

## **Doba infekčnosti jedinců infikovaných virem SARS-CoV-2 v širším kontextu**

*NRL pro chřipku a nechřipkovou virovou respirační onemocnění CEM SZÚ*

### Inkubační doba a maximální „virová nálož“

V první řadě je nutné se zamyslet nad termínem virová nálož ve vztahu k SARS-CoV-2 a přiznat si fakt, že nelze exaktně stanovit míru virové nálože vyjádřenou počtem virových partikulí na objemovou jednotku: hladinu virové nálože:

1. Vstupní klinický materiál je nekvantifikovatelný, ať se jedná o stěry z horních cest dýchacích (HCD), sliny nebo materiály z dolních cest dýchacích (DCD), například endotracheální stěr, endotracheální aspirát, bronchoalveolární laváž (BAL). Jediným kvantifikovatelným materiálem je krev případně moč.
2. Při průkazu RNA SARS-CoV-2 neumíme odlišit genomovou RNA od subgenomových RNA (virových mRNA), které jsou součástí proteosyntetického aparátu. Je zřejmé, že množství subgenomových RNA je výrazně vyšší u strukturálních proteinů oproti nestrukturálním a může záviset na virovém cyklu a fázi onemocnění. V PCR reakci tedy stanovujeme pouze počet kopií daného cílového úseku celkového poolu virové RNA. LAMP testy a nested PCR nelze použít k vyjádření kvantity (40).

**Medián inkubační doby činí 4 až 5 dnů**, s mezikvartilovým rozsahem 2 až 7 dnů (1,2), přičemž u 98 % osob dochází k rozvoji klinických symptomů během 12 dnů (3). Virová RNA je detekovatelná již 2 až 3 dny před nástupem klinických symptomů, maximální je první den příznaků a po 7 – 8 dnech dochází u většiny pacientů k poklesu (4-8). Schopnost asymptomatických a presymptomatických osob šířit virus je dokumentována poměrně důkladně (9 – 13). Dle dostupných informací je dynamika šíření (přenosu) viru podobná jako u chřipky, která je také nejsdílnější před nástupem onemocnění a s prvními dny onemocnění (14 – 16).

### Doba přetrvávání PCR pozitivitu

Pozitivita může přetrvávat týdny až měsíce (17 – 22), a v rámci této doby může kolísat mezi polohami negativní/pozitivní, a to i v jedné laboratoři (NRL nález), stejně tak je možné prokázat PCR pozitivitu i půl roku od odeznění onemocnění (1x NRL nález). Obecně se lze domnívat, že osoby, které proděly závažnější formu onemocnění, mají tendenci k dlouhodobější PCR pozitivitě, ale neplatí to vždy, stejně tak může docházet k dlouhodobé PCR pozitivitě i u pacientů s mírným až asymptomatickým průběhem (NRL nálezy, 6, 8, 23–28). Zdá se, že PCR pozitivita přetrvává déle v DCD v porovnání s HCD, stejně tak je delší ve vzorcích stolice (26, 29 – 32). Navíc, i po dvou negativních testech, lze po čase opět prokázat pozitivitu, aniž by došlo k opětovnému nástupu příznaků (1x NRL nález, 33, 34).

### Stanovení infekčnosti pacienta na základě stanovení viability, tedy schopnosti laboratoře izolovat virus v buněčné kultuře

Přes ojedinělé nálezy celovirionových partikulí v elektronmikroskopickém vyšetření u některých přetrvávajících PCR pozitivit (NRL nález) je zjištěno, že fragmenty subgenomových vRNA jsou asociovány s vnitrobuněčnými vesikulami, které tyto vRNA dále chrání před degradací (41). Toto lze doložit zjištěním NRL, že ani u pacientů s přetrvávající pozitivitou s Ct hodnotami, které u vzorků odebraných v rané fázi infekce umožňují celogenomovou sekvenaci (WGS), nebylo možno připravit dostatečně kvalitní DNA umožňující WGS. Schopnost SARS-CoV-2 replikovat se v kultivovaných buňkách (test viability) je zdánlivě vhodným modelem infekčnosti. Ve studii na křečcích korelovala transmisivita SARS-CoV-2 s detekcí infekčního viru kultivací, ale nikoli pouze s pozitivitou RT-PCR [42].

Test viability však nelze dát do jednoznačné souvislosti s transmisibilitou (infekčností), ani v případě, že virus nelze vyizolovat nelze transmisibilitu vyloučit. U nízkých koncentrací viru je poměrně obvyklé, že se jej nedaří vyizolovat (vykultivovat). **Rostoucí množství důkazů však naznačuje, že doba od nástupu příznaku a hodnoty Ct lze dát do přímé souvislosti s infekčností.** Stojí za zmínku, že izolace SARS-CoV-2, ani dalších respiračních virů, se v běžné praxi nepoužívá, u SARS-CoV-2 navíc s nutností provádění v laboratořích BSL3, tedy za splnění standardů biologické bezpečnosti (65).

#### Tabulka 1.

Přehled studií zabývajících se stanovením infekčnosti na základě testů PCR v souvislosti se „secondary infectious rate“ nebo pomocí viability SARS-CoV-2

Studie (země)	Populace	Zjištění
Wolfel et al. [6] (Německo)	9 pacientů středního věku s mírným respiračním onemocněním	• Maximální počet kopií vRNA 5 dnů od nástupu příznaků
		• Nemožnost vyizolovat virus na buněčné kultuře od 8. dne od nástupu klinických příznaků bez ohledu na Ct (tedy tzv. vysokou virovou nálož, potvrzuje i nález NRL – 2x)
		• Neschopnost izolace viru ze stolice bez ohledu na Ct (tedy i u nízkých Ct – tzv. vysoká virová nálož)
U.S. CDC [43] (U.S.)	Blíže nspecifikovaný počet, průřez celým věkovým spektrem, asymptomatictí pacienti až pacienti s velmi těžkým průběhem	• Nemožnost vyizolovat virus na buněčné kultuře od 9. dne od nástupu klinických příznaků
		• Nemožnost získat rostoucí virovou kulturu pro Ct >33–35
		• U pacientů, kteří mají po klinickém onemocnění detekovatelnou RNA ve vzorcích horních cest dýchacích, se koncentrace obvykle pohybují v rozmezí, ve kterém nelze spolehlivě izolovat virus schopný replikace (např. Ct >30 platí u NRL při přidání trypsinu ke kultuře, kolísá v různých laboratořích
Young et al. [44] Singapur	100 hospitalizovaných pacientů (20 se suplementací kyslíkem, 12 na UPV – umělé plicní ventilaci)	• Nemožnost získat rostoucí virovou kulturu pro Ct >30
		• 90 % všech vzorků odebraných po 14 dnech od nástupu klinických příznaků mělo Ct >30

Studie (země)	Populace	Zjištění
La Scola et al. [45] (Francie)	183 PCR-pozitivních vzorků (174 x NSP – nasopharynegální stěr, 9 x sputum) odebraných 155 pacientům (závažnost onemocnění neuvedena)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PCR pozitivní až 20 dnů od nástupu příznaků, nemožnost získat rostoucí virovou kulturu po 8 dnech od nástupu příznaků</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Všechny vzorky s hodnotami CT 13–17 byly viabilní (NRL nález: vzorek s Ct 18 (NSP) po 3 týdnech od nástupu klinických příznaků po dvou pasážích 2 x 7 dnů neviabilní)</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nemožnost získat rostoucí virovou kulturu pro Ct <math>\geq 34</math></li> </ul>
Million et al. [46] (Francie)	11 hospitalizovaných PCR-pozitivních pacientů, po dobu 10 dnů každý den odebrán vzorek určený pro izolaci na buněčné kultuře	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nemožnost získat rostoucí virovou kulturu po 10. dnu od nástupu příznaků</li> </ul>
Bullard et al. [47] (Kanada)	90 PCR- pozitivních NSP nebo endotracheálních aspirátů odebíraných po dobu 21 od nástupu příznaků (neuveden počet pacientů a závažnost onemocnění)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nemožnost získat rostoucí virovou kulturu po 8. dni od nástupu příznaků nebo u hodnot Ct <math>&gt;24</math></li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Každé zvýšení hodnoty Ct o 1 korelovalo s 32% poklesem pravděpodobnosti získat viabilní virus</li> </ul>
Liu et al. [25] (Taiwan)	1 PCR-pozitivní pacient s mírným akutním respiračním infektem (ARI)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PCR pozitivita po dobu 63 dnů od nástupu příznaků, nemožnost získat rostoucí virovou kulturu po 18. dnu od nástupu příznaků</li> </ul>
van Kampen et al. [48] (Nizozemí)	690 HCD a DCD vzorků od 129 hospitalizovaných pacientů a těžkým až kritickým průběhem, včetně 30 imunosuprimovaných pacientů	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Medián získání viabilního viru 8 dnů</b> od nástupu příznaků (IQR 5–11 dnů, nejdéle 20 dnů)</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pravděpodobnost získání viabilního viru klesla na 5 % po 15 dnech od nástupu příznaků, PCR pozitivita přetrvávala i poté</li> </ul>
Lu et al. [50] (Čína)	87 hospitalizovaných s Covid-19, propuštěných po úzdavě a s dvěma po sobě jdoucími negativními PCR testy	<ul style="list-style-type: none"> <li>• U nikoho nebyl získán viabilní virus ani WGS</li> </ul>

Studie (země)	Populace	Zjištění
Korejské CDC [51] (Jižní Korea)	285 pacientů po úzdavě z Covid-19, po „zpozitivnění PCR testy“ (průměrně v odstupu 45 dnů od nástupu příznaků)	• Nebyl získán viabilní virus
		• U téměř 90 % pacientů Ct >30
		• 0% přenos na 790 kontaktů během zpozitivnění PCR

Závěrem, CDC uvádí, že nebyl získán viabilní virus z moči nebo stolice, což naznačuje, že tyto zdroje představují minimální riziko přenosu, zejména při zachování běžného hygienického standardu hygieně rukou. U jednoho pacienta byl však získán infekční virus ze stolice (52). Epidemiologická data a transmisibilita

Korelace mezi viabilitou a „transmission rate“ dala do souvislosti studie z Taiwanu. U 100 pacientů s potvrzeným onemocněním COVID-19 a s prokázanými kontakty byl stanoven „secondary clinical attack rate“ v závislosti na počtu dnů od nástupu klinických příznaků (49). U 2761 těsných kontaktů byl „secondary attack rate“:

- 0.7%, u 1818 pacientů, kteří měli těsný kontakt v prvních 5 dnech od nástupu příznaků
- 0% u 852 pacientů, kteří měli těsný kontakt po  $\geq 6$  dnech od nástupu příznaků

#### Kolísavá PCR pozitivita/negativita po úzdavě

V Guandongu bylo sledováno 619 pacientů po úzdavě po prokázané PCR negativitě. Pacienti byli izolováni týden v hotelu (7. až 14. den od prokázané PCR negativity) a každý den jim byly odebrány vzorky HCD a stolice. 87 (14 %) z nich bylo pozitivních (77 bez příznaků, 10 pokašlávajících). Nebyla získána viabilní kultura ani WGS.

Korejská CDC také prokázala kolísavou PCR pozitivitu/negativitu po dobu 8 až 81 dnů, opakované positivity vykazovaly hraniční hodnoty PCR s Ct blížící se hodnotě 40 (51). Nález NRL v jednom případě potvrzuje tento fakt, muž starší 50 let po prodělaném COVID-19 v březnu, PCR pozitivita 2 týdny po úzdavě, 15. 4. druhý konsektivní PCR test negativní, koncem října opět PCR hraničně pozitivní (Ct 40), bez příznaků, IgA, IgG anti S1 RBG pozitivní.

#### Možnost reinfekce

Tato možnost byla prokázána u opic druhu makak rhesus (*Macaca mulatta*) (55, 56). V několika případech byla reinfekce prokázána u člověka prostřednictvím WGS (65). V několika studiích bylo potvrzeno, že u většiny pacientů se po proděláním nemoci objevily virus neutralizační protilátky, a jejich titr koreloval se závažností onemocnění (5, 6, 57 – 60) (toto nepřímo potvrzují nálezy NRL, namísto VNT sledovány protilátky reagující s S1 RBD epitopem). V jedné studii (pacienti s mírnými respiračními příznaky a asymptomatictí pacienti) došlo u 74 pacientů po 2 – 3 měsících k poklesu virus neutralizačních protilátek (61, 62), ale tento nález není dán do souvislosti s celkovou imunitní „pamětí“.

#### Virová nálož a prognóza

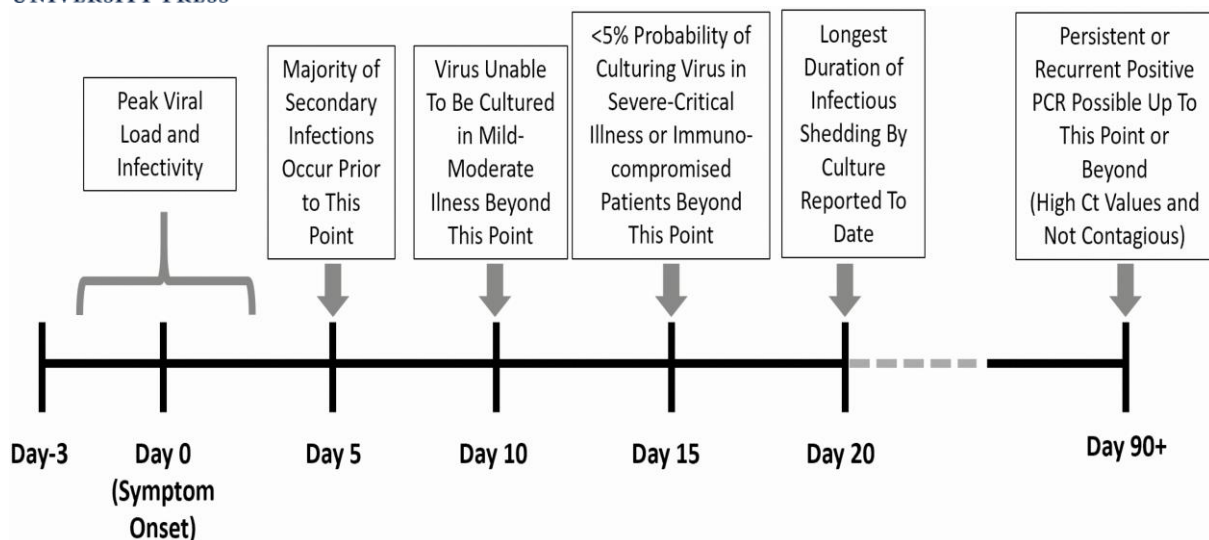
Počet detekovaných kopií vRNA vyjádřených např. hodnotami  $10^6$  až  $10^9$  virových partikulí/ml, a tedy virová nálož a vztah se závažností onemocnění **nelze jednoznačně prokázat** už jen proto, že jediným faktem, kterým jsme si jisti je počet kopií vRNA/ml, ale netušíme, kolik virových partikulí tento nález vlastně představuje.

Pokud bychom u pacientů s klinickým obrazem vypovídajícím o postižení DCD běžně stanovovali množství kopií vRNA v materiálech jak z HCD tak z DCD, byl by určujícím prognostickým znakem počet kopií vRNA v DCD. Vzhledem k riziku souvisejícím s odběrem materiálu z DCD (vznik aerosolu, invazivita vyšetření pro pacienta) se tento materiál vyšetřuje jen v opravdu indikovaných případech.

Ve studii provedené ve švýcarském Lausanne Lausanne's University Hospital (CHUV) bylo analyzováno 22 323 PCR testů představujících výsledky sledování 4 172 pacientů, že virová nálož nesouvisí s věkem, pohlavím, závažností klinických projevů, a je tedy jen slabým prediktorem pro prognózu onemocnění. Autoři studie poukázali na fakt, že **virové nálože jsou obdobné jako u ostatních respiračních virů**, např. u virů influenzy B a RSV (66). Také nálezy NRL dokladující  $10^9$  kopií vRNA/ml v HCD u pacientů starších 50 let (např. Kynice) nevedly k progresi onemocnění ve vážný stav vyžadující hospitalizaci. Drtivá většina WGS získaných v NRL z materiálu z HCD odpovídá právě  $10^6 - 10^9$  počtu kopií vRNA/ml ve stěrech z HCD, ale jen u méně než 10 % je v ISIN zapsána hospitalizace, případně nutnost zavedení podpory dýchání. Prozatím NRL určila WGS z pouze z jednoho pitevního materiálu, kdy lze pozorovat, že nejvyšší virová nálož je v trachee, ale byla nalezena pozitivita pouze v myokardu, přičemž vzorky získané z trachey a plic byly na přítomnost virové RNA negativní. Nepřímou úměru mezi virovou nálož a prognózu klade retrospektivní analýza provedená v New York University u 205 pacientů přijatých na nejtěžší covidové oddělení, kdy vyšší virová nálož v HCD znamenala lepší prognózu rozvoje onemocnění (67).

**Obr. 1** – Časová osa

**OXFORD**  
UNIVERSITY PRESS



Převzato z: *Clin Infect Dis*, c11249, <https://doi.org/10.1093/cid/c11249>

## Tabulka 2.

WHO a CDC doporučení pro uvolnění pacientů s přetrvávající PCR pozitivitou z izolace

Kategorie	WHO	CDC
Symptomatictí pacienti, počátek onemocnění	• 10 dnů od nástupu příznaků, <b>plus</b> nejméně 3 další dny bez symptomů (horečka, respirační obtíže)	• <i>mírný až střední průběh (neplatí pro imunosuprimované):</i> 10 dnů od nástupu příznaků <b>plus</b> 24 h od posledního horečnatého stavu <b>plus</b> zlepšení symptomů
		• <i>těžký až kritický průběh nebo imunosuprimovaní:</i> 10 až 20 dnů od nástupu příznaků + 24 h od posledního horečnatého stavu <b>plus</b> zlepšení symptomů
Asymptomatictí, počátek onemocnění	• 10 dnů od pozitivního testu	• <i>všichni kromě těžce imunosuprimovaných:</i> 10 dnů od prvního pozitivního testu
		• <i>těžce imunosuprimovaní:</i> 20 dnů od prvního pozitivního testu
Covid-19 rekonvalescenti s přetrvávající nebo kolísavou PCR pozitivitou	• žádné specifické doporučení	• <i>asymptomatictí:</i> retestování se nedoporučuje v období 3 měsíců od infekce i když dojde k těsnému kontaktu s pozitivní osobou (43)
		• <i>symptomatictí:</i> v případě znovuobjevení se symptomů v průběhu 3 měsíců po onemocnění je třeba zvážit retestování a/nebo izolaci pacienta zvláště v případě prokázání kontaktu

### Souhrn:

1. Maximální infekčnost u SARS-CoV-2 je těsně před nástupem klinických příznak a v prvních dnech onemocnění.
2. Infekčnost po 10 dnech klesá na téměř nulovou pravděpodobnost u osob s mírným průběhem, u osob s těžkým průběhem je infekčnost prodloužena na 15 dnů a 20 denní infekčnost byla prokázána u imunosuprimovaných pacientů.
3. Přetrvávající pozitivita je běžná, obvykle je spojena s vyššími hodnotami Ct. Vysoké hodnoty Ct naznačují neschopnost replikace a nedostatečnou virovou dávku pro přenos na další osoby.
4. Kolísající PCR pozitivita/negativita po rekonvalescenci je spíše důsledkem kvality provedení odběru klinického materiálu. Tito pacienti nejsou infekční.

5. Doba navozené imunity není jasná.
6. Virová „nálož“ není prediktorem průběhu onemocnění.

WHO tyto nálezy převedla do doporučení platných od 27. května tohoto roku, karanténní opatření byla stanovena na 10 dnů od nástupu symptomů při současném uplynutí 3 dnů bez symptomů (63).

Doporučení pro PCR pozitivní případy po více než 90 dnech nejsou jednoznačná, ale pravděpodobně se nejedná o reinfekci, zvláště u hraničních pozitivit s Ct vyšším než 38, v tomto případě je možnost zvážit test na přítomnost protilátek (65).

Zpracovali:

RNDr. Helena Jiřincová, NRL pro chřipku a nechřipkovú virovú respirační onemocnění

## Reference

1. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med* 2020; 382:1708–20.
2. Li Q, Guan X, Wu P, et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia. *N Engl J Med* 2020; 382:1199–207.
3. Lauer SA, Grantz KH, Bi Q, et al. The incubation period of coronavirus disease 2019 (COVID-19) from publicly reported confirmed cases: estimation and application. *Ann Intern Med* 2020; 172:577–82.
4. Zou L, Ruan F, Huang M, et al. SARS-CoV-2 viral load in upper respiratory specimens of infected patients. *N Engl J Med* 2020; 382:1177–9.
5. To KK, Tsang OT, Leung WS, et al. 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* 2020; 20:565–74.
6. Wolfel R, Corman VM, Guggemos W, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature* 2020; 581:465–9.
7. Team C-I. Clinical and virologic characteristics of the first 12 patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) in the United States. *Nat Med* 2020; 26:861–8.
8. He X, Lau EHY, Wu P, et al. Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat Med* 2020; 26:672–5.
9. Pan X, Chen D, Xia Y, et al. Asymptomatic cases in a family cluster with SARS-CoV-2 infection. *Lancet Infect Dis* 2020; 20:410–1.
10. Bai Y, Yao L, Wei T, et al. Presumed asymptomatic carrier transmission of COVID-19. *JAMA* 2020.
11. Kimball A, Hatfield KM, Arons M, et al. ; Public Health – Seattle & King County; CDC COVID-19 Investigation Team. Asymptomatic and presymptomatic SARS-CoV-2 infections in residents of a long-term care skilled nursing facility - King County, Washington, March 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2020; 69:377–81.
12. Rothe C, Schunk M, Sothmann P, et al. Transmission of 2019-nCoV infection from an asymptomatic contact in Germany. *N Engl J Med* 2020; 382:970–1.
13. Qian G, Yang N, Ma AHY, et al. A COVID-19 transmission within a family cluster by presymptomatic infectors in China. *Clin Infect Dis* 2020.
14. Carrat F, Vergu E, Ferguson NM, et al. Time lines of infection and disease in human influenza: a review of volunteer challenge studies. *Am J Epidemiol* 2008; 167:775–85.
15. Ip DKM, Lau LLH, Chan KH, et al. The dynamic relationship between clinical symptomatology and viral shedding in naturally acquired seasonal and pandemic influenza virus infections. *Clin Infect Dis* 2016; 62:431–7.
16. Lau LL, Cowling BJ, Fang VJ, et al. Viral shedding and clinical illness in naturally acquired influenza virus infections. *J Infect Dis* 2010; 201:1509–16.
17. Saurabh S, Kumar R, Gupta MK, et al. Prolonged persistence of SARS-CoV-2 in the upper respiratory tract of asymptomatic infected individuals. *QJM* 2020; 113:556–60.
18. Park SY, Yun SG, Shin JW, et al. Persistent severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 detection after resolution of coronavirus disease 2019-associated symptoms/signs. *Korean J Intern Med* 2020; 35:793–6.

19. Deng W, Guang TW, Yang M, et al. Positive results for patients with COVID-19 discharged from hospital in Chongqing, China. *BMC Infect Dis* 2020; 20:429.
20. Miyamae Y, Hayashi T, Yonezawa H, et al. Duration of viral shedding in asymptomatic or mild cases of novel coronavirus disease 2019 (COVID-19) from a cruise ship: a single-hospital experience in Tokyo, Japan. *Int J Infect Dis* 2020; 97:293–5.
21. Agarwal V, Venkatakrishnan AJ, Puranik A, et al. Quantifying the prevalence of SARS-CoV-2 long-term shedding among non-hospitalized COVID-19 patients. *MedRxiv* 2020.
22. Xiao AT, Tong YX, Gao C, Zhu L, Zhang YJ, Zhang S. Dynamic profile of RT-PCR findings from 301 COVID-19 patients in Wuhan, China: a descriptive study. *J Clin Virol* 2020; 127:104346.
23. Shi D, Wu W, Wang Q, et al. Clinical characteristics and factors associated with long-term viral excretion in patients with SARS-CoV-2 infection: a single center 28-day study. *J Infect Dis* 2020; 222:910–18.
24. Li J, Zhang L, Liu B, Song D. Case report: viral shedding for 60 days in a woman with COVID-19. *Am J Trop Med Hyg* 2020; 102:1210–3.
25. Liu F, Cai ZB, Huang JS, et al. Positive SARS-CoV-2 RNA recurs repeatedly in a case recovered from COVID-19: dynamic results from 108 days of follow-up. *Pathog Dis* 2020; 78:ftaa031.
26. Zheng S, Fan J, Yu F, 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* 2020; 369:m1443.
27. Xu K, Chen Y, Yuan J, et al. Factors associated with prolonged viral RNA shedding in patients with COVID-19. *Clin Infect Dis* 2020; 71:799–806.
28. Qi L, Yang Y, Jiang D, et al. Factors associated with duration of viral shedding in adults with COVID-19 outside of Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Int J Infect Dis* 2020; 96:531–7.
29. Wang K, Zhang X, Sun J, et al. Differences of SARS-CoV-2 shedding duration in sputum and nasopharyngeal swab specimens among adult inpatients with COVID-19 [manuscript published online ahead of print 20 June 2020]. *Chest* 2020; S0012–3692(20)31718-9.
30. Lo IL, Lio CF, Cheong HH, et al. Evaluation of SARS-CoV-2 RNA shedding in clinical specimens and clinical characteristics of 10 patients with COVID-19 in Macau. *Int J Biol Sci* 2020; 16:1698–707.
31. Ling Y, Xu SB, Lin YX, et al. Persistence and clearance of viral RNA in 2019 novel coronavirus disease rehabilitation patients. *Chin Med J (Engl)* 2020; 133:1039–43.
32. Xu CLH, Raval M, Schnall JA, Kwong JC, Holmes NE. Duration of respiratory and gastrointestinal viral shedding in children with SARS-CoV-2: a systematic review and synthesis of data. *Pediatr Infect Dis J* 2020; 39:e249–56.
33. Yuan J, Kou S, Liang Y, Zeng J, Pan Y, Liu L. PCR assays turned positive in 25 discharged COVID-19 patients [manuscript published online ahead of print 8 April 2020]. *Clin Infect Dis* 2020; ciaa398.
34. Tang X, Zhao S, He D, et al. Positive RT-PCR tests among discharged COVID-19 patients in Shenzhen, China [manuscript published online ahead of print 16 April 2020]. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2020:1–2.
35. Tom MR, Mina MJ. To interpret the SARS-CoV-2 test, consider the cycle threshold value [manuscript published online ahead of print 21 May 2020]. *Clin Infect Dis* 2020; ciaa619.
36. Young BE, Ong SWX, Kalimuddin S, et al. Epidemiologic features and clinical course of patients infected with SARS-CoV-2 in Singapore. *JAMA* 2020; 323:1488–94.
37. van Kasteren PB, van der Veer B, van den Brink S, et al. Comparison of seven commercial RT-PCR diagnostic kits for COVID-19. *J Clin Virol* 2020; 128:104412.
38. Chang MC, Hur J, Park D. Interpreting the COVID-19 test results: a guide for physiatrists. *Am J Phys Med Rehabil* 2020; 99:583–5.
39. Rogers AA, Baumann RE, Borillo GA, et al. Evaluation of transport media and specimen transport conditions for the detection of SARS-CoV-2 using real time reverse transcription PCR. *J Clin Microbiol* 2020; 58:e00708–20.
40. Rhoads D, Peaper DR, She RC, et al. College of American Pathologists (CAP) Microbiology Committee Perspective: caution must be used in interpreting the Cycle Threshold (Ct) value [manuscript published online ahead of print 12 August 2020]. *Clin Infect Dis* 2020; ciaa1199.
41. Alexandersen S, Chamings A, Bhatta TR. SARS-CoV-2 genomic and subgenomic RNAs in diagnostic samples are not an indicator of active replication. *MedRxiv* [Preprint]. August 16, 2020. 2020.
42. Sia SF, Yan LM, Chin AWH, et al. Pathogenesis and transmission of SARS-CoV-2 in golden hamsters. *Nature* 2020; 583:834–8.
43. Centers for Disease Control and Prevention: symptom-based strategy to discontinue isolation for persons with COVID-19 (Updated July 22, 2020). Available at: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/community/strategy-discontinue-isolation.html>. Accessed 14 August 2020.
44. Young B, Ong SW, Ng LF, et al. Immunological and viral correlates of COVID-19 disease severity: a prospective cohort study of the first 100 patients in Singapore. *Lancet* 2020; In press.



45. La Scola B, Le Bideau M, Andreani J, et al. Viral RNA load as determined by cell culture as a management tool for discharge of SARS-CoV-2 patients from infectious disease wards. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2020; 39:1059–61.
46. Million M, Lagier JC, Gautret P, et al. Early treatment of COVID-19 patients with hydroxychloroquine and azithromycin: a retrospective analysis of 1061 cases in Marseille, France. *Travel Med Infect Dis* 2020; 35:101738.
47. Bullard J, Dust K, Funk D, et al. Predicting infectious SARS-CoV-2 from diagnostic samples [manuscript published online ahead of print 22 May 2020]. *Clin Infect Dis* 2020; ciaa638.
48. van Kampen JJ, van de Vijver DA, Fraaij PL, et al. Shedding of infectious virus in hospitalized patients with coronavirus disease-2019 (COVID-19): duration and key determinants. *medRxiv* 2020.
49. 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 [manuscript published online ahead of print 1 May 2020]. *JAMA Intern Med* 2020; e202020.
50. Lu J, Peng J, Xiong Q, et al. Clinical, immunological and virological characterization of COVID-19 patients that test re-positive for SARS-CoV-2 by RT-PCR. *medRxiv* 2020.
51. Korean CDC: findings from investigation and analysis of re-positive cases (May 19th, 2020). Available at: <https://www.cdc.go.kr/board/board.es?mid=a30402000000&bid=0030>. Accessed 20 July 2020.
52. Xiao F, Sun J, Xu Y, et al. Infectious SARS-CoV-2 in feces of patient with severe COVID-19. *Emerg Infect Dis* 2020; 26:1920–2.
53. Liu WD, Chang SY, Wang JT, et al. Prolonged virus shedding even after seroconversion in a patient with COVID-19. *J Infect* 2020; 81:318–56.
54. Hung IF, Lung KC, Tso EY, et al. Triple combination of interferon beta-1b, lopinavir-ritonavir, and ribavirin in the treatment of patients admitted to hospital with COVID-19: an open-label, randomised, phase 2 trial. *Lancet* 2020; 395:1695–704.
55. Chandrashekar A, Liu J, Martinot AJ, et al. SARS-CoV-2 infection protects against rechallenge in rhesus macaques. *Science* 2020; 369:812–7.
56. Deng W, Bao L, Liu J, et al. Primary exposure to SARS-CoV-2 protects against reinfection in rhesus macaques. *Science* 2020; 369:818–23.
57. Amanat F, Stadlbauer D, Strohmeier S, et al. A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans. *Nat Med* 2020; 26:1033–6.
58. Thevarajan I, Nguyen THO, Koutsakos M, et al. Breadth of concomitant immune responses prior to patient recovery: a case report of non-severe COVID-19. *Nat Med* 2020; 26:453–5.
59. Wu F, Wang A, Liu M, et al. Neutralizing antibody responses to SARS-CoV-2 in a COVID-19 recovered patient cohort and their implications. *MedRxiv* [Preprint]. July 11, 2020.
60. Wang X, Guo X, Xin Q, et al. Neutralizing antibodies responses to SARS-CoV-2 in COVID-19 inpatients and convalescent patients [manuscript published online ahead of print 4 June 2020]. *Clin Infect Dis* 2020; ciaa721.
61. Long QX, Tang XJ, Shi QL, et al. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Nat Med* 2020; 26:1200–4.
62. Ibarondo FJ, Fulcher JA, Goodman-Meza D, et al. Rapid decay of anti-SARS-CoV-2 antibodies in persons with mild Covid-19. *New Engl J Med* 2020; NEJMc2025179.
63. World Health Organization. Clinical management of COVID-19 (Interim Guidance), published May 27, 2020.
64. Centers for Disease Control and Prevention: Discontinuation of Transmission-Based Precautions and Disposition of Patients with COVID-19 in Healthcare Settings (Interim Guidance): Updated August 10, 2020. Available at: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/disposition-hospitalized-patients.html>. Accessed 14 August 2020.
65. Chanu Rhee, Sanjat Kanjilal, Meghan Baker, Michael Klompas, Duration of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Infectivity: When Is It Safe to Discontinue Isolation?, *Clinical Infectious Diseases*, , ciaa1249, <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa1249>
66. Jacot D, Greub G, Jatton K, Opota O. Viral load of SARS-CoV-2 across patients and compared to other respiratory viruses [published online ahead of print, 2020 Sep 7]. *Microbes Infect.* 2020;S1286-4579(20)30151-9. [doi:10.1016/j.micinf.2020.08.004](https://doi.org/10.1016/j.micinf.2020.08.004)
67. Argyropoulos KV, Serrano A, Hu J, et al. Association of Initial Viral Load in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Patients with Outcome and Symptoms. *Am J Pathol.* 2020;190(9):1881-1887. [doi:10.1016/j.ajpath.2020.07.001](https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2020.07.001)