reizen doorgaans niet meer dan 2 meter.</li> <li>• Via aerosolen die loskomen tijdens aerosolvormende handelingen (tracheale intubatie, niet-invasieve beademing, tracheostomie, cardiopulmonaire reanimatie, manuele beademing voorafgaand aan intubatie, bronchoscopie, handelingen aan de tracheostoma, uitzuigen).</li> </ul> <p><i>Indirect:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Infectie zou mogelijk kunnen optreden als een persoon een geïnfecteerd oppervlak aanraakt en vervolgens zijn of haar ogen, neus of mond aanraakt.</li> </ul> <p><i>N.B. Transmissie van het virus van asymptomatische individuen is in verschillende artikelen beschreven maar het is nog niet duidelijk in hoeverre dit gebeurt.</i></p>
<b>Risicofactoren</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Afwijkingen en functiestoornissen van de luchtwegen en longen;</li> <li>• Chronische hartaandoeningen;</li> <li>• Diabetes mellitus;</li> <li>• Ernstige nieraandoeningen die leiden tot dialyse of niertransplantatie;</li> <li>• Verminderde weerstand tegen infecties door medicatie voor auto-immuunziekten, na orgaantransplantatie, bij hematologische aandoeningen, bij aangeboren aandoeningen of verworven op latere leeftijd.</li> <li>• Obesitas</li> </ul>
<b>Immunititeit</b>	Seroconversie na ongeveer 10 dagen. Nog niet duidelijk hoe lang de immunititeit blijft bestaan.

## Kan SARS-CoV-2 worden overgedragen via weefseltransplantatie?

### Voorlopige conclusies

Hieronder wordt per weefseltype de mogelijk kans op transmissie van SARS-CoV-2 uiteengezet. Hoewel transmissie van het virus via weefseltransplantatie niet waarschijnlijk lijkt, kan een potentiële infectie met SARS-CoV-2 zeer ernstige gevolgen hebben. SARS-CoV-2 is een pandemisch virus met een hoge mortaliteit en morbiditeit waar nog nauwelijks immuniteit tegen bestaat. Ook is de kennis van het virus op dit moment nog beperkt. De NTS acht daarom de standaard én aanvullende screening van postmortale weefseldonoren, inclusief RT-PCR test op keel/neusswabs, op dit moment noodzakelijk.

De NTS heeft Sanquin de opdracht gegeven om swabs, afgenomen uit de neus- en keelholte van postmortale weefseldonoren, te testen op de aanwezigheid van viraal RNA. Sanquin maakt hiervoor gebruik van de Cobas® SARS-CoV-2 real-time RT-PCR. Volgens de fabrikant is een positief testresultaat indicatief voor de aanwezigheid van SARS-CoV-2 RNA, maar sluit dit resultaat een bacteriële infectie of een co-infectie met andere virussen niet uit. Voor de NTS is een positief resultaat direct reden om de weefsels niet vrij te geven. Ook een negatief resultaat sluit een infectie met SARS-CoV-2 niet uit. Een negatief testresultaat wordt door de medische staf van de NTS daarom altijd geïnterpreteerd in de context van het klinische beeld ten tijde van overlijden, de medische en sociale voorgeschiedenis van de donor en eventuele diagnostiek die voor overlijden is verricht, zoals een CT-scan. De NTS onderzoekt verder of een serologische test, naast de RT-PCR test, toegevoegde waarde heeft voor de donorscreening.

### Oogweefsel

SARS-CoV-2 gebruikt de ACE2 receptor voor de infectie van cellen. Infectie is tevens afhankelijk van de protease activiteit van het eiwit TMPRSS2. ACE2 RNA-expressie is in zeer beperkte mate aangetroffen in de cornea. Maar de expressie van TMPRSS2 in de cornea lijkt nauwelijks aanwezig.<sup>1</sup> De ACE2-receptor is ook aangetroffen in het oogvocht waar het mogelijk een rol heeft in het intra-oculaire RAS-systeem.<sup>2</sup> Voor zover bekend is infectie van de cornea met SARS-CoV-2 nog niet aangetoond. Dit is in het verleden ook niet aangetroffen bij SARS-CoV dat gebruikt maakt van dezelfde receptor. In een beperkt aantal gevallen lijkt een SARS-CoV-2 infectie geassocieerd te zijn met de ontwikkeling van conjunctivitis. Tevens lijkt viraal RNA soms aanwezig te zijn in het traanvocht, zoals ook in 2004 werd aangetoond voor SARS-CoV. Hier zijn echter tegenstrijdige berichten over. In een recent onderzoek van Jun *et al* werd geen infectieus virus of viraal RNA aangetroffen in het traanvocht van 17 COVID-19 positieve patiënten.<sup>3,4</sup>

### Bewerking oogweefsel

Vanuit de literatuur zijn er aanwijzingen dat de behandeling van oogweefsel met ethanol en biociden zoals povidonjodium effectief zijn in het inactiveren van verschillende virussen met- en zonder membraan (envelop), waaronder het MERS-coronavirus.<sup>5</sup> In het onderzoek naar de inactivatie van MERS-CoV is gebruik gemaakt van drie antiseptische producten van het merk Betadine in concentraties van 1% tot 7,5%. In alle gevallen werd er

4-log reductie bereikt wat volgens de auteurs overeenkomt met een inactivatie van 99,99%. Tijdens de uitname worden de bulbi gespoeld in Povidonjood (zowel op locatie bij de donor alsook bij aankomst in de bank). Daarnaast wordt scleraal weefsel volgens ETB-BISLIFE na fysieke reiniging opgeslagen in high grade pure alcohol ter conservering en desinfectie. Gemiddeld zit het sclerale weefsel tussen 6 en 11 maanden in de alcohol voordat er wordt overgegaan tot vrijgave. Tussentijds wordt de alcohol ook vervangen door nieuwe alcohol. Door deze bewerkingsstappen wordt de kans op transmissie van eventueel aanwezige virusdeeltjes nog verder verkleint.

## Huid

Uit een studie van Hamming *et al.* uit 2004 blijkt dat de ACE2 receptor aanwezig is in de basale cellaag van de epidermis en in de gladde spiercellen rond de talgklieren.<sup>6</sup> Of het virus de huid ook daadwerkelijk infecteert of kan infecteren is niet bekend. Wel kan het virus via hoesten en niezen op de huid (zoals de handen) terecht komen en hier korte tijd infectieus blijven. Het is niet bekend hoe lang deze periode ongeveer duurt, maar bij Influenza, een vergelijkbaar respiratoir virus, is deze periode ongeveer 10 minuten. Dit zou betekenen dat er een kans op transmissie van het virus is tijdens de afname van de huid. Er is bij een donor echter geen ademhaling en derhalve ook geen actieve uitscheiding van het virus via de luchtwegen. Bovendien wordt de huid nog grondig gedesinfecteerd en bewerkt (zie hieronder).

### **Bewerking huid**

Voordat de huid wordt afgenomen wordt de donor eerst gewassen met Betadine-scrub (polyvinylpyrrolidon-jodiumcomplex). Deze vloeistof werkt volgens ETB-BISLIFE vervolgens 10 minuten in op de huid van de donor om optimale desinfectie te verzorgen. Daarna wordt huid verder gedesinfecteerd met een chloorhexidine/alcoholoplossing. De afgenomen huid wordt gedurende langere tijd in glycerol gepreserveerd. Vanuit de literatuur is bekend dat diverse soorten virussen worden geïnactiveerd c.q. geëlimineerd tijdens de opslag (> 4 weken) in glycerol bij een temperatuur van minstens 20 °C.<sup>7</sup> In hoeverre dit ook van toepassing is op coronavirussen is niet bekend, maar door de gecombineerde actie van fysiek reinigen, desinfectie met Betadine en chloorhexidine/alcohol en de verdere virus-inactiverende en -afdodende werking van glycerol, is de kans op transmissie van eventueel aanwezige virusdeeltjes waarschijnlijk verwaarloosbaar klein.

## Hartkleppen

Hoewel de klinische manifestaties van COVID-19 worden gedomineerd door respiratoire symptomen, ontwikkelen sommige patiënten ook fulminante myocarditis of andere hartproblemen.<sup>8,9</sup> Waarschijnlijk zijn deze complicaties het gevolg van een uit de hand gelopen immuunrespons tegen het virus en gelokaliseerde vaatontsteking. Er is voornamelijk geen bewijs voor de aanwezigheid van infectieus virus in het hart, maar dit is ook niet uitgesloten gezien de aanwezigheid van de ACE2 receptor in het hart.<sup>10</sup> Een aanwijzing voor de mogelijke aanwezigheid voor het virus in het hart komt uit een autopsie-studie met het eerste SARS-virus uit 2003 (Dit virus bindt aan dezelfde receptor als het nieuwe SARS-virus). Bij dit onderzoek werd viraal RNA gedetecteerd in 35% (7/20) van de hartmonsters afkomstig van overleden SARS-patiënten in Toronto.<sup>11</sup> In een recente autopsie-studie onder 12 patiënten die zijn overleden aan COVID-19 werd een kleine hoeveelheid

viraal RNA van SARS-CoV-2 gedetecteerd in een het hartweefsel van 1 overledene met myocarditis.<sup>12</sup> Indien SARS-CoV-2 de hartspiercellen daadwerkelijk kan infecteren, dan duidt dit op een systemische virale infectie. Een dergelijke systemische infectie is een contra-indicatie voor weefseldonatie.

### **Bewerking hartkleppen**

Hartkleppen ondergaan volgens ETB-BISLIFE geen specifiek virus-reducerende behandeling. Wel wordt het uitgenomen hart tot aan bewerking op de bank bewaard in Ringers spoelvloeistof en wordt het geprepareerde weefsel bewaard in preservatiemedium. Deze vloeistoffen dragen, door spoeling van het weefsel, bij aan vermindering van eventueel aanwezig virus rondom het weefsel, maar het effect is waarschijnlijk beperkt. Voor vaat- en hartklepweefsel zal vooral nauwkeurige screening van de donor t.a.v. recente infectieuze respiratoire aandoeningen in combinatie met verhoogde systemische ontstekingsparameters duidelijkheid moeten verschaffen over eventuele transmissierisico's. Dit zal per casus beoordeeld moeten worden. Volgens ETB-BISLIFE geldt voor elke donor dat het restant hartweefsel na preparatie een histopathologische analyse ondergaat. Daardoor is ook goed te bepalen of sprake is van lokale ontstekingen in het hartweefsel, zoals eventueel COVID-19-gerelateerde myocarditis.

### **Bot- en peesweefsel**

Er is vooralsnog geen wetenschappelijk bewijs dat SARS-CoV-2 bot- en spierweefsel kan infecteren. Voor zover bekend is de ACE2 receptor niet aanwezig in botweefsel. Het is ook niet aangetroffen in beenmerg. Als er aanwijzingen zijn voor een systemische infectie wordt de donor niet geaccepteerd.

### **Bewerking bot- en peesweefsel**

ETB-BISLIFE laat uitgenomen bot/peesweefsel van portmortale donoren voor haar eigen voorraad bewerken bij BST (Barcelona, Spanje) of levert deze weefsels aan DIZG (Berlijn, Duitsland) ten behoeve van bewerking en distributie elders door DIZG. De weefsels die door BST worden bewerkt ondergaan stringente fysieke en chemische reiniging (spoelen met water en detergentia, centrifugeren, ultrasoon behandeling) en desinfectie (waterstofperoxide en alcohol). Weefsels die ETB-BISLIFE levert aan DIZG ondergaan behalve de reiniging en desinfectie ook een aanvullende sterilisatie (perazijnzuur).

De reinigings-, desinfectie- en sterilisatieprocedures van BST en DIZG zijn gevalideerd. Op basis van die studies wordt aangenomen dat de bewerkingsmethode effectief is voor het inactiveren van verschillende virussen die worden omhuld door een membraan (de zogenoemde envelop), waaronder HIV, HTLV, HCV, HBV, CMV, Herpes, Rubella, Parainfluenza, Bof, Vaccinia, Influenza). Voor dergelijke virussen kan volgens ETB-BISLIFE een 8-10 log reductie bewerkstelligd worden. Hoewel SARS-CoV-2, noch SARS-CoV en MERS-CoV zijn meegenomen in de bovengenoemde validatiestudies is het op basis van de vergelijkbare structuur aannemelijk dat bij de bewerking van bot- en peesweefsel een effectieve reductie en inactivatie kan worden verwacht voor SARS-CoV-2. Op basis van deze informatie is de kans op aanwezigheid van coronavirus in bewerkt bot/peesweefsel volgens ETB-BISLIFE verwaarloosbaar klein.

## Inleiding

Coronavirus disease 2019 COVID-19 is een acute respiratoire ziekte die wordt veroorzaakt door een nieuw coronavirus genaamd SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*). Al snel na de ontdekking van het virus zijn de gehele genomesequenties van vijf patiënten-isolaten gepubliceerd. Hieruit blijkt dat het nieuwe virus behoort tot het genus *Betacoronavirus*, familie *Coronaviridae*.<sup>13</sup>

SARS-CoV-2 is het derde hoog pathogene coronavirus dat in de afgelopen 20 jaar is overgesprongen van dier op mens. De twee andere virussen, genaamd SARS-CoV (8.096 cases/774 doden) en MERS-CoV (2.494 cases/858 doden) veroorzaakten respectievelijk in 2003 en 2012 een wereldwijde epidemie (de genomesequentie van SARS-CoV-2 is 82% gelijk aan dat van SARS-CoV). De SARS-epidemie begon in China en verspreidde zich via reizigers naar andere delen van de wereld. De MERS-epidemie begon in Saudi-Arabië en verspreidde zich ook via reizigers naar andere delen van de wereld. Een belangrijk verschil met het huidige coronavirus is dat SARS-CoV en MERS-CoV veel dodelijker waren en alleen mensen die duidelijk ziek waren het virus konden verspreiden. De voornaamste route van transmissie was dan ook nosocomiaal.<sup>14</sup> SARS-CoV-2 daarentegen veroorzaakt in veel gevallen milde klachten die niet onderdoen voor een verkoudheid. Dit maakt dat het virus zich veel gemakkelijker over de bevolking kan verspreiden via mensen met lichte symptomen.

Naast de bovengenoemde hoog pathogene coronavirussen circuleren er nog 4 laag pathogene coronavirussen in de populatie genaamd HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-OC43 en HCoV-HKU1. Deze virussen veroorzaken gewone verkoudheid. De meeste mensen raken op een bepaald moment in hun leven besmet met een of meer van deze virussen.<sup>15</sup>

## Incubatietijd

Gemiddeld 5 tot 6 dagen, spreiding 2 tot 14 dagen.<sup>16</sup>

## Symptomen

*Milde symptomen:* Neusverkoudheid, keelpijn, (droge) hoest, moeheid, verhoogde sputumproductie, spier- en gewrichtspijn, hoofdpijn, temperatuurverhoging (<38 graden Celcius).

*Ernstige symptomen:* Koorts (> 38 graden Celsius), kortademigheid, pneumonie, acuut respiratoir stress syndroom, septische shock.

Ook is bij een deel van de patiënten diarree; misselijkheid en braken gerapporteerd. Tevens is er melding gemaakt van verlies van reukzin (hyposmie/anosmie) en smaakzin (dysgeusie). In de LCI-richtlijn COVID-19 wordt een retrospectieve studie onder 214 COVID-19 patiënten in Wuhan, China beschreven. Bij 36.8% van de patiënten werden neurologische verschijnselen vermeld. 24.8% van deze patiënten had symptomen van het centrale zenuwstelsel zoals hoofdpijn, duizeligheid, ataxie, epilepsie en acuut cerebrovasculaire ziekte. 8.9%

had perifeer neurale aandoeningen, waaronder 5% hyposmie. Maar ook hypogeusie, hypogie en neuralgie zijn vermeld.<sup>16</sup>

## Pathogenese en tropisme

Coronavirussen worden gekenmerkt door de aanwezigheid van uitsteeksels die als een kroon (corona) uit het celmembraan steken. Deze zogenoemde Spike-eiwitten (S) zijn verantwoordelijk voor de binding van het virus aan de gastheercel en de versmelting van het virale membraan met het celmembraan van de gastheercel. Dit tweeledige proces komt tot stand door de verschillende subunits van het S-eiwit genaamd S1 (voor de binding) en S2 (voor het versmelten). Tijdens dit proces komt het virale RNA vrij in het cytoplasma van de gastheercel en is de infectie een feit. Uit onderzoek blijkt dat het S-eiwit van SARS-CoV-2 bindt aan de *angiotensin-converting enzyme 2* (ACE2) receptor. Het protease TMPRSS2 is nodig om het S-eiwit op te delen in de S1- en S2 subunit.<sup>17</sup>

Deze ACE2 receptor wordt ook gebruikt door het eerder beschreven SARS-CoV. Het verschil met SARS-CoV is dat de binding met SARS-CoV -2 waarschijnlijk sterker en efficiënter is. Dit kan bijvoorbeeld betekenen dat er minder virusdeeltjes nodig zijn om een effectievere infectie te veroorzaken. Een ander verschil is dat S-eiwit van het nieuwe SARS- virus een zogenoemde furine-bindingsplaats heeft dat door het enzym furine geknipt wordt. Wat dit precies betekent is nog niet helemaal duidelijk.

De ACE2 receptor komt normaal gesproken op verschillende plaatsen in het lichaam tot expressie, waaronder op type II alveolaire cellen van de long, de bovenste en gestratificeerde epitheelcellen van de slokdarm, in de bloedvaten, op enterocyten van het ileum en colon, op cholangiocyten in de galbuis, op myocardiale cellen, op proximale tubulaire niercellen, op blaas urotheelcellen en op cellen in de testis.<sup>18</sup> Al deze organen en weefsels kunnen potentieel geïnfecteerd raken met het virus. Dit blijkt ook uit een autopsie-studie van Bradley *et al.* Bij dit onderzoek onder 12 overledenen zijn virusdeeltjes aangetroffen in onder andere de longen, de trachea, de nieren en de darmen. Bij alle overledenen was sprake van significante comorbiditeit, zoals hypertensie, obesitas, chronische nieraandoeningen en diabetes.<sup>12</sup>

Recent onderzoek naar de expressie van ACE2 en TMPRSS2 toont aan dat van alle onderzochte cellen in de luchtwegen, de epitheelcellen in de neus (met name gecilieerde cellen en slijmbekercellen) de hoogste expressie van ACE2 en TMPRSS2 mRNA vertonen.<sup>1</sup> Dit zou kunnen verklaren waarom het virus zich efficiënter tussen mensen kan verspreiden vergeleken met bijvoorbeeld het MERS-coronavirus waarvan de receptoren zich voornamelijk in de lage luchtwegen bevinden.

Als gevolg van de infectie wordt de expressie van de ACE2 receptor omlaag geschaald (gedownreguleert). ACE2 heeft normaal gesproken een bloeddrukverlagende rol door de productie van een vasodilatator genaamd Ang 1-7 in het renine angiotensine systeem. Verlies van ACE2 expressie in de longen is geassocieerd met pulmonale hypertensie, sarcoïdose, idiopathische longfibrose het acute respiratory distress syndrome (ARDS).<sup>19</sup> Daarnaast

komt het immuunsysteem in actie wat in ernstige gevallen leidt tot de ongecontroleerde afgifte van cytokinen (cytokine release syndrome of CRS). Ook dit kan ARDS veroorzaken en in ernstige gevallen tot multi-orgaanfalen en fulminante myocarditis leiden.<sup>20,21,22</sup> Mogelijk is multi-orgaanfalen bij COVID-19 patiënten het gevolg van de synergistische effecten van SARS-CoV-2 geïnduceerde weefselbeschadiging en een systemische cytokinestorm. Dit moet echter nog verder worden onderzocht.<sup>23</sup>

Een belangrijke vraag die nog beantwoord moet worden is waarom sommige patiënten een ernstig ziektebeeld ontwikkelen, terwijl anderen dat niet doen. Vanuit de literatuur is bekend dat leeftijd en onderliggend leiden, zoals diabetes, hypertensie, hart- en vaatziekten hier een belangrijke rol bij spelen. Een van de hypothesen is dat de behandeling van diabetes en hypertensie met ACE-remmers tot een verhoogde expressie van ACE2 leidt waardoor deze patiënten mogelijk vatbaarder zijn voor infectie.<sup>24</sup>

## Transmissie

Transmissie vindt plaats via druppeltjes die loskomen bij hoesten, niezen, praten en ademen. De druppeltjes reizen doorgaans niet meer dan 2 meter. Ook kan transmissie plaatsvinden via aerosolen die loskomen tijdens aerosolvormende handelingen (tracheale intubatie, niet-invasieve beademing, tracheostomie, cardiopulmonaire reanimatie, manuele beademing voorafgaand aan intubatie, bronchoscopie, handelingen aan de tracheostoma, uitzuigen). Infectie zou mogelijk ook kunnen optreden als een persoon een geïnfecteerd oppervlak aanraakt en vervolgens zijn of haar gezicht aanraakt.<sup>5</sup>

Uit een recent cohortonderzoek en een meta-analyse van gepubliceerde artikelen blijkt de gepoolde prevalentie van gastro-intestinale symptomen (waaronder misselijkheid, braken, diarree en buikpijn) onder COVID-19 patiënten 17,6% te zijn. Bij 48,1% van de patiënten werd viraal SARS-CoV-2 RNA gedetecteerd in de ontlasting. In veel gevallen zelfs nadat de respiratoire monsters negatief waren getest. Viraal RNA werd vaker gedetecteerd bij patiënten met diarree vergeleken met patiënten zonder diarree.<sup>25</sup> Dit lijkt te suggereren dat fecale virale uitscheiding een potentiële route voor overdracht is. Maar voor zover bekend is men er nog niet in geslaagd om uit de fecale monsters infectieus virus te isoleren. Er is meer onderzoek nodig naar de mate van transmissie via de fecaal-orale route.<sup>26</sup>

## Besmettelijke periode

Er bestaat nog veel onduidelijkheid over de mate waarin het virus wordt uitgescheiden door patiënten en daarmee hoe lang een patiënt besmettelijk blijft. Ook is er nog veel onduidelijk in hoeverre asymptomatische patiënten besmettelijk zijn.

De hoeveelheid virusdeeltjes zegt iets over de besmettelijkheid van het virus. Hoe hoger de zogenoemde *viral load*, des te besmettelijker de ziekte. SARS-CoV-2 bereikt zijn piekconcentratie binnen 5 dagen na aanvang van de symptomen en is ongeveer 1000 keer hoger dan het eerste SARS-virus (SARS-CoV bereikt zijn piekconcentratie ongeveer 7-10 dagen na het begin van de symptomen).<sup>26</sup> Na de eerste week neemt de viral



load langzaam af. Oudere patiënten en patiënten met comorbiditeit, zoals diabetes mellitus, hypertensie en andere cardiovasculaire aandoeningen, hebben vermoedelijk een hogere *viral load* en scheiden het virus waarschijnlijk langer uit.<sup>27</sup> In een studie van To *et al* werd bij 7 van de 21 patiënten meer dan 20 dagen na de aanvang van symptomen nog viraal RNA in posterieure orofaryngeale speekselmonsters gedetecteerd. Er was volgens de auteurs geen associatie tussen de ernst van de ziekte en de langdurige detectie van viraal RNA. Zij zagen echter ook geen verschil in de initiële en piek viral load tussen patiënten met en zonder comorbiditeit.<sup>28</sup>

Er zijn gevallen van asymptomatische COVID-19 besmettingen gemeld. Hoewel er nog veel onduidelijkheid bestaat over het aandeel van deze asymptomatische besmettingen onder alle geïnfekteerde personen suggereert 1 Chinese studie dat het merendeel van de infecties asymptomatische verloopt. Pre-symptomatische transmissie van het virus kan 1 tot 3 dagen voor de ontwikkeling van symptomen plaatsvinden.<sup>29</sup>

## Immunititeit

In de eerdergenoemde studie van To *et al*. begon de concentratie IgG- en IgM-antilichamen ongeveer 10 dagen na aanvang van symptomen te stijgen. Bij de meeste patiënten in deze studie trad seroconversie binnen de eerste 3 weken na aanvang symptomen op. Dit is vergelijkbaar met de resultaten van een studie van het Erasmus MC (seroconversie na 13-21 dagen).<sup>30</sup> Het is nog niet bekend hoe lang de immunitet na infectie blijft bestaan. Sanquin gaat onderzoeken of de afweerstoffen van genezen patiënten kan helpen bij het verminderen van symptomen bij andere patiënten. Daarom starten zij met het verzamelen van bloedplasma van genezen coronapatiënten.<sup>31</sup>

## Overleving buiten de gastheer en inactivatie

De stabiliteit van het virus is in het laboratorium onderzocht. Daarbij is zowel gekeken naar de stabiliteit in druppeltjes als de stabiliteit op verschillende oppervlakten, zoals plastic, roestvrijstaal, koper en karton. Uit het onderzoek kwam naar voren dat het virus enkele uren levensvatbaar kan blijven in de lucht en enkele dagen op plastic en roestvrijstaal.<sup>32</sup> Hierbij moet worden vermeld dat de experimenten in een gecontroleerde omgeving zijn verricht en de resultaten mogelijk anders zijn buiten het laboratorium. Tevens is er gewerkt met hoge concentraties van het virus en het is maar de vraag of geïnfekteerde patiënten dergelijke hoeveelheden kunnen achterlaten op oppervlakten. Volgens een studie van Kampf *et al*. zorgt desinfectie van oppervlakten met natriumhypochloriet of 62-71% ethanol voor een aanzienlijke vermindering van de besmettelijkheid van coronavirussen.<sup>33</sup>

## Diagnostiek

### Moleculaire diagnostiek met RT-PCR

De gouden standaard voor het aantonen van een SARS-CoV-2 infectie is (real-time) reverse-transcriptie (RT)-PCR op geïsoleerd viraal RNA afkomstig van monsters die via van nasale of orale swabs zijn uitgenomen. Inmiddels is uit de literatuur gebleken dat dit geen 100% garantie geeft. Yang *et al.* hebben de nauwkeurigheid van de verschillende bemonsteringstechnieken onderzocht die gebruikt worden voor de laboratoriumdiagnose van SARS-CoV-2.<sup>34</sup>

Uit hun onderzoek, gebaseerd op 866 monsters afkomstig van 213 patiënten (205 keelwabs, 490 neusswabs, 142 sputumsamples, 29 BAL fluid samples), komt naar voren dat sputummonsters waarschijnlijk meest nauwkeurig zijn, gevolgd door neus- en keelwabs. Dit zijn tevens de snelste, eenvoudigste en veilige manieren om monsters af te nemen. De auteurs geven tevens aan dat CT-scans een belangrijke aanvulling kunnen zijn voor de diagnose van *Novel Coronavirus Pneumonia* (NCP).

In een studie van Wikramaratna *et al.* zijn 298 testresultaten van 30 positieve patiënten (150 nasale swabs en 148 keelwabs) geanalyseerd en gebruikt voor modelering. Volgens de modellen in de studie neemt de kans op een positief testresultaat af naarmate het aantal dagen sinds de aanvang van de symptomen toeneemt. Voor een nasale swab neemt de procentuele kans op een positieve test af van 94,39% op dag 0 (spreiding 86,88% - 97,73%) tot 67,15% op dag 10 (spreiding 53,05% - 78,85%) en 2,38% op dag 31 (spreiding 0,60% - 9,13%). Voor een keelwab liggen de percentages iets lager: 88% op dag 0 (spreiding 75,18% - 94,62%), 47,11% op dag 10 (spreiding 32,91% - 61,64%) en 1,05% op dag 31 (spreiding 0,24% - 4,44%).

De auteurs concluderen dat het testen van keel- en neusuitstrijkjes met RT-PCR geen garantie geeft op een positief test resultaat. De kans op een positief resultaat wordt kleiner met het verstrijken van het aantal dagen sinds de start van de symptomen. Met andere woorden, hoe langer de tijd vanaf het begin van de symptomen, hoe groter de kans op een fout-negatief resultaat. Het herhaaldelijk testen van verdachte patiënten met RT-PCR-negatieve resultaten, verkleint de kans dat geïnfecteerde personen niet worden geïdentificeerd.<sup>35</sup>

Sanquin gaat in opdracht van de NTS testen op de aanwezigheid van viraal RNA in monsters (swabs) die zijn afgenomen uit de neus- en keelholte van postmortale weefselorganen. Sanquin maakt hiervoor gebruik van de Cobas® SARS-CoV-2 real-time RT-PCR. Volgens de fabrikant is een positief testresultaat indicatief voor de aanwezigheid van SARS-CoV-2 RNA, maar sluit dit resultaat een bacteriële infectie of een co-infectie met andere virussen niet uit. Voor de NTS is een positief resultaat direct reden om de weefsels niet vrij te geven. Ook een negatief resultaat sluit een infectie met SARS-CoV-2 niet uit. Een negatief test resultaat wordt door de medische staf van de NTS daarom altijd geïnterpreteerd in de context van het klinische beeld ten tijde van overlijden, de medische en sociale voorgeschiedenis van de donor en eventuele diagnostiek die voor overlijden is verricht, zoals een CT-scan.

## Serologische testen op SARS-CoV-2

In april start Sanquin met het meten van antistoffen tegen het coronavirus bij alle bloeddonors die gedurende een periode van ongeveer een week komen doneren.<sup>36</sup> Het doel is om te peilen hoe snel de samenleving immuniteit tegen de ziekte opbouwt. Tevens kan er inzicht verkregen worden om de ziektelast, met name het aantal asymptomatische infecties, te achterhalen en om betere schattingen van morbiditeit en mortaliteit te krijgen. Sanquin maakt hiervoor gebruik van een zogenoemde SARS-CoV-2 Antibody Elisa. Deze assay detecteert het totaal aan antilichamen tegen het receptor bindend domein van het SARS-CoV-2 spike-eiwit. De assay maakt geen onderscheid tussen IgG- en IgM antilichamen. De NTS onderzoekt of deze serologische test, naast de eerder genoemde RT-PCR test, toegevoegde waarde heeft voor de donorscreening.

## Labwaarden

Bij gehospitaliseerde COVID-patiënten blijkt er vaak sprake te zijn van een afwijkend bloedbeeld. Met name lymfopenie en verhoogd CRP komen veelvuldig voor. Uit een beschrijving van de kenmerken van 107 patiënten met COVID-19 op de Spoedeisende Hulp (SEH) van ziekenhuis Bernhoven had 51% van de patiënten een CRP  $\geq$  50 mg/l, 12% een leukocytose en was bij 61% de LD-waarde verhoogd.<sup>37</sup> Bij 31 patiënten werd het aantal lymfocyten bepaald. Bij 77% van deze patiënten was er sprake van een absolute lymfocytopenie. In een reeks van 393 COVID-19 patiënten in New York City had 90% een lymfocytenaantal van  $<$  1500/microl. Leukocytose ( $>$  10.000 / microl) en leukopenie ( $<$ 4000 / microl) werd bij ongeveer 15 procent van de patiënten gemeld.<sup>38</sup>

## Referenties

1. Sungnak *et al.* (2020). SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes. *Nat Med.*
2. Holappa M *et al.* (2015). Angiotensin (1-7) and ACE2, “The Hot Spots” of Renin-Angiotensin System, Detected in the Human Aqueous Humor. *Open Ophthalmol J.* 9: 28–32
3. Yu Jun IS *et al.* (2020). Assessing Viral Shedding and Infectivity of Tears in Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Patients. *Ophthalmology*
4. Xia J. (2020). Evaluation of coronavirus in tears and conjunctival secretions of patients with SARS-CoV-2 infection. *J. Med. Virol.*
5. Eggers M *et al.* (2015). Rapid and Effective virucidal activity of povidone-iodine products against Middle East Respiratory Syndromes coronavirus (MERS-CoV) and modified vaccinia virus Ankara. *Infect. Dis. Ther.* 4: 491 - 501
6. Hamming I (2004). Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *J. Pathol.* 203(2): 631-7.
7. Marshall *et al.* (1995). Effect of glycerol on intracellular virus survival: implications for the clinical use of glycerol-preserved cadaver skin.
8. Zheng YY *et al.* (2020). COVID-19 and the cardiovascular system. *Nature.*
9. Madjid M *et al.* (2020). Potential Effects of Coronaviruses on the Cardiovascular System: A Review. *JAMA Cardiol.*
10. Chen L *et al.* (2020). The ACE2 expression in human heart indicates new potential mechanism of heart injury among patients infected with SARS-CoV-2. *Cardiovascular Research*
11. Oudit GY *et al.* (2009). SARS-coronavirus modulation of myocardial ACE2 expression and inflammation in patients with SARS. *Eur. J. Clin. Invest.* 39(7):618-25
12. Bradley BT *et al.* (2020). Histopathology and Ultrastructural Findings of Fatal COVID-19 Infections. *medRxiv* <https://bit.ly/2KosS2v>
13. Zhou P *et al.* (2020). A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature.* <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>
14. de Wit E *et al.* (2016). SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nat. Rev. Microbiol.* 14(8): 523-534

- 
15. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Common human coronaviruses. <https://bit.ly/39jenrQ> (bezoekt op 2 maart 2020)
  16. RIVM (2020). LCI-richtlijn COVID-19
  17. Hoffmann *et al.* (2020). SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*
  18. Xu H *et al.* (2020). High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. In. *J. Oral. Sci.* 12(1): 8
  19. Hamming I *et al.* (2007). The emerging role of ACE2 in physiology and disease. *J. Pathol.* 212: 1–11
  20. Zou D. *et al.* (2020). COVID-19: a recommendation to examine the effect of hydroxychloroquine in preventing infection and progression. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*
  21. Shi Y *et al.* (2020). COVID-19 infection: the perspectives on immune responses
  22. Chen C. *et al.* (2020) SARS-CoV-2: a potential novel etiology of fulminant myocarditis. *Herz*
  23. Li H *et al.* (2020). SARS-CoV-2 and viral sepsis: observations and hypotheses. *Lancet.*
  24. Fang L *et al.* (2020). Are patients with hypertension and diabetes mellitus at increased risk for COVID-19 infection? *Lancet. Respir. Med.* (20) 30116-8
  25. Gastrointestinal Manifestations of SARS-CoV-2 Infection and Virus Load in Fecal Samples from the Hong Kong Cohort and Systematic Review and Meta-analysis.
  26. Yang Pan *et al.* (2020) Viral Load of SARS-CoV-2 in Clinical Samples. *Lancet Infect. Dis*
  27. Liu Y *et al.* (2020). Viral dynamics in mild and severe cases of COVID-19. *Lancet Infect. Dis.* S1473-3099(20)30232-2.
  28. To KK. *et al.* (2020). Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2 : an observational cohort study. *Lancet. Infect. Dis.* Mar 23.
  29. Day M. (2020). Covid-19: four fifths of cases are asymptomatic, China figures indicate. *BMJ*; 369
  30. Okba *et al.* (2020). SARS-CoV-2 specific antibody responses in COVID-19 patients.
  31. Nieuwsbericht: Sanquin start met inzameling plasma van genezen coronapatiënten. <https://bit.ly/2R5Ox3t>
  32. Holbrook *et al.* (2020). Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *N. Engl. J. Med.*
  33. Kampf G *et al.* (2020). Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents. *J. Hosp. Infect.* 104(3):246-251
  34. Yang *et al.* (2020). Evaluating the accuracy of different respiratory specimens in the laboratory diagnosis and monitoring the viral shedding of 2019-nCoV infections
  35. Wikramaratna (2020). Estimating false-negative detection rate of SARS-CoV-2 by RT-PCR. medRxiv preprint doi: <https://doi.org/10.1101/2020.04.05.20053355>
  36. Nieuwsbericht: Sanquin-onderzoek: hoe breed is het coronavirus al verspreid? <https://bit.ly/2X0J1mq>
  37. Buenen AGN *et al.* (2020). COVID-19 op de Spoedeisende Hulp in Bernhoven. *Ned tijdschr geneeskd.* 2020;164: D5001
  38. McIntosh K *et al.* (2020). Coronavirus disease 2019 (COVID-19): Epidemiology, virology, clinical features, diagnosis, and prevention. *UpToDate*