

Epidemiološka priporočila glede oseb, ki so prebolele covid-19

Prof. dr. Janez Tomažič, dr. med.¹, Asist. dr. Rajko Saletinger, dr. med.¹, Gabriele Turel, dr. med.¹, Prof. dr. Alojz Ihan, dr. med.², Mario Fafangel, dr. med.³, Acad. prof. dr. Tatjana Avšič Županc, dr. med.², Asist. dr. Tadeja Kotar, dr. med.¹, Prof. dr. Miroslav Petrovec, dr. med.², Prof. dr. Bojana Beović, dr. med.¹, Doc. dr. Tatjana Lejko Zupanc, dr. med.¹, Prim. dr. Alenka Trop Skaza⁴, dr. med., Dr. Milan Krek, dr. med.³,

¹Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, UKCL, Medicinska fakulteta, UL, Japljeva 2, 1525 Ljubljana

²Inštitut z mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, UL, Zaloška 4, 1000 Ljubljana

³Nacionalni inštitut za javno zdravje, Zaloška cesta 29, 1000 Ljubljana

⁴Nacionalni inštitut za javno zdravje, Območna enota Celje, Ipavčeva 18, 3000 Celje

Uvod

Temeljna preiskava, s katero dokazujemo prisotnost novega koronavirusa (angl. *severe acute respiratory syndrome-coronavirus-2*; okr. SARS-CoV-2), ki povzroča covid-19 (angl. *coronavirus infectious disease 19*, koronavirusna bolezen 19), je določanje virusne ribonukleinske kisline (RNK) v respiratornih kužninah z metodo verižne reakcije s polimerazo v realnem času (angl. *real-time polymerase chain reaction*; okr. RT-PCR). Najpogosteje vzamemo bris nosno-žrelnega prostora (okr. bris). Do danes še ne vemo povsem zanesljivo, v katerem obdobju covid-19 je oseba kužna oziroma najbolj kužna, ali prebolela bolezen zagotavlja imunost, ali lahko pride do ponovne okužbe, ali je pri morebitni ponovni okužbi potek bolezni blažji itd. Zaradi tega prebolevnikom covid-19 še vedno svetujemo vse preventivne ukrepe za preprečevanje morebitne ponovne bolezni. Znanje o diagnostičnih testih za SARS-CoV-2 se še vedno dopolnjuje. Pomembno je razumevanje narave testov, razlaga njihovih rezultatov in omejitev.(1, 2)

Imunost po preboleli okužbi se med koronavirusi verjetno razlikuje. Vemo, da se SARS, ki ga povzroča novemu koronavirusu zelo soroden virus (SARS-CoV-1) od leta 2004 ne pojavlja več. Ponovne okužbe pa se pojavljajo pri sezonskih koronavirusih zaradi velike genetske variabilnosti.(3–8)

V prispevku skušamo na temelju današnjega znanja odgovoriti na vprašanja: v katerem obdobju bolezni je bolnik najbolj kužen in kako dolgo je kužen, kakšna je kužnost po preboleli bolezni, kaj pomeni pozitiven PCR test po preboleli bolezni (podaljšana pozitivnost,

ponovna pozitivnost) in kakšen je pomen protiteles. Napisali smo tudi priporočila glede PCR testiranja oseb, ki so prebolele covid-19. Zavedati se moramo, da so to trenutna priporočila, ki se z novimi spoznanji lahko spremenijo. Prikazan je tudi pregled nam dostopne literature.

Obdobje kužnosti

Pomemben vpogled v obdobja kužnosti covid-19 in s tem povezano dinamiko prenosa SARS-CoV-2, nam kaže tajvanska prospektivna raziskava, v katero je bilo vključenih prvih 100 mikrobiološko potrjenih primerov covid-19 in njihovih 2761 tesnih stikov, ki so jih spremljali v obdobju njihove 14-dnevne karantene.(9) Stopnja obolevnosti s covid-19 med 1818 kontakti, pri katerih se je izpostavljenost okužbi začela pred pojavom oziroma v prvih petih dneh od pojava simptomov in znakov bolezni pri indeksnih primerih, je bila višja (1,0 % [95 % IZ 0,6 %-1,6 %]) kot med 852 kontakti, kjer se je izpostavljenost začela po 5. dnevu. Med slednjimi se ni nihče okužil. Med 299 kontakti, ki so bili v stiku z indeksnimi primeri izključno v njihovem pre-simptomatskem obdobju, jih je s covid-19 zbolelo 0,7 % (95 % IZ 0,2 %-2,4 %). Izsledki opisane raziskave kažejo, da se večina prenosov okužbe s SARS-CoV-2 zgodi v začetnem obdobju bolezni oz. že nekaj dni pred pojavom simptomov in znakov pri indeksnih primerih.

Podobno dinamiko okužbe in njene umiritve so opazili tudi v študiji nemških raziskovalcev. Pri devetih bolnikih s covid-19 so od prvega simptomatskega dne dalje sledili prisotnost virusne RNK v brisu, izmečku, krvi, urinu in blatu. Hkrati so odvzete vzorce tudi nasajali na celične kulture, da bi pokazali, če s PCR dokazana nukleinska kislina pomeni tudi kužnost virusa. Niti virusne RNK, niti kužnega virusa ni bilo mogoče dokazati v krvi in urinu; v blatu je bilo mogoče v prvem tednu kliničnih znakov dokazati virusno RNK, ne pa kužnega virusa (virusne kulture so bile negativne). V brisu nosno-žrelnega prostora in v izmečku je bilo od prvega dne mogoče dokazati virusno RNK in kužen virus (virusne kulture so bile pozitivne). Slednji je vztrajal do konca prvega tedna (prvih 7 dni) in takrat izzvenel, medtem ko je bil dokaz virusne RNK pri večini možen do konca drugega tedna, najdlje 28 dni. Serokonverzija (pojav protiteles) je začela od 7 do 14 dni po začetku simptomov in znakov bolezni. Rezultati zgoraj omenjene raziskave kažejo, da se virus aktivno pomnožuje v sluznici nosno-žrelnega prostora do enega tedna po začetku simptomov in znakov, pomnoževanje virusa in s tem kužnost je največja ob začetku kliničnih težav in nato upada. Po serokonverziji kužnost virusa iz brisa izgine. Pomnoževanje virusa v sluznici nosno-žrelnega prostora pred začetkom simptomov in znakov ter teden dni po začetku bolezni omogoča virusu veliko kužnost tudi pri osebah z blago obliko bolezni (10) in tudi pri brezsimptomnih osebah.(11)

Do podobnih zaključkov glede viabilnosti/kužnosti virusa so prišli tudi kanadski raziskovalci. 90 pozitivnih brisov so kultivirali na celični kulturi. V 26 primerih je bila kultivacija virusa uspešna. Ob tem je pomemben podatek, da kultivacija ni bila uspešna v primeru, ko je bil pri pozitivnem brisu pomnoževalni cikel večji od 24 (angl. *cycle threshold-Ct*, prazni cikel) ter je od pojava simptomov in znakov bolezni minilo več kot 8 dni.(12)

Glede na podatke Svetovne zdravstvene organizacije, ki jih navajajo na svoji spletni strani, traja predvideno obdobje kužnosti pri bolnikih z blago in zmerno obliko bolezni 7 do 12 dni, pri osebah s hudo obliko bolezni pa 7 do 14 dni.(13) Podatkov o tem, koliko časa se aktivni virus izloča pri bolnikih z imunsko motnjo, še ni.

Podaljšana pozitivnost PCR testa

Pri nekaterih bolnikih lahko še nekaj tednov po preboleli bolezni zaznavamo virusno ribonukleinsko kislino (RNK) v respiratornih kužninah (najpogosteje vzamemo bris nosno-žrelnega prostora, okr. bris), kar ni presenetljivo glede na veliko občutljivost testa. Pozitiven PCR test na SARS-CoV-2 v respiratornih kužninah lahko, glede na nam dostopne podatke iz literature, vztraja tudi do 63 dni po začetku simptomov in znakov bolezni, z mediano 12-20 dni.(1, 2, 14) Zhou in sod. poročajo, da je bila pri 41 kritično bolnih s covid-19, mediana pozitivnih PCR testov daljša, 31 dni.(15) Dokaj gotovo je, da kužnost ni sorazmerna s trajanjem pozitivnega brisa na SARS-CoV-2.(3, 4, 16–19)

Ponovna pozitivnost PCR testa

Pri nekaterih bolnikih po preboleli bolezni covid-19 negativen bris čez čas postane ponovno pozitiven.

V Južni Koreji so v zadnjih mesecih ugotavljali pri številnih osebah, ki so prebolele covid-19 in virus ni bil več zaznaven, da je bil bris ponovno pozitiven, čeprav v državi ni bilo več veliko novih primerov okužb. Vseeno so se zbuiali strahovi, da so se prebolele osebe ponovno okužile oziroma se je virus po predhodnem mirovanju reaktiviral. Zaradi tega so se porajala vprašanja o imunosti po preboleli bolezni.

Po mnenju južnokorejskih zdravnikov pri 292 korejskih bolnikih s covid-19, pri katerih je kazalo, da je prišlo do reinfekcije, ponovno pozitivni PCR testi niso zaznali infektivnega virusa ampak zgolj njegove ostanke v tkivu.(17) Temu v prid so tudi izsledki pri 285 osebah, ki so prebolele covid-19 in je prišlo do ponovitve pozitivnih brisov, vendar pa pri 790 kontaktih (351 družinskih in 439 ostalih) niso beležili prenosov okužbe.(18)

Tudi analiza skupine 474 južnokorejskih bolnikov s covid-19, pri katerih je bil test ponovno pozitiven, je pokazala, da niso bili kužni za druge ljudi. Pri 108 osebah z navidezno

(laboratorijsko) ponovitvijo bolezni (relapsom) so bile virusne kulture negativne, kar dokazuje neinfektivnost teh oseb.(19)

Glede na rezultate številnih raziskav lahko zaključimo, da ne gre za ponovno okužbo ali za reaktivacijo, temveč za dejstvo, da je PCR test zelo občutljiv in zazna virusno RNK v zelo nizki koncentraciji in tudi RNK mrtvih virusov. Večinoma so rezultati teh testov blizu meje zaznavnosti z visokim praznim ciklom. Delci virusa lahko ostanejo še več mesecev v telesu preboleznikov, ki ne kažejo bolezenskih simptomov in znakov in niso več kužni. Kaže, da virusni delci ostanejo v epitelijskih celicah sluznice dihalnih poti tudi, ko virus ni več aktiven. Razpolovni čas teh celic traja tudi do tri mesece in RNK delce lahko zaznamo s PCR testi še ena do dva meseca po začetku bolezni. To so razlogi, da pri nekaterih osebah vztrajajo pozitivni brisi oziroma da ponovno zaznamo pozitivne brise. (5–8,15)

Kaže, da te osebe ne predstavljajo pomembnega kliničnega oz. javno-zdravstvenega problema, vendar dokončni dokazi za vso populacijo obolelih še ne obstajajo.

Imunost: živalski preskus

V prid tezi, da pri preboleznikih covid-19 pride do zaščitnega imunskega odziva, ki preprečuje ponovno okužbo, kažejo rezultati poskusov na opicah *rhesus*, ki po okužbi s SARS-CoV-2 obolijo za covid-19 podobno boleznijo z vnetjem zgornjih dihal in pljučnico. Devet opic, ki so jih okužili s SARS-CoV-2, je zbolelo z značilno klinično sliko covid-19 in 14-dnevno navzočnostjo virusa v brisu nosno-žrelnega prostora in bronhoalveolarnem izpirku (BAL). Po enem tednu okužbe je nastal specifični protitelesni in T-celični imunski odziv. Po izginotju virusa (PCR brisa žrela in BAL-a) so tri tedne po okužbi opice ponovno okužili in ugotovili, da so brisi žrela prehodno sicer postali pozitivni zaradi odmerka apliciranega virusa, vendar pa se virus ni uspel razmnoževati. Brisi so zato že po 3 do 4 dneh postali spet negativni, živali pa niso ponovno zbolele.(20)

Pomen seroloških testov

Serološki testi so namenjeni merjenju navzočnosti (kvalitativni testi) in koncentracije (kvantitativni testi) protiteles, ki so nastali po okužbi SARS-CoV-2. Protitelesa v serumu se praviloma pojavijo med 7 in 14 dnevom po začetku bolezni (serokonverzija). Zaradi zakasnenega pojava protiteles po začetku okužbe zato serološki testi niso uporabni za dokazovanje akutne okužbe, zelo uporabni pa so lahko za epidemiološko obvladovanje covid-19. Z njimi lahko opredelimo prekuženost določene populacije (seroprevalenca), v kombinaciji z drugimi podatki ugotavljamo, kolikšen delež prebivalstva je bil izpostavljen virusu brezsimptomno oz. z neobičajno klinično sliko, opredelimo osebe z veliko

koncentracijo protiteles, ki bodo potencialni darovalci rekonvalescentnega seruma za zdravljenje, opravilno presejanje zdravstvenih delavcev ali delavcev v domovih za starejše (DSO), da bi ugotovili imunost.

Za ugotavljanje protiteles proti SARS-CoV-2 največkrat uporabljamo encimsko imunske teste (ELISA), s katerimi ugotavljamo specifične IgM, IgG ali IgA protitelesa proti izbranim proteinom (antigenom) virusa SARS-CoV-2. Antigeni v testih ELISA so običajno virusni protein S (spike), protein N (nukleokapsidni) ali RBD (receptor binding domain – domena proteina S, ki se receptorsko veže na ACE2 – celični receptor za SARS-CoV-2). Na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo MFUL uporabljamo test ELISA, kjer dokazujemo specifična protitelesa IgG in IgA. Prav tako uporabljamo presejalni test, kjer dokazujemo celokupna protitelesa.

Eden od problemov seroloških testov je križna reaktivnost z drugimi koronavirusi, zato so med serološkimi testi uporabni le taki, ki se v postopku evaluacije izkažejo za dovolj specifični in občutljivi. Zlasti v epidemioloških razmerah nizke prekuženosti mora imeti serološki test izjemno veliko občutljivost in specifičnost (oboje blizu 100%), sicer njegova uporaba ni smiselna. Že majhno odstopanje specifičnosti pri nizki prekuženosti pomeni, da je večina izmerjenih pozitivnih rezultatov v resnici lažno pozitivnih – s tem je ocena prevalence izrazito lažno povečana.

Med serološkimi testi imajo poseben pomen nevtralizacijski testi. To so testi, kjer na celičnih kulturah, okuženih s SARS-CoV-2, ugotavljamo količino nevtralizacijskih protiteles – tistih, ki preprečijo širjenje celične okužbe. Ker je za vzpostavljanje testa z virusno kulturo potreben zahteven laboratorijski pogon, je metoda predvsem pomembna za raziskovalno testiranje infektivnosti, imunosti ter oceno učinkovitosti zdravil in cepiv.

Izkušnje v Sloveniji

Pregledali smo podatke 176 bolnikov s covid-19, ki so bili obravnavani na Kliniki za infekcijske bolezni in vročinska stanja, UKCL v obdobju od 4.3.2020 do 18.5.2020. V bolnišnici smo zdravili 91 bolnikov (51,7 %), 85 bolnikov (48,3 %) pa smo obravnavali ambulantno. Dva zaporedno negativna izvida PCR testa v obdobju do 30 dni po prvem pozitivnem PCR testu je imelo 83 (47,2 %) bolnikov, 21 (11,9 %) bolnikov je imelo dva negativna brisa po več kot 30 dneh. Pri 62 (35,2 %) bolnikih je bil en bris negativen, kontrolni bris v naslednjih 24 do 72 urah pa ponovno pozitiven. Dva negativna brisa, nato pa ponovno pozitiven bris je imelo 10 (5,7 %) bolnikov. Najdlje je imela pozitiven bris bolnica, ki je bila vodena samo ambulantno (64. dan po prvem brisu je bila še pozitivna, 2 zaporedna negativna

brisa pa sta bila 70. in 71. dan). Pri preučevanju vzorcev šestih naših bolnikov, ki so imeli dolgotrajne pozitivne rezultate molekularnega testiranja brisov nosno žrelnega predela, smo s poskusom izolacije virusa na celičnih kulturah ugotovili, da je mogoče virus osamiti le iz kužnin (briso), ki so odvzete v prvem tednu od pojava kliničnih simptomov in znakov bolezni. Pri vseh teh bolnikih smo dokazali tudi nevtralizacijska protitelesa, ki so se pojavila najkasneje v 14-dneh od laboratorijsko potrjene okužbe.

Pri naših bolnikih, ki so preboleli covid-19, nismo zaznali prenosa okužbe na drugo osebo.

Zaključek

Glede na podatke iz literature in na naše izkušnje, ugotovitve postavljajo v ospredje ukrepe hitrega odkrivanja primerov, izolacije, iskanja stikov in karantene. Skupaj z ukrepi fizične distance, higiene (predvsem umivanja) rok, higiene kašlja in ostale temeljne preventive, predstavljajo temelj za obvladovanje širjenja virusa v populaciji in preprečevanja daljših epidemioloških verig prenosov.

Podatki, ki so na voljo in so citirani v našem članku, vključujejo predvsem odraslo populacijo, izvzeti so otroci, osebe s hujšimi imunskimi motnjami in pogosto tudi bolniki s kritičnim potekom bolezni. Še zlasti pri osebah z imunskimi motnjami, ki so lahko nagnjene k dolgotrajnejšem razmnoževanju drugih mikrobov, možnosti prenosa v kasnejšem obdobju po okužbi ne moremo popolnoma izključiti.

Dokončnega odgovora glede obdobja kužnosti oseb s covid-19 torej še ni. Zanesljivo vemo, da so kužne nekaj dni pred pojavom simptomov in znakov bolezni (2 do 3 dni?).(9, 11) Na temelju raziskav, v katerih so spremljali prenose okužbe pri stikih bolnih z neokuženimi osebami (9, 18, 19) in raziskav, ko so s poskusom osamitve virusa na celičnih kulturah, skušali ugotoviti ali je s PCR dokazan virus tudi kužen (infektiven) (10, 12 19), lahko povzamemo, da je oseba, ki je prebolela blago/zmerno obliko bolezni kužna še 5 do 10 dni, oseba s hudo obliko bolezni pa 5 do 12 dni po nastopu simptomov in znakov bolezni.(13)

S serološkimi testi si trenutno glede imunosti še ne moremo pomagati.

Vse več je dokazov, da osebe, pri katerih zaznamo pozitiven PCR test še več kot 14 dni po umiritvi simptomov in znakov bolezni, niso več kužne. Vse več je tudi dokazov, da do ponovne okužbe oziroma do reaktivacije s SARS-CoV-2 ne pride in da osebe, pri katerih ponovno zaznamo virusno RNK niso kužne. Pri tovrstnih primerih so pozitivni izvidi najpogosteje blizu meje zaznavnosti testa (visok prazni cikel), pogosto se pozitiven izvid brisa izmenjuje z negativnim izvidom brisa. Gotovo so tudi razlike v tehniki zbiranja in ravnanja z vzorcem kužnine oz. različni pogoji skladiščenja, ki vplivajo na zmogljivost testa. Do danes

ni bila potrjena nobena ponovna okužba s SARS-CoV-2 (3–8, 14,15), vendar pa dokončni podatki glede post-infekcijske imunosti še manjkajo. Žal je trenutno še vedno več vprašanj kot odgovorov. Potrebne so dobro načrtovane longitudinalne kohortne raziskave pri populaciji oseb, ki so prebolele covid-19. Za kratkoročno oceno morebitne ponovitve bolezni nam služijo podatki o spremljanju bolnikov s covid-19 (angl. *surveillance*), ki temeljijo na prijavljanju tovrstnih primerov.(9, 19)

Čeprav so dokazi o kužnosti tovrstnih primerov v literaturi pomanjkljivi, je pomembno, da zdravstvena stroka zavzame skupno stališče, saj ukrepi, ki izhajajo iz takšnega pozitivnega testa (izolacija ali karantena) lahko globoko posegajo v človekove pravice in imajo nenazadnje lahko tudi širše ekonomske posledice. Ukrepi morajo biti utemeljeni oziroma imeti vpliv na širjenje virusa in posledično na zdravje ljudi. Ukrepi morajo biti utemeljeni, sorazmerni in morajo zamejiti širjenje virusa v populaciji.

Priporočila glede obravnave oseb, ki so prebolele covid-19 (ne veljajo za osebe z imunsko motnjo* in kritično bolne, ki so se zdravili v enoti za intenzivno zdravljenje)

Držimo se strategije, ki temelji na simptomih in znakih bolezni covid-19.(16–22)

1. **Oseba (vključno z zdravstvenim delavcem), ki je prebolela covid-19**, se lahko vrne na delovno mesto 14 dni po umiritvi simptomov in znakov bolezni (brez vročine, umiritev kašlja in drugih simptomov in znakov) oziroma 14 dni po pozitivnem PCR testiranju, če je okužbo prebolevala brezsimptomno. Ponovno PCR testiranje ni potrebno.
2. **Pri osebi, ki je dokazano prebolela covid-19 ali imela utemeljen sum na covid-19 v domačem okolju** in je že minilo 14 dni od umiritve simptomov in znakov bolezni ter je predvidena za kakršnokoli terapevtsko ali diagnostično zdravstveno obravnavo, ponovno PCR testiranje ni potrebno.
3. **Pri osebi, ki je imela hujši potek bolezni covid-19 in je potrebovala bolnišnično obravnavo**, PCR testiranje 14 dni po umiritvi simptomov in znakov bolezni ni potrebno.

Izjema so osebe z imenskimi motnjami*. V primeru, da je po 14 dneh bris še pozitiven, ponavljamo brise na 7 dni do prvih dveh zaporedno negativnih brisov, odvzetih v razmiku vsaj 24 ur.

4. **Če se oseba, ki je prebolela covid-19, pozneje ponovno testira in je test pozitiven**, menimo, da je v obdobju 8. tednov od začetka bolezni pozitiven test odraz stare

okužbe. Glede na dosedanje podatke, te osebe niso kužne in ni potrebna izolacija. Za dodatne informacije se lahko posvetujete z infektologom in/ali epidemiologom.

5. **Če oseba, ki je prebolela covid-19 in po zgoraj navedenih kriterijih ni več kužna, zboli z vročino ter simptomi in znaki, značilnimi za drugo infekcijsko bolezen, ponovno PCR testiranje ni potrebno.**

Za testiranje se odločimo, če simptomi in znaki ustrezajo covid-19.

*prejemniki presadkov (čvrstih organov, krvotvornih matičnih celic); osebe, ki se zdravijo z glukokortikoidi in drugimi imunosupresivnimi zdravili; osebe z rakavimi boleznimi, HIV/aidsem, odpovedjo ledvic (hemodializa) in jeter (Child 3), osebe brez vranice oziroma s funkcionalno asplenijo; osebe s primarnimi imunskimi motnjami.

Reference

1. Young BE, Ong SWX, Kalimuddin S, Low JG, Tan SY, Loh J, et al. Epidemiologic Features and Clinical Course of Patients Infected With SARS-CoV-2 in Singapore. JAMA [Internet]. 2020 Apr 21;323(15):1488–94. Available from: <https://doi.org/10.1001/jama.2020.3204>.
2. Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. Lancet [Internet]. 2020 Mar 28;395(10229):1054–62. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30566-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30566-3).
3. Lan L, Xu D, Ye G, Xia C, Wang S, Li Y, et al. Positive RT-PCR test results in patients recovered from COVID-19. JAMA. 2020;323(15):1502–3.
4. Yuan J, Kou S, Liang Y, Zeng J, Pan Y, Liu L, et al. PCR assays turned positive in 25 discharged COVID-19 patients. Clin Infect Dis. 2020;pii:ciaa398.
5. Li Y, Yao L, Li J, Chen L, Song Y, Cai Z, et al. Stability issues of RT-PCR testing of SARS-CoV-2 for hospitalized patients clinically diagnosed with COVID-19. J Med Virol. 2020;1–6. [cited 2020 May 18]. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/jmv.25786>.
6. Wang X, Yao H, Xu X, et al. Limits of detection of six approved RT-PCR kits for the novel SARS-coronavirus-2 (SARS-CoV-2). Clin Chem 2020; pii: 5819547. PubMed: <https://pubmed.gov/32282874>.

7. Kirkcaldy RD, King BA, Brooks JT. COVID-19 and postinfection immunity: limited evidence, many remaining questions. *JAMA* 2020; doi:10.1001/jama.2020.7869.
8. Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting diagnostic tests for SARS-CoV-2. *JAMA* 2020; doi:10.1001/jama.2020.8259.
9. Cheng HY, Jian SW, Liu DP, et al. Contact tracing assessment of COVID-19 transmission dynamics in Taiwan and risk at different exposure periods before and after symptom onset. *JAMA Intern Med* 2020; doi:10.1001/jamainternmed.2020.2020.
10. Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange S, Müller MA, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-19. *Nature*. In press 2020. [cited 2020 May 18]. Available from: https://www.nature.com/articles/s41586-020-2196-x_reference.pdf.
11. Cereda D, Tirani M, Rovida F, Demicheli V, Ajelli M, Poletti P, et al. The early phase of the COVID-19 outbreak in Lombardy, Italy. [cited 2020 May 18]. Available from: <https://arxiv.org/ftp/arxiv/papers/2003/2003.09320.pdf>.
12. Bullard J, Dust K, Duane Funk D, et al. Predicting infectious SARS-CoV-2 from diagnostic samples. *Clin Infect Dis* 2020; <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa638>.
13. World Health Organization. Report of the WHO-China Joint Mission on Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). Geneva: WHO; 2020. Available from: <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/who-china-joint-mission-on-covid-19-final-report.pdf>.
14. Zheng S, Fan J, Yu F, Feng B, Lou B, Zou Q, et al. Viral load dynamics and disease severity in patients infected with SARS-CoV-2 in Zhejiang province, China, January-March 2020: retrospective cohort study. *BMJ* [Internet]. 2020 Apr 21;369:m1443. Available from: <https://doi.org/10.1136/bmj.m1443>.
15. Zhou B, She J, Wang Y, Ma X. The duration of viral shedding of discharged patients with severe COVID-19. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2020 Apr 17; Available from: <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa451>.
16. National Centre for Infectious Diseases. Period of Infectivity to Inform Strategies for De-isolation for COVID-19 Patients. Dosegljivo na: <https://www.ncid.sg/Documents/Period%20of%20Infectivity%20Position%20Statement2.pdf>.
17. <https://www.dailymail.co.uk/news/article-8273947/South-Korea-admits-292-coronavirus-reinfections-false-positives.html>.

18. Korean Centers for Disease Control and Prevention. Findings from investigations and analysis of re-positive cases. Dosegljivo na https://www.cdc.go.kr/board/board.es?mid=a30402000000&bid=0030&act=view&list_no=367267&nPage=1.
19. https://www.medscape.com/viewarticle/931240?nlid=135732_2243&src=WNL_mdpl_snews_200529_mscpedit_inf&uac=138661DY&spon=3&impID=2399577&faf=1.
20. Abishek C, et al. SARS-CoV-2 infection protects against rechallenge in rhesus macaques. Science 2020: eabc4776 doi: 10.1126/science.abc4776.
21. CDC. Return-to-work criteria for healthcare workers. 2020; <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/return-to-work.html>.
22. CDC. Caring for recovered patients. 2020; <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/faq.html#Caring-for-Recovered-Patients>.