

Europas Zeitschrift für Überwachung, Epidemiologie, Prävention und Kontrolle von Infektionskrankheiten

Volume 18, Ausgabe 8, 21 / Feb / 2013 Artikel

Kontaktuntersuchung eines Falles einer neuartigen Coronavirus-Infektion beim Menschen, der in einem deutschen Krankenhaus behandelt wurde.

U Buchholz ^{1,2}, MA Müller ^{2,3}, A Nitsche ^{1,2}, A Sanewski ^{2,4}, N Wevering ⁵, T Bauer-Balci ⁶, F Bonin ⁵, C Drosten ³, B Schweiger ¹, T Wolff ¹, D Muth ³, B Meyer ³, S Buda ¹, G. Krause ¹, L Schaade ¹, W Haas ¹

Am 24. Oktober 2012 wurde ein Patient mit akutem Atemnotsyndrom unbekannter Herkunft und Auftreten von Symptomen am 5. Oktober von Katar in eine spezialisierte Lungenklinik in Deutschland gebracht. Die späte Diagnose einer Infektion mit dem neuartigen Coronavirus (NCoV) am 20. November führte zu einer möglichen Exposition einer beträchtlichen Anzahl von Beschäftigten im Gesundheitswesen. Mithilfe eines Fragebogens befragten wir 123 identifizierte Kontakte (120 Krankenhäuser und drei Kontakte außerhalb des Krankenhauses) nach der Exposition gegenüber dem Patienten. 85 Kontakte lieferten Blut für einen serologischen Test unter Verwendung eines zweistufigen Ansatzes mit einem anfänglichen Immunfluoreszenztest als Screening-Test, gefolgt von rekombinanten Immunfluoreszenztests und einem NCoV-spezifischen Serumneutralisationstest. Von 123 identifizierten Kontakten hatten neun innerhalb der dritten oder vierten Krankheitswoche Aerosol erzeugende Verfahren durchgeführt, wobei selten oder nie persönliche Schutzausrüstung verwendet wurde, und zwei von ihnen entwickelten eine akute Atemwegserkrankung. Die Serologie war für alle neun negativ. Weitere 76 Krankenhauskontakte wurden ebenfalls negativ getestet, darunter zwei Seren, die im Screening-Test zunächst reaktiv waren. Die Kontaktuntersuchung schloss eine Übertragung auf Kontakte nach dem 20. Krankheitstag aus. Unser zweistufiger Ansatz für serologische Tests kann als Vorlage für ähnliche Situationen verwendet werden.

Einführung

Kürzlich ist auf der Arabischen Halbinsel ein neuartiges menschliches Coronavirus (NCoV) aufgetaucht. Die ersten beiden gemeldeten Fälle, die mit dem neuartigen Wirkstoff infiziert waren und dann vorläufig als hCoV-EMC bezeichnet wurden, traten im Juni bzw. September 2012 auf [1-3]. Bis zum 18. Februar 2013 wurden von der WHO insgesamt 12 Fälle bestätigt [4], darunter fünf Todesfälle. Von fünf aus dem Königreich Saudi-Arabien gemeldeten Fällen gehörten drei einem Familiencluster an. Zwei weitere Fälle standen im Zusammenhang mit einer wahrscheinlichen Exposition in Katar, und zwei Fälle wurden retrospektiv durch Diagnose von Atemwegsproben aus Jordanien mit Krankheitsbeginn im April 2012 bestätigt. Letztere waren Teil einer Gruppe von 11 Patienten mit akuten respiratorischen Symptomen im Zusammenhang mit a Krankenhaus [5]. Die letzten drei identifizierten Fälle stellen einen weiteren Cluster dar, der im Vereinigten Königreich (UK) von Januar bis Februar 2013 aufgetreten ist [4]. Der Indexfall in diesem Cluster ist ein britischer Staatsbürger mit einer Reisegeschichte nach Saudi-Arabien und Pakistan vor dem Auftreten der Symptome [5]. Zwei seiner Familienmitglieder, die nicht außerhalb Großbritanniens gereist waren und krank wurden, waren höchstwahrscheinlich durch eine Übertragung von Mensch zu Mensch infiziert. Während einer von ihnen eine Grunderkrankung hatte und starb, zeigte der andere nur mildere, grippeähnliche Krankheitssymptome.

Aufgrund des langen Zeitraums von 10 Monaten, in dem die Fälle auftraten, bleiben die Quellen- und Übertragungsmuster des Virus schwer fassbar. Zu den Hypothesen gehören das Überwiegen zoonotischer Akquisitionen mit geringem Potenzial für die Übertragung von Mensch zu Mensch [5], das weit verbreitete und unbemerkte Auftreten klinisch milder Infektionen und schließlich die Möglichkeit einer Epidemie im Frühstadium, die durch ein hoch pathogenes neuartiges menschliches Virus verursacht wird.

Aufgrund des Potenzials der Übertragung von Mensch zu Mensch beim Ausbruch des Krankenhauses in Jordanien und den Familienclustern sowie der beobachteten Schwere der Erkrankung stützen sich die aktuellen Empfehlungen zu Schutzmaßnahmen auf Erfahrungen mit schwerem akutem respiratorischem Syndrom (SARS) im Jahr 2003 [6]. Der erste der beiden katarischen Patienten wurde in Großbritannien behandelt, wo unter strengen Isolierungsmaßnahmen keine sekundären Fälle auftraten. Untersuchungen durch Polymerasekettenreaktion (PCR) von 10 Mitarbeitern des Gesundheitswesens (HCW), die sich um den Patienten gekümmert hatten und anschließend eine leichte Atemwegserkrankung entwickelten, ergaben keine Hinweise auf eine Infektion [7]. Bisher haben veröffentlichte Untersuchungen von Personen mit nachgewiesener NCoV-Exposition jedoch keine Strategie vorgestellt, wie retrospektive Infektionen bei einer großen Gruppe von (Kontakt-) Personen durch serologische Tests identifiziert werden können.

Am 22. November 2012 wurde das Robert-Koch-Institut in Berlin gemäß den Internationalen Gesundheitsvorschriften [8] über einen Fall einer NCoV-Infektion bei einem in Deutschland behandelten Quatari-Patienten in den Vierzigern informiert (Abbildung). Nach einem akuten Auftreten von Symptomen am 5. Oktober war er am 13. Oktober in ein Krankenhaus in Doha, Katar, eingeliefert worden, wo er ein beatmungsbedürftiges Atemversagen entwickelte und Berichten zufolge vorübergehend eine Nierenfunktionsstörung hatte. Am 24. Oktober wurde er in ein spezialisiertes Lungenkrankenhaus in Essen verlegt. Am 17. Oktober wurde in Katar eine Atemprobe entnommen. Nach einer gewissen Verzögerung aufgrund von Schwierigkeiten beim Versand von Proben wurde die Probe in einem Labor in Großbritannien positiv auf NCoV getestet. Das Ergebnis wurde daher am 21. November 2012 von der britischen Gesundheitsschutzbehörde der Weltgesundheitsorganisation (WHO) mitgeteilt. Bis zu diesem Zeitpunkt hatte das Krankenhaus in Essen NCoV bei den Differentialdiagnosen für den Patienten nicht berücksichtigt. Während des gesamten Behandlungsverlaufs auf der Intensivstation (ICU) wurden nur der routinemäßige persönliche Schutz von HCW und keine spezifischen Maßnahmen zum Schutz der Atemwege befolgt. Nach wochenlangem mechanischer Beatmung auf der Intensivstation wurde der Patient am 21. November entlassen.

Eine Verzögerungszeit von vier Wochen zwischen Patiententransfer und Laborbestätigung der NCoV-Infektion führte zu einer möglichen Exposition einer beträchtlichen Anzahl von HCW in Deutschland. Hier berichten wir über ein Interview mit dem Patienten, in dem nach möglichen Infektionsquellen gefragt wurde, die Untersuchung von Personen, die dem Patienten ausgesetzt waren, die virologische Untersuchung von Atemwegsproben des Patienten sowie einen Ansatz, mit dem eine große Anzahl von Kontakten nachträglich getestet wurde.

Methoden

Patienteninterview und Proben für Laboruntersuchungen

Nachdem sich der Patient erholt hatte, wurde er persönlich interviewt. Das Interview wurde mit Hilfe eines Dolmetschers auf Arabisch geführt. Es zielte auf mögliche Arten des Erwerbs der Infektion ab. Der Fragebogen enthielt Fragen zum frühen Krankheitsverlauf, zum sozialen Status, zu den

Lebensbedingungen, zum Beruf, zu Hobbys und regelmäßigen Aktivitäten, zur Exposition gegenüber Tieren, zu Essgewohnheiten und zu Kontakten mit Personen mit Atemwegserkrankungen in den 10 Tagen vor Beginn seiner Krankheit.

Wir suchten im Krankenhauslabor nach gelagerten Atem- und Blutproben, die noch für NCoV-Tests verfügbar waren, und identifizierten eine Probe, die aus einer bronchioalveolären Lavage (BAL) stammte, die am 25. Oktober, dem 20. Krankheitstag (dh der späten dritten Krankheitswoche), durchgeführt wurde. sowie eine Serumprobe vom selben Tag. Zusätzlich nahmen wir am 23. November (achte Krankheitswoche) dem Patienten nach seiner Entlassung eine Pharyngealwäsche und eine Serumprobe und hatten am 21. November sein Rehabilitationsprogramm begonnen. Beide Atemproben wurden mittels Echtzeit-Reverse-Transkription (RT) -PCR getestet. Die erste Probe wurde auch einer Virusisolierung in LLC-MK2-Zellen unterzogen.

Kontaktuntersuchung

Die Kontaktpersonen wurden anhand der Registrierung elektronischer Verfahren identifiziert, ergänzt durch eine gezielte Aufforderung an HCW, den Kontakt mit dem Patienten auf der Intensivstation (und während des Transports zum Krankenhaus) zu melden. Die elektronische Registrierung von Verfahren erfordert, dass sich jede Person, die eine Aufgabe im Zimmer des Patienten ausführt, anmeldet, abmeldet und dokumentiert, welches Verfahren durchgeführt wurde. Unter Verwendung eines standardisierten Fragebogens wurden Informationen über den Zeitpunkt des ersten Kontakts, Kontakttypen, die nächstgelegene Entfernung zum Patienten, die Häufigkeit der Verwendung einer chirurgischen Gesichtsmaske bei Kontakt mit dem Patienten und das Auftreten einer akuten Atemwegserkrankung (ARI) gesammelt bis zehn Tage nach dem letzten Kontakt mit dem Patienten. Es wurden keine Informationen über die Dauer oder Häufigkeit des Kontakts gesammelt.

Einwilligende Personen gaben an einem von drei Daten (3., 7. oder 14. Dezember) Blut für serologische Tests. Das mediane Intervall vom ersten Patientenkontakt bis zur Venenpunktion betrug 39 Tage (Bereich: 13-50 Tage). Kontakte wurden als mit hohem Risiko eingestuft, wenn sie zu Beginn seines Aufenthalts auf der Intensivstation ihren ersten Kontakt mit dem Patienten hatten, dh am Ende der dritten oder vierten Krankheitswoche des Patienten, wenn sie ein Aerosol erzeugendes Verfahren durchgeführt hatten. B. das Absaugen des intubierten Patienten oder das Durchführen einer BAL, und wenn er während der Pflege des Patienten selten oder nie chirurgische Gesichtsmasken verwendet hatte.

Labormethoden

Der Nachweis von Nukleinsäuren wurde durch RT-PCR wie zuvor beschrieben durchgeführt [9, 10], nachdem virale RNA aus 300 µl bronchioalveolärer Lavage unter Verwendung des MagAttract Viral RNA Kit M48 (Qiagen GmbH, Hilden, Deutschland) extrahiert worden war.

Serologische Tests wurden in einem zweistufigen Ansatz durchgeführt. In einem ersten Schritt wurde das Screening auf Antikörper, die auf NCoV reagieren, durch einen indirekten Immunfluoreszenztest (IFA) durchgeführt, wie zuvor beschrieben [10]. Die vorläufige Bewertung der IFA an 50 Seren von Blutspendern ergab keine Reaktivität. Zur Auflösung der reaktiven Ergebnisse wurde IFA an Vero B4-Zellen durchgeführt, die rekombinante Spike (S) - und Nucleocapsid (N) -Proteine von NCoV, SARS-CoV, hCoV-OC43 und

hCoV-NL63 exprimierten. Details von Verfahren für rekombinante IFA sind in Corman et al. [10]. Für Serumneutralisationstests (SNT) wurden Vero B4-Zellen in Platten mit 24 Vertiefungen bis zur Subkonfluenz gezüchtet. Die Vorinkubation umfasste 25 plaquebildende Einheiten von NCoV in 100 µg/ml Medium, gemischt 1:1 mit Patientenserum, die wie angegeben in Medium vorverdünnt waren. Die Ausgangsverdünnung betrug 1:8. Nach 1 h Inkubation bei 37 °C wurde jede Vertiefung 1 h bei 37 °C unter Verwendung der gesamten 200 µg/ml Vorinkubationsreaktion infiziert. Überstände wurden entfernt und mit Avicell-Harz genau wie von Herzog et al. [11]. Die Assays wurden beendet und nach drei Tagen gefärbt.

Statistische Tests

Der Vergleich der Häufigkeitsverteilungen wurde unter Verwendung des genauen Fisher-Tests durchgeführt.

Ethische Freigabe und Datenschutz

Die Kontaktuntersuchung wurde auf der Grundlage der gesetzlichen Bestimmungen des deutschen Gesetzes zum Schutz vor Infektionen [12] und der Internationalen Gesundheitsvorschriften [8] durchgeführt und von den örtlichen Gesundheitsbehörden geleitet. Nach Informationen über die Untersuchung und ihre Ziele unterzeichneten die Kontakte ein Einverständnisformular, wenn sie mit der Analyse von Blutproben einverstanden waren. Alle Fragebögen und Proben wurden vor der Analyse vollständig anonymisiert.

Ergebnisse

Patienteninterview

Der Patient soll in Doha, Katar, gelebt haben. Er war ein starker Raucher (2 bis 3 Packungen Zigaretten pro Tag), verweigerte jedoch das Rauchen von Wasserpfeifen oder das Kauen von Qat. Die Krankheit begann schnell mit ersten Symptomen wie Fieber (40 °C), Husten, laufender Nase und Atemnot. Die subjektive Schwäche war ausgeprägt. Nach den ersten beiden Krankheitstagen besserte er sich ein wenig, verschlechterte sich jedoch wieder und wurde schließlich am achten Krankheitstag wegen zunehmender Atemnot ins Krankenhaus eingeliefert. Er berichtete über keine subjektiven Symptome einer Nierenfunktionsstörung wie schaumigen Urin, verminderte Urinausscheidung oder Rückenschmerzen. Er war nicht gereist und hatte keinen bekannten Kontakt zu anderen gemeldeten Fällen einer NCoV-Infektion. Der Patient besaß eine Kamel- und Ziegenfarm und berichtete regelmäßig über eine große Anzahl gelegentlicher Kontakte (ca. 50 Personen pro Tag). Er erinnerte sich, dass einige Ziegen vor Ausbruch seiner Krankheit krank waren und Fieber hatten. Er hatte keinen direkten Kontakt zu den Ziegen oder anderen Tieren, insbesondere Falken oder Fledermäusen, sagte aber, er habe Ziegenfleisch gegessen. Er berichtete auch, Kontakt zu einem seiner Tierpfleger gehabt zu haben, der an schwerem Husten erkrankt war und ins Krankenhaus eingeliefert wurde. Anders als der Tierpfleger erinnerte er sich nicht an Personen mit schweren Atemwegserkrankungen in seinem breiteren oder engeren sozialen Umfeld.

Patientenproben

Der Virusnachweis in der Ausgangsprobe ab dem 20. Krankheitstag und vorläufige serologische Untersuchungen wurden von Corman et al. [10]. Die Isolierung des Virus in der Zellkultur schlug fehl. Serologische Tests ergaben einen IgM-Titer gegen NCoV von 1: 1.000 und einen IgG-Titer von 1: 10.000 am Tag 20 (Woche drei) der Krankheit. In der achten Krankheitswoche lag der IgG-Titer noch bei 1: 10.000, während der IgM-Titer bereits auf 1: 100 gesunken war. Die SNT-Titer gegen NCoV betragen 1: 640 in Woche drei und 1: 640 in Woche acht der Krankheit. Die am 23. November 2012 (Woche 8 der Krankheit) entnommene Pharyngealwaschprobe wurde mittels Echtzeit-RT-PCR negativ getestet.

Kontaktuntersuchung

Wir identifizierten 120 Krankenhaus- und drei außerklinische Kontakte, einschließlich des Dolmetschers des Patienten. Die Schutzmaßnahmen beschränkten sich weitgehend auf das Tragen von Handschuhen und Roben durch HCW bei der intimen Pflege und Verwendung chirurgischer Gesichtsmasken während des Absaugens. Vom 31. Oktober bis 4. November (Krankheitswochen fünf und sechs) wurde der Patient aufgrund einer gleichzeitigen Pseudomonas aeruginosa-Infektion mittels Barrier Nursing isoliert. Dies beinhaltete nur die Verwendung von Operationsmasken. Unter den 120 Krankenhauskontakten waren Krankenschwestern (n = 59; 49%) die größte Gruppe, gefolgt von Ärzten (n = 26; 22%) und Labortechnikern (n = 15; 13%) (Tabelle 1). Die mediane Zeit vom ersten Kontakt bis zur Venenpunktion betrug 39 Tage (Bereich: 13-50 Tage).

85 (69%) aller Befragten gaben an, Kontakt in einer Entfernung von weniger als oder gleich 2 m, 14 (11%) von mehr als 2 m und 24 (20%) in unbekannter Entfernung zum Patienten zu haben. Die Häufigkeit der ARI nach Woche des ersten Kontakts unterschied sich signifikant zwischen den Gruppen (Tabelle 1). Es gab jedoch keinen Trend im ARI-Anteil im Zeitverlauf: Acht von 33 Kontakten mit erster Exposition während der Krankheitswochen drei oder vier erlebten ARI innerhalb von 10 Tagen nach dem letzten Kontakt; fünf von neun Kontakten mit erster Exposition während der fünften Krankheitswoche des Patienten; und keiner von 14 mit erstem Kontakt während der sechsten Woche der Krankheit entwickelte ARI.

Von 81 Kontakten, die eine Exposition innerhalb von 2 m meldeten, hatten 21 einen ARI im Vergleich zu keinem von 14 mit einem Kontakt von mehr als 2 m (p-Wert; 0,04) (Tabelle 1). Unter denjenigen mit der ersten Exposition in der dritten oder vierten Woche der Erkrankung des Patienten unterschied sich der Anteil der Kontakte mit ARI nicht signifikant zwischen denen, bei denen ein hohes Risiko besteht, und den verbleibenden Kontakten (p-Wert, 0,87) (Tabelle 1). Dreizehn HCW hatten in den drei oder vier Krankheitswochen Kontakt zum Patienten, hatten innerhalb von 2 m Kontakt zum Patienten und hatten selten oder nie chirurgische Gesichtsmasken getragen. Unter diesen befanden sich neun Hochrisikokontakte, darunter eine Krankenschwester, die am 25. Oktober bei einer Bronchoskopie assistierte. Alle neun lieferten eine Blutprobe. Die mediane Zeit nach dem letzten Kontakt mit dem Patienten für diese neun HCW betrug 32 Tage (Bereich: 13-46 Tage). Keine Probe war durch IFA reaktiv.

Von den verbleibenden 76 Blutproben zeigte ein Serum selbst bei Verdünnungen bis zu 1: 100 eine Reaktivität für IgM. Dieser Titer konnte als kreuzreagierende kürzliche Infektion mit hCoV-NL63 durch IFA unter Verwendung von rekombinanten S- und N-Proteinen aus wichtigen hCoVs (Tabelle 2) sowie als Abwesenheit von NCoV-spezifischen neutralisierenden Antikörpern aufgelöst werden. Ein anderes Serum zeigte eine unbestimmte IgG-Reaktivität in einer 1:10 Verdünnung. Spezifische Anti-NCov-Antikörper

wurden durch rekombinante IFA ausgeschlossen, was auf eine frühere Infektion mit hCoV-OC43 und hCoV-NL63 sowie auf das Fehlen eines signifikanten Titters in der SNT hinweist (Tabelle 2).

Diskussion

Hier beschreiben wir eine Fall- und Kontaktuntersuchung eines im Labor bestätigten Patienten mit NCoV-Infektion, bei dem der Verdacht auf diese mögliche Ätiologie bei Aufnahme des Patienten nicht mit dem behandelnden Krankenhaus besprochen worden war. Der Patient testete noch spät in seiner dritten Krankheitswoche PCR-positiv. Trotzdem folgerten wir aus den Laborbefunden, dass seine Infektiosität damals fehlte oder sehr gering war. Während zu diesem Zeitpunkt von HCW, die sich um den Patienten kümmerte, keine konsequenten persönlichen Schutzmaßnahmen angewendet wurden, ergab unsere Untersuchung der öffentlichen Gesundheit bei keiner der 85 serologisch getesteten Kontaktpersonen, hauptsächlich HCW, eine Infektion. Der durchgeführte serologische zweistufige Ansatz war eine wirksame Methode zum Screening einer großen Anzahl von Kontaktpersonen auf Infektionen.

Für die erste Risikobewertung war es nach den Informationen im November über die Ursache der Krankheit des Patienten wichtig zu wissen, ob er zum Zeitpunkt seiner Ankunft im Krankenhaus in Deutschland im Oktober potenziell infektiös war. Eine zum Zeitpunkt der Aufnahme entnommene gelagerte Atemprobe ergab klare, wenn auch sehr geringe Mengen an NCoV-RNA im Bereich von 66,5 bis 100 Kopien pro ml [10]. Versuche, Viren aus dieser Probe zu isolieren, waren erfolglos. Obwohl die Probe längere Zeit unter nicht optimalen Bedingungen gelagert worden war, deuteten diese kombinierten RT-PCR- und Zellkulturdaten auf eine fehlende oder sehr geringe Infektiosität zum Zeitpunkt der Aufnahme hin. Eine negative RT-PCR vier Wochen später, kurz nach der Entlassung aus dem Krankenhaus, deutete darauf hin, dass der Patient das Virus beseitigt hatte und bei der Aufnahme in das Rehabilitationszentrum keine weiteren Vorsichtsmaßnahmen für die Atemwege erforderlich waren.

Die Angst und das Fehlen anderer epidemiologischer Daten machten es jedoch erforderlich, die Bedeutung einiger Fälle von ARI bei HCW, die mit dem Patienten in Kontakt gekommen waren, schnell abzuschätzen. Unsere Daten ergaben keine direkte Korrelation der ARI-Raten mit der Expositionszeit. Insbesondere hatten die Kontakte mit dem höchsten Risiko nicht mehr ARI als andere Kontakte, die während der dritten oder vierten Krankheitswoche ebenfalls ihren ersten Kontakt mit dem Patienten hatten.

Im Rahmen einer retrospektiven Kontaktuntersuchung erwies sich unser zweistufiger serologischer Ansatz als wirksam, um NCoV-Infektionen bei Kontakten, einschließlich derer, die eine akute Atemwegserkrankung entwickelten, auszuschließen. Das vorläufige Screening mit einem generischen serologischen Test liefert ein zuverlässiges Ergebnis für negative Proben. Im Folgenden müssen nur positive oder unbestimmte Ergebnisse mit den beschriebenen Methoden weiter untersucht werden.

In zwei Interviews, denen der Patient freundlicherweise zustimmte, untersuchten wir ein breites Spektrum von Faktoren, denen er möglicherweise ausgesetzt war. Obwohl NCoV den Fledermaus-Coronaviren genetisch ähnlich ist [1,13,14], können auch andere Tiere als (Zwischen-) Wirt dienen. Während unser Patient den Kontakt zu Fledermäusen verweigerte, erinnerte er sich an kranke Ziegen unter den Tieren auf seiner Farm. Albarrak et al. berichteten, dass der erste saudische Fall Nutztieren ausgesetzt war, der erste katarische Patient und der zweite saudische Patient jedoch nicht [15]. Obwohl unser Patient keinen direkten Kontakt mit seinen Tieren berichtete, war ein für ihn arbeitender Tierpfleger an Husten erkrankt und könnte ein Zwischenglied in der Infektionskette gewesen sein.

Coronaviren infizieren Wiederkäuer wie Ziegen [16] und daher könnten Ziegen als mögliche Herkunftsquelle für das neuartige Virus angesehen werden, insbesondere im geografischen und kulturellen Kontext unseres Patienten. Jüngste experimentelle Studien haben gezeigt, dass NCoV in Zellen verschiedener Spezies, einschließlich Menschen, Schweinen, Affen und Fledermäusen, infizieren und sich replizieren kann, was auf eine promiskuitivere Wirtsspezifität im Vergleich zu anderen menschlichen Coronaviren wie SARS CoV hinweist [17]. Die Empfindlichkeit von Ziegenzellen wurde nicht getestet, es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass NCoV auch diese Art infiziert.

Insbesondere Krankenhäuser auf der Intensivstation, spezialisierte Lungenkrankenhäuser und ähnliche Einrichtungen sollten NCoV bei Patienten mit schwerer Atemwegserkrankung mit unbekannter Ätiologie in Betracht ziehen. Diese Patienten sollten auf das neuartige Virus sowie auf Krankheitserreger getestet werden, die Krankheiten verursachen, die für die Differentialdiagnose bei schweren Lungenerkrankungen berücksichtigt werden müssen. In solchen Fällen sollte HCW eine vollständige persönliche Schutzausrüstung verwenden, wie sie für den Umgang mit Patienten mit SARS empfohlen wird, einschließlich N95-Masken, die vom durchgeführten Verfahren unabhängig sind, und die zuständigen Gesundheitsbehörden sollten rechtzeitig informiert werden. Im Allgemeinen ist es ratsam, dass HCW in Kontakt mit Patienten mit einer schweren Atemwegserkrankung unbekanntem Ursprungs Vorsichtsmaßnahmen gegen Tröpfchen trifft. Sollten Patienten mit Verdacht auf NCoV-Infektionen zur Sonderbehandlung überwiesen werden, ist es wichtig, das empfangende Krankenhaus umfassend zu informieren. Empfehlungen für das Management der öffentlichen Gesundheit sollten durch künftige Forschungsarbeiten, die den Weg, die Menge und die Dauer der Virusausscheidung umfassen, weiter informiert werden. Darüber hinaus sind weitere Informationen über die Fähigkeit des Virus erforderlich, von Person zu Person zu übertragen.

Unsere Untersuchung weist einige wichtige Einschränkungen auf. Wir haben nicht von allen Kontakten dieses Patienten einen Fragebogen und Blut erhalten. Trotzdem war die Rücklaufquote hoch und die Informationen zu Kontakten mit dem höchsten Infektionsrisiko waren vollständig. Die verfügbaren Informationen zum Intervall zwischen Exposition und Venenpunktion konnten nur angenähert werden, da die Kontakte länger als einen Tag exponiert waren. In unserer Studie haben wir den Tag des ersten Kontakts verwendet, da der Patient zu diesem Zeitpunkt wahrscheinlich am ansteckendsten war. Theoretisch kann in einigen Fällen eine Serokonversion aufgetreten sein, nachdem Kontakte Blut geliefert hatten. Die Notwendigkeit, die Situation schnell zu bewerten, veranlasste uns jedoch, sofort mit der Kontaktuntersuchung zu beginnen. Eine weitere Einschränkung besteht darin, dass das negative Ergebnis der Virusisolierung des Patienten auf die lange Lagerzeit der Probe zurückzuführen sein könnte - im Gegensatz zu unserer bevorzugten Hypothese einer niedrigen RNA-Konzentration.

Trotzdem glauben wir, dass es fair ist, zu dem Schluss zu kommen, dass die Infektiosität des Patienten am 20. Krankheitstag fehlte oder sehr gering war. Unsere Kontaktuntersuchung hat keine Hinweise auf eine Infektion bei Kontakten im Krankenhaus oder außerhalb des Krankenhauses ergeben. Unser zweistufiger Ansatz für das serologische Screening, bei dem ein First-Line-Test durch Vollvirus-IFA durchgeführt und durch bestätigende rekombinante IFA und SNT ergänzt wird, sollte in Zukunft eine Vorlage für ähnliche Untersuchungen liefern. Wenn Patienten, bei denen der Verdacht auf eine Infektion mit NCoV besteht, zur Spezialbehandlung überwiesen werden sollen, müssen die aufnehmenden Krankenhäuser informiert werden, damit geeignete Maßnahmen zur Infektionskontrolle umgesetzt werden können.

Danksagung

Wir danken Kerstin Prahm und Aryna Zanuzdana für die Unterstützung bei der Dateneingabe und -validierung, Sami Marzougi und Ghassan Moussa für ihre freundliche Unterstützung beim Dolmetschen, Annette Jurke für die Kontaktstelle im staatlichen Gesundheitsamt, Mareen Adam, Susi Hafemann, Ingrid Zadow und Julia Hinzmann für exzellente technische Unterstützung bei PCR-Analysen und Petra Kreher und Anette Teichmann für die Entwicklung von Serologietests und das Testen von Seren. Wir danken Ron Fouchier vom Erasmus Medical Center für die Bereitstellung des Virusisolats.

Die Arbeit an der Universität Bonn wurde vom RP7-Projekt der Europäischen Union EMPIRE (Vertragsnummer 223498), ANTIGONE (Vertragsnummer 278976), der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG-Stipendium DR 772 / 3-1, KA1241 / 18-1) unterstützt sowie das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF SARS II).

Interessenkonflikt
Keine deklariert.

Autorenbeiträge

UB: Unterstützung bei der Gestaltung der Studie, Analyse der Daten, Verfassen des Manuskripts. MAM: Labortests durchgeführt, Manuskript gelesen und überarbeitet. AN: Labortests durchgeführt, Manuskript gelesen und überarbeitet. AS: gesammelte Daten, gelesenes und überarbeitetes Manuskript. NW: gesammelte Daten, gelesenes und überarbeitetes Manuskript. TBB: gesammelte Daten, gelesenes und überarbeitetes Manuskript. FB: Daten gesammelt, Manuskript gelesen und überarbeitet. CD: Unterstützung bei der Gestaltung der Studie, Durchführung von Labortests, Lesen und Überarbeiten des Manuskripts. BS: Labortests durchgeführt, Manuskript gelesen und überarbeitet. TW: Labortests durchgeführt, Manuskript gelesen und überarbeitet. DM: Labortests durchgeführt, Manuskript gelesen und überarbeitet. BM: Labortests durchgeführt, Manuskript gelesen und überarbeitet. SB: Unterstützung bei der Gestaltung der Studie, Lesen und Überarbeiten des Manuskripts. GK: Unterstützung bei der Gestaltung der Studie, Lesen und Überarbeiten des Manuskripts. LS: Unterstützung bei der Gestaltung der Studie, Lesen und Überarbeiten des Manuskripts. WH: Unterstützung bei der Gestaltung der Studie, Koordinierung der Studie, Lesen und Überarbeiten des Manuskripts.

Verweise

1. 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(19):1814-20. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoal211721>. PMID:23075143.
2. Centers for Disease Control and Prevention. Severe respiratory illness associated with a novel coronavirus--Saudi Arabia and Qatar, 2012. *MMWR Morbidity and mortality weekly report* 2012;61:820. PMID:23051613.
3. Bermingham A, Chand M, Brown C, Aarons E, Tong C, Langrish C et al. Severe respiratory illness caused by a novel coronavirus, in a patient transferred to the United Kingdom from the Middle East, September 2012. *Euro Surveill*. 2012; 17(40): pii=20290. Available from: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20290>

4. World Health Organization (WHO). Novel coronavirus infection - update. Geneva: (WHO); 2013. Accessed on February 18, 2012. Available from: http://www.who.int/csr/don/2013_02_16/en/index.html
5. European Center for Disease Prevention and Control (ECDC). Rapid risk assessment: Update: Severe respiratory disease associated with a novel coronavirus. Update 19 February 2013. Stockholm:ECDC;2013. Accessed on: February 19, 2012. Available from: <http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/novel-coronavirus-rapid-risk-assessment-update.pdf>
6. World Health Organization (WHO). Infection prevention and control of epidemic- and pandemic-prone acute respiratory diseases in health care - WHO interim guidelines. Geneva: (WHO); 2007. Accessed on: December 17, 2012. Available from: http://www.who.int/csr/resources/publications/WHO_CDS_EPR_2007_6c.pdf
7. Pebody RG, Chand MA, Thomas HL, Green HK, Boddington NL, Carvalho C, et al. The United Kingdom public health response to an imported laboratory confirmed case of a novel coronavirus in September 2012. *Euro Surveill.* 2012;17(40):pii=20292. Available from: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20292>
8. World Health Organization (WHO). International health regulations (2005). Second edition. Geneva: WHO; 2008. Available from: http://whqlibdoc.who.int/publications/2008/9789241580410_eng.pdf
9. Corman V, Eckerle I, Bleicker T, Zaki A, Landt O, Eschbach-Bludau M, et al. Detection of a novel human coronavirus by real-time reverse-transcription polymerase chain reaction. *Euro Surveill.* 2012;17(39):pii=20285. Available from: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20285>
10. Corman VM, Müller MA, Costabel U, Timm J, Binger T, Meyer B, et al. Assays for laboratory confirmation of novel human coronavirus (hCoV-EMC) infections. *Euro Surveill.* 2012;17(49):pii=20334. Available from: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20334>
11. Herzog P, Drosten C, Müller MA. Plaque assay for human coronavirus NL63 using human colon carcinoma cells. *Virol J.* 2008;5:138. <http://dx.doi.org/10.1186/1743-422X-5-138>. PMID:19014487. PMCID:2603006.
12. Federal Ministry of Justice. Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen (Infektionsschutzgesetz - IfSG). [Regulation on preventing and control of infectious diseases in humans (Act on protection against infection)]. 20 Jul 2000. German. Available from: <http://bundesrecht.juris.de/bundesrecht/ifsg/gesamt.pdf>
13. van Boheemen S, de Graaf M, Lauber C, Bestebroer TM, Raj VS, Zaki AM, et al. Genomic characterization of a newly discovered coronavirus associated with acute respiratory distress syndrome in humans. *MBio.* 2012;3. pii: e00473-12. <http://dx.doi.org/10.1128/mBio.00473-12>
14. Annan A, Baldwin HJ, Corman VM, Klose SM, Owusu M, Nkrumah EE, et al. Human betacoronavirus 2c EMC/2012-related viruses in bats, Ghana and Europe. *Emerg Infect Dis* 2013 Mar (epub ahead of print). <http://dx.doi.org/10.3201/eid1903.121503>
15. Albarrak AM, Stephens GM, Hewson R, Memish ZA. Recovery from severe novel coronavirus infection. *Saudi medical journal* 2012;33:1265-9. PMID:23232672.
16. Saif LJ. Bovine respiratory coronavirus. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2010;26:349-64. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvfa.2010.04.005>
17. Muller MA, Raj VS, Muth D, Meyer B, Kallies S, Smits SL, et al. Human Coronavirus EMC Does Not Require the SARS-Coronavirus Receptor and Maintains Broad Replicative Capability in Mammalian Cell Lines. *mBio* 3:e00515-12. <http://dx.doi.org/10.1128/mBio.00515-12>