

## Advies werken met lichaamsmateriaal in laboratoria voor geassisteerde voortplanting bij potentiële aanwezigheid van het SARS-CoV-2 virus.

### Versie beheer:

Versie 1.0 is d.d. 11-6-2020 geaccordeerd door het bestuur van de KLEM. Dit advies zal na 2 maanden worden herzien. Wanneer wetenschappelijke informatie beschikbaar komt die eerdere herziening nodig maakt kan deze termijn worden ingekort.

Versie 2.1 is d.d. 28-08-2020 geaccordeerd door het bestuur van de KLEM.

Versie 3.4 is d.d. 05-11-2020 geaccordeerd door het bestuur van de KLEM.

Versie 4.2 is d.d. 09-02-2021 geaccordeerd door het bestuur van de KLEM.

Versie 5.2 is d.d. 31-05-2021 geaccordeerd door het bestuur van de KLEM

### Inleiding:

*Achtergrond:* In 2004 verscheen de eerste versie van het standpunt ‘Screening infectieziekten bij kunstmatige voortplanting’ van de KLEM, NVMM en NVOG. Het doel van dit eerste standpunt was het aangeven van de kaders waarbinnen gewerkt moest worden om veilig om te gaan met microbiologische risico’s in de medisch begeleide voortplanting. Na de inwerkingtreding van de Europese richtlijn 2006/17/EG en WVKL en met de inbreng van voortschrijdende wetenschappelijk kennis is het standpunt sindsdien grondig herzien. Het meest recente “Standpunt Geassisteerde Voortplanting en Infecties” beschrijft de gewenste wijze van testen op infectieziekten en de consequenties van de uitslagen voor donoren en patiënten. Risico’s voor het personeel dat de handelingen uitvoert met potentieel besmet patiëntmateriaal worden niet behandeld in dit standpunt. Hiervoor wordt verwezen naar de richtlijn van de ziekenhuishygiëne en de richtlijnen van de werkgroep infectiepreventie ([www.wip.nl](http://www.wip.nl)).

*Actuele situatie:* Na de komst van het SARS-CoV-2 virus, de verwekker van COVID-19, werd wereldwijd de fertiliteitszorg vrijwel stil gelegd. Nu in Nederland deze zorg weer wordt verleend hebben de laboratoria voor geassisteerde voortplanting hun werkwijze aangepast aan de potentiële aanwezigheid van SARS-CoV-2 bij medewerkers, patiënten of donoren. De in het standpunt infectiescreening genoemde aandoeningen zijn seksueel en/of door bloed overdraagbaar. In SARS-CoV-2 hebben we te maken met een respiratoir overdraagbaar virus. Het is voor een laboratorium volstrekt nieuw dat specifiek en concreet met deze manier van overdracht rekening moet worden gehouden. Tevens is het nog onbekend wat het virus kan doen, wanneer het in contact zou komen met gameten of embryo’s. Daarmee dwingt het SARS-CoV-2 virus ons als professionals over een aantal specifieke vragen na te denken en naar de antwoorden op die vragen te handelen.

*Variants of concern (VOC’s):* Hoewel het SARS-CoV-2 virus minder snel muteert dan de veroorzakers van veel andere bekende luchtweginfecties, is het in het licht van de wereldwijd voortwoekerende epidemie niet verwonderlijk dat het virus zich steeds meer aanpast aan vermeerdering bij de mens en zich uiteindelijk mutanten manifesteren die zich sneller verspreiden dan de oorspronkelijke. Dit was overigens al eind februari 2020 het geval met de D614G variant die in Europa opdook en binnen 2 maanden wereldwijd de dominante variant is geworden (Korber e.a. 2020). Zeer recent zijn varianten

van SARS-CoV-2 naar voren gekomen die een combinatie van mutaties in zich hebben verzameld die leiden tot een snellere verspreiding. Hierdoor werden overheden genoodzaakt extra maatregelen te treffen om verdere verspreiding van deze VOC's te voorkomen (B.1.1.7 in het VK (Kirkby T. 2021; Kupferschmidt, K. 2012) en 501Y.V2 in Zuid-Afrika (Kupferschmidt K. 2021, Tegaly e.a. 2020)). Het mechanisme achter de snellere verspreiding van deze varianten is nog niet geheel ontrafeld (Volz e.a. 2021). Er zijn echter meerdere aanwijzingen, dat met B.1.1.7 besmette personen aanzienlijk meer virusdeeltjes verspreiden dan bij de tot nu bekende varianten het geval was. Tevens zijn er aanwijzingen dat er van de recente varianten mogelijk minder virusdeeltjes nodig zijn om iemand daadwerkelijk te infecteren vanwege een hogere affiniteit voor de ACE-2 receptor (Tegaly e.a. 2020).

In laboratoria voor geassisteerde voortplanting wordt van grote aantallen patiënten ruw lichaamsmateriaal *vitaal* verwerkt. Dit brengt mogelijk risico's met zich mee op besmetting van medewerkers met SARS-CoV-2 virus en risico's op kruiscontaminatie. In het gezonde menselijk lichaam zijn er biologische barrières die infectie van gameten of embryo's door het SARS-CoV-2 virus kunnen voorkomen. In laboratoria voor geassisteerde voortplanting bestaan deze barrières niet. Dit brengt potentiële risico's op diverse vormen van transmissie met zich mee. Deze risico's, die uniek zijn voor laboratoria voor geassisteerde voortplanting, zijn nog niet goed in kaart gebracht.

*Doel van dit advies:*

Het "Standpunt Geassisteerde Voortplanting en Infecties" wordt bekend verondersteld.

Het doel van dit advies is om wetenschappelijk kennis en informatie te verzamelen die nodig is om te kunnen bepalen:

- Bij welke laboratorium verrichtingen (ontvangen, bewerken, bewaren) er risico's zijn op kruisbesmetting tussen patiënten.
- Bij welke laboratorium verrichtingen (ontvangen, bewerken, bewaren) er risico's zijn op (horizontale, verticale) of diagonale transmissie.
- Bij welke laboratorium verrichtingen (ontvangen, bewerken, bewaren) er risico's zijn op besmetting van medewerkers.
- Welke methoden en werkwijze bij laboratorium verrichtingen (ontvangen, bewerken, bewaren) ART moeten worden aangepast om deze risico's te reduceren en waar mogelijk te elimineren.

*Reikwijdte van dit advies:*

De WIP-richtlijnen voorzien nog niet in specifieke aanwijzingen m.b.t. het SARS-CoV-2 virus. In tegenstelling tot het "Standpunt Geassisteerde Voortplanting en Infecties" beoogt dit advies daarom juist wel om de risico's voor het personeel, dat handelingen uitvoert met potentieel besmet patiëntmateriaal, te beschrijven.

Omdat deze handelingen bij uitstek worden verricht in de Nederlandse IVF-laboratoria en ervan uit deze op zeer korte termijn behoefte is aan een dergelijk advies, zal het in eerste instantie worden uitgebracht aan deze laboratoria onder verantwoordelijkheid van het bestuur van de KLEM. Het is de verantwoordelijkheid van de hoofden van de Nederlandse IVF-laboratoria (klinisch embryologen) om te besluiten of en hoe zij deze adviezen willen implementeren in de werkwijze van hun laboratoria.

Beschikbare kennis:

**Hoe "werkt" het SARS-CoV-2 virus.**

Coronavirussen zijn enkelstrengs RNA-virussen en worden zo genoemd vanwege de 'krans' rond de viruspartikels die zij vertonen in beelden die zijn gemaakt met een elektronenmicroscop.

SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2), is een nieuw coronavirus waarover voor het eerst eind december 2019 werd gerapporteerd in Wuhan, China. Sindsdien heeft het zich snel en vrijwel wereldwijd verspreid.

SARS-CoV-2, is in staat de luchtwegen te infecteren na overdracht via respiratoire druppels. SARS-CoV-2 werd inmiddels ook geïsoleerd uit bloed en feces van COVID-19 patiënten (zie hierna). Hierdoor ontstond er zorg over mogelijke transmissie via andere lichaamsvloeistoffen dan sputum, zoals urine, semen e.d.. SARS-CoV-2 komt de cel binnen door binding van virale spike (S) eiwitten aan het cellulaire angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2). ACE2 komt tot expressie in meerder weefsel en organen zoals longblaasjes, darmepitheel, hart en nieren. Transmembraan Serine Protease 2 (TMPRSS2) is nodig voor definitieve infectie van de cel. (Hoffmann et al. 2020). Inmiddels is gebleken dat het virus ook via andere routes kan infecteren, waarbij gebruik gemaakt kan worden van het transmembraan glycoproteïne basigine (BSG, ook wel CD147 genoemd) als alternatief voor ACE2 (Wang, Chen et al. 2020) en/of het cysteineprotease cathepsin L (CTSL) i.p.v. TMPRSS2 (Hoffmann et al. 2020).

### **Aanwezigheid van het SARS-CoV-2 virus in de weefsels en cellen van het menselijk lichaam.**

#### ***Diverse weefsels***

Het SARS-CoV-2 virus RNA wordt aangetoond in hoge concentraties in sputum en in monsters van de bovenste luchtwegen van COVID-19 patiënten. Recente studies maken duidelijk, dat de hoeveelheden SARS-CoV-2 mRNA in de bovenste luchtwegen al hoog kunnen zijn op het moment dat de eerste klachten optreden en maken het zeer aannemelijk dat al voor het optreden van klachten er virus mRNA aanwezig is (Furukawa et al. 2020 (en referenties daarin). Ook de richtlijnen van het RIVM voor bron- en contactonderzoek gaan er vanuit dat tenminste 2 dagen voor het optreden van klachten patiënten besmettelijk zijn (<https://lci.rivm.nl/COVID-19-bco>). Ook in bloed en in bloedcellen van het immuun systeem (Trypsteen et al., 2020) wordt SARS-CoV-2 virus RNA aangetroffen. In sommige studies wordt het slechts aangetroffen in een klein percentage van COVID-19 patiënten (Wang et al., 2020; Yu et al., 2020), in andere studies wordt het in 33% van de COVID-19 patiënten aangetroffen (Hogan et al., 2020), terwijl in andere studies geen virus kan worden aangetoond in bloed en in serum van zowel asymptomatische and symptomatische patiënten (Corman et al., 2020).

#### ***In semen en in het mannelijk urogenitale stelsel***

Studies naar de aanwezigheid van het SARS-CoV-2 mRNA in semen van mannen gediagnostiseerd met COVID-19 geven geen eenduidige uitkomsten. Aanvankelijk kon in 10 publicaties geen viraal mRNA worden aangetoond (Burke et al., 2021; Guo et al., 2020b; Kayaaslan et al., 2020; Ning et al., 2020; Nora et al., 2020; Pan et al., 2020; Paoli et al., 2020; Pavone et al., 2020; Rawlings et al., 2020; Song et al., 2020). Echter detecteerden Li et al., (2020) SARS-CoV-2 mRNA in semen van 6 van de door hen onderzochte 38 mannen waarvan 2 al waren hersteld van COVID-19. En Gacci et al (2021) detecteerde in 1 van de 43 mannen die hersteld waren van een recente SARS-Cov-2 infectie het virus RNA in semen. Machado et al. (2021) kon SARS-Cov-2 virus RNA aantonen in 1 semenmonsters van 15 onderzochte patiënten [6.66%] die positief getest waren op het virus en slechts milde of geen COVID klachten hadden. In totaal werd in de 13 gerefereerde studies, allemaal afkomstig van verschillende onderzoeksgroepen, semen onderzocht van 267 mannen waarbij (in drie van deze studies) 8 (=3%) mannen positief testten op SARS-CoV-2 virus mRNA.

Hoewel het virus RNA in sommige studies niet kon worden aangetoond in urine (Paoli et al., 2020; Yu et al., 2020; Wang et al., 2020) werd het in andere studies wel aangetoond in 6 van de 187 onderzochte monsters (3.2%) (Raza, 2020) en 1 van de 43 onderzochte monsters (2.3%) (Gacci et al., 2021). In testisweefsel werd het tot op heden niet aangetoond (Song et al., 2020). Ook in prostaatsecretie van patiënten met aangetoonde COVID-19 kon geen SARS-CoV-2 virus worden aangetoond (Quan et al., 2020; Zhang et al., 2020). De meeste auteurs achtten het tot voor kort dan ook niet waarschijnlijk dat het SARS-CoV-2 virus de testis en het urogenitale stelsel infecteert en dat het virus seksueel overdraagbaar is. Echter werd in een recente studie, na obductie van 5 mannen die overleden aan SARS-CoV-2, bij 2 mannen zowel SARS-CoV-2 mRNA als het virus S1 spike glycoprotein aangetoond in hun testisweefsel. Dit is een duidelijke aanwijzing voor directe infectie van testiscellen door het virus bij mannen met ernstige COVID-19 (Ma et al., 2021). Hoewel orchitis werd aangetoond bij alle 6 t.t.v. obductie onderzochte mannen die overleden aan de gevolgen van infectie met het aan SARS-CoV-2 verwante virus SARS-CoV-1 werd er geen SARS-CoV1 mRNA aangetroffen in de testis van mannen met SARS (Ding et al., 2004; Xu et al., 2006; Guo et al., 2008).

De conclusie van enkele systematische review studies van de betreffende wetenschappelijke literatuur is dat met de data die op dit moment bekend zijn, gesteld kan worden dat bij patiënten met aangetoonde COVID-19 het SARS-CoV-2 virus hoogstwaarschijnlijk afwezig is in semen, prostaat secreties en testis weefsel, hetgeen (seksuele) transmissie via deze route onwaarschijnlijk maakt (Omolaoye et al., 2020.; Singh et al., 2020; Walsh et al., 2020.).

Naast de kans dat het virus bij ernstig zieke COVID-19 mannelijke patiënten doordringt tot in de testis en het semen, kan er tevens indirecte schade ontstaan aan de testis, die de semen kwaliteit nadelig beïnvloed en DNA-fragmentatie spermatozoa kan veroorzaken, hetgeen in potentie kan leiden tot fertiliteit problemen (Omolaoye et al., 2020.; Singh et al., 2020; Walsh et al., 2020.)

### ***In follikelvloeistof en in het vrouwelijk urogenitale stelsel***

In follikelvocht verkregen tijdens een IVF-behandeling van een patiënte die positief testte op SARS-CoV-2 virus RNA op de dag vóór de eicelpunctie werd geen virus RNA aangetoond (Demirel et al., 2021). Het SARS-CoV-2 virus kon tot nu toe ook niet worden aangetoond in ovaria en in de uterus (Ding et al., 2020). Ook werd het in een aantal studies niet gevonden in vaginale fluid en monsters van de cervix van patiënten met ernstige COVID-19 klachten (Qiu et al., 2020; Cui et al., 2020). In een recente studie echter waarin postnataal weefsels en lichaamsvloeistoffen van 31 moeders met een COVID-infectie werden onderzocht op de aanwezigheid van het SARS-CoV-2 virus RNA kon dit worden aangetoond in 1 navelstrengbloed, 2 placenta's, 1 vaginaal uitstrijkje en 1 moedermelk monster (Fenzia et al., 2020). Ook in een studie van Schwartz et al. (2021) werd SARS-CoV-2 virus RNA aangetoond in vaginale uitstrijkjes van 2 van 35 onderzochte patiënten die allemaal positief getest waren. Vergelijkbare gegevens komen uit de Nederlandse PeriNed database, waarin tot 26 maart jl. gegevens werden verzameld van 1978 zwangere vrouwen waarvan 1903 zijn bevallen. Bij 375 vrouwen werd nader microbiologisch onderzoek verricht door middel van vaginale kweken, kweken van het vruchtwater, van de placenta of navelstrengbloed. In 1 van deze casus was de vaginale test positief, bij 6 patiëntes was het vruchtwater positief, 8 keer de kweek van de placenta en 3 keer testte het navelstrengbloed positief voor SARS-CoV-2 RNA. [Perined Covid-19 update 26-03-2021](#). Geconcludeerd kan worden dat deze gegevens de hypothese ondersteunen dat in utero, SARS-CoV-2 verticale transmissie, hoewel zeldzaam, mogelijk is (Fenzia et al., 2020).

### ***In feces***

De aanwezigheid van het virus is aangetoond in feces: SARS-CoV-2 RNA werd gevonden in feces van 39/73 (53%) patiënten opgenomen in het ziekenhuis met COVID-19 klachten (Xiao et al., 2020). Tevens kon viraal nucleocapsid eiwit worden aangetoond in het cytoplasma van darmepitheel cellen (Xiao et al., 2020), een bewijs dat feces infectieus virus kan bevatten. Dat virus replicatie in darmepitheelcellen op kan treden wordt ondersteund door experimenten met organoïden van enterocyten. In dit modelsysteem voor groei en differentiatie van darmepitheel wordt SARS-CoV-2 actief gerepliceerd en door deze cellen in de vorm van infectieus virus uitgescheiden. M. M. Lamers et al. (2020) en J. Zhou et al (2020). Zie ook het overzicht in FMS, 2020. Het virus kon in feces worden aangetoond 2-5 dagen nadat het virus werd aangetoond in luchtwegmonsters en werd nog steeds gevonden als de luchtwegmonsters al virusvrij waren (Xiao et al., 2020). Ook andere auteurs konden het virus aantonen in zogenaamde anal swabs (Cui et al., 2020).

### ***Oogvocht en tranen***

SARS-CoV-2 mRNA en kweekbaar virus is aangetoond in oogvocht (FMS, 2020; Lu et al., 2020).

### ***Algemene conclusie***

Het SARS-CoV-2 virus is pas recent ontstaan en ontdekt. Er wordt nog veel onderzoek gedaan naar de aanwezigheid van het virus in de diverse weefsels van geïnfecteerde personen. Op dit moment moet gesteld worden dat het nog niet duidelijk is of lichaamsvochten zoals bloed, braaksel, urine, borstvoeding, follikelvloeistof, vaginaalvocht en semen wel of niet levensvatbaar en infectieus SARS-CoV-2 virus kunnen bevatten (National Center for Immunization and Respiratory Diseases (NCIRD), juli 2020).

### **Welke weefsels en cellen kunnen (theoretisch) worden geïnfecteerd en welke niet?**

Inmiddels is duidelijk dat er tenminste 28 receptoren en factoren (zogenaamde SCARFs (= SARS-CoV-2 and coronavirus-associated receptors and factors)) zijn die een rol kunnen spelen bij het faciliteren of beperken van SARS-Cov-2 infectie op cellulair niveau (Singh e.a. 2020). Coronavirussen maken o.a. gebruik van het transmembraan eiwit ACE2 (= Angiotensin Converting Enzyme 2) van cellen door daar met hoge affiniteit aan te binden. SARS-CoV-2 draagt aan de buitenkant twee verschillende glycoproteïnes S1 en S2. S1 kent een hoog affiniteit bindingssite voor ACE2 en S2 veroorzaakt de fusie met de celmembraan. Het virus infecteert daarop definitief de cel door de activiteit van een cellulair Serine Protease t.w.: TMPRSS2. Dus om een cel te kunnen infecteren moet die transmembraan ACE2 receptoren dragen en moet er TMPRSS2 activiteit in de cel aanwezig zijn. (Chen et al., 2020; Hoffmann et al., 2020).

ACE2 komt, als receptor voor de renine-angiotensine signaaltransductie pathway, in veel weefsels tot expressie. De mate van expressie lijkt geen relatie te vertonen met welke weefsels het meest worden aangetast in COVID-19 patiënten. Bij een niet systemische COVID-19 patiënt lijkt het niet aannemelijk dat SARS-CoV-2 andere weefsels kan infecteren dan die in de longen, darmen en nieren (Zie o.a. Bourgonje e.a. 2020).

Als het gaat om reproductieve organen / weefsels komt ACE2 o.a. tot expressie in het ovarium en de testis.

In het ovarium komt ACE2 tot expressie in granulosa cellen (inclusief cumulus) en thecacellen. Het lijkt een rol te spelen in de germinal vesicle breakdown, bij het "afmaken" van de meiose, onder invloed van LH of hCG. Tevens is er een rol in de regulatie van secretie van steroïden en bij de ovulatie. (Jing e.a.

2020; Reis e.a. 2011). Bij onderzoek naar de aanwezigheid van TMPRSS2 en aanverwante proteases in het ovarium konden deze niet worden gedetecteerd. Dit maakt het minder waarschijnlijk dat SARS-CoV-2 daadwerkelijk cellen in het ovarium kan infecteren (Singh e.a. 2020).

De testis kennen een opvallend hoge expressie van ACE2 (Chen e.a. 2020). De ACE2 mRNA en eiwit expressie is zelfs een van de hoogste in alle onderzochte weefsels (Dutta & Sengupta, 2020). De vier testiculaire celtypen met een hoge ACE2 mRNA expressie zijn seminiferous duct cellen, spermatogonia, Leydig cellen, en Sertoli cellen, al is hun functie daar niet duidelijk. (Douglas e.a. 2004; Dutta & Sengupta, 2020). Daarmee zouden de testis potentieel gevoelig kunnen zijn voor infectie door SARS-CoV-2. Pan e.a. (2020) beschrijven, op basis van gegevens uit bekende cDNA bibliotheken, dat er in de testis geen celtypen zijn te vinden die zowel ACE2 als TMPRSS2 tot expressie brengen. Dit komt echter niet overeen met bevindingen in de uitgebreide en meer recente studie van Singh e.a. (2020). Deze auteurs vinden consistente co-expressie van verschillende vormen van SARS-virus receptoren (w.o. ACE2) en TMPRSS2 in spermatogonia en spermatogoniale stamcellen in hun uitgebreide dataset. Zij zien daarin een sterke indicatie voor gevoeligheid van spermatogoniale cellen voor SARS-Cov-2 infectie. Het cellulaire mechanisme voor daadwerkelijke infectie met SARS-CoV-2 lijkt daarmee in spermatogoniale cellen aanwezig te zijn.

Hoewel er aanvankelijk geen concrete aanwijzingen waren voor directe infectie van testiculair weefsel, blijken de testis toch niet ongemoeid te blijven bij patiënten die geïnfecteerd zijn met coronavirus. Van de COVID-19 patiënten die semen inleverden voor een bepaling van SARS-CoV-2 mRNA, rapporteerden 19% "scrotal discomfort" tijdens hun ziekte (Pan e.a. 2020). Daarenboven werd in een recente studie, na obductie van 5 mannen die overleden aan SARS-CoV-2, bij 2 mannen zowel SARS-CoV-2 RNA als het virus S1 spike glycoproteïne aangetoond in hun testisweefsel. Dit is een duidelijke aanwijzing voor directe infectie van testiscellen door het virus bij mannen met ernstige COVID-19 (Ma et al., 2021). Verder werden er bij al deze overleden mannen ernstige morfologische afwijkingen in testisweefsel gevonden, met veel degeneratie van kiemcellen (Ma et al., 2021). Ook werd een sterke infiltratie door lymfocyten en macrofagen gezien. Deze bevindingen komen sterk overeen met die al eerder werden verkregen na obductie van 6 mannen die overleden aan SARS-CoV (NB: het virus dat in 2003 slachtoffers maakte). Ook hier waren er bij alle 6 mannen histologische aanwijzingen voor ernstige orchitis (Xu e.a. 2006). Het virus kon in deze studie echter niet worden aangetoond met in situ hybridisatie, maar er werd wel een sterke infiltratie van de tubuli door leukocyten gezien en was het aantal T-lymfocyten en macrofagen in testis weefsel verhoogd. De auteurs suggereerden toen dat de histologische schade bij deze patiënten werd veroorzaakt door een auto-immuun reactie.

### **Wat is er bekend over het effect van SARS-CoV-2 virus op, oögenese, spermatogenese of vroeg embryonale ontwikkeling?**

*Oögenese:* De receptor voor het SARS-CoV-2 virus (ACE2) is aanwezig in specifieke cellen van het ovarium (zie hierboven). In oöcyten is de aanwezigheid van mRNA voor ACE2, BSG en het protease CTSL aangetoond (Barragan e.a. 2020, Essahib e.a. 2020). We hebben in de literatuur geen verwijzing gevonden naar onderzoek naar een direct effect van SARS-CoV-2 op oögenese of andere ovariële functies.

*Spermatogenese:* De receptor voor het SARS-CoV-2 virus (ACE2) is aanwezig in specifieke cellen van de testis. Daar waar is gezocht naar de aanwezigheid van TMPRSS2 activiteit in testis leek deze in eerste instantie te ontbreken, maar een recente studie geeft sterke aanwijzingen voor het tegendeel (zie hierboven). Op basis van bovengenoemde klinische en histologische informatie lijken de testis niet ongemoeid te blijven bij patiënten die geïnfecteerd zijn met SARS-CoV of SARS-CoV-2. Bij aan SARS-CoV

en aan SARS-Cov-2 overleden mannen werd grote testiculaire schade vastgesteld en bij mannen die zijn hersteld van COVID-19 werd een ongebruikelijk hoge incidentie van oligo- en azoöspermie vastgesteld. (Gacci e.a. 2021).

*Vroeg embryonale ontwikkeling.* Analyse van sc (= single cell) RNA data maken het aannemelijk dat ACE2 mRNA aanwezig is in de vroegste embryonale stadia van het humane embryo. Het ACE2 mRNA is waarschijnlijk van maternale oorsprong, omdat het na de maternal to zygotic transition langzaam verdwijnt (Singh e.a. 2020). ACE2 komt weer tot expressie in het blastocyst stadium in het trophoctoderm. Het trophoctoderm is ook het eerste celtype in pre-implantatie embryo's dat eveneens TMPRSS2 expressie laat zien. In de cytotrophoblast zijn cellen aanwezig die zowel positief zijn voor SARS-virus receptoren als proteases. Dit past bij een beeld waarin verticale transmissie van SARS-Cov-2 weliswaar mogelijk is, maar zelden voorkomt en waarbij m.n. de placenta geïnfecteerd kan raken (Proschaska e.a. 2020; Weatherbee e.a. 2020). We hebben in de literatuur geen verwijzing gevonden naar onderzoek naar een direct effect van SARS-CoV-2 op de vroege embryonale ontwikkeling.

**Welke zijn de natuurlijke barrières tegen van SARS-CoV-2 virus en is er een risico dat de handelingen die nodig zijn voor het verkrijgen, bewerken of bewaren van voortplantingsweefsels, gameten of embryo's hiermee interfereren.**

Bij niet systemische COVID-19 patiënten lijkt het niet aannemelijk dat SARS-CoV-2 andere weefsels kan infecteren dan die in de longen, darmen en nieren.

Cumulus eicel complexen worden, bij een IVF-, of ICSI-behandeling of ten behoeve van cryopreservatie van oöcyten, vrijwel altijd via een transvaginale punctie verkregen. In het licht van de aangetoonde aanwezigheid van SARS-CoV-2 RNA in ontlasting en vagina is het niet uit te sluiten, dat het virus daarbij wordt overgebracht naar het ovarium. Dat zou bijvoorbeeld het geval kunnen zijn, in het uitzonderlijke geval, er een darm wordt geraakt tijdens de OPU, of het virus wordt versleept vanuit de wand van de vagina. In het ovarium zijn receptoren voor het virus (ACE2) aanwezig, maar er is geen onderzoek gedaan naar de aanwezigheid van TMPRSS2 in het ovarium en/of follikel. Daarmee is onbekend, of in een dergelijke situatie SARS-CoV-2 daadwerkelijk cellen in het ovarium kan infecteren.

Wanneer oöcyten of embryo's eenmaal in bewerking zijn in het laboratorium, vormt alleen de zona pellucida nog een barrière tegen infectie door virussen. Deze barrière wordt doorbroken bij ICSI en bij biopsie van het embryo (bij PGT).

De spermatozoa die bij ICSI door de zona pellucida en membraan in de eicel worden geïnjecteerd zouden in theorie een vehikel voor het SARS-CoV-2 virus kunnen zijn. Momenteel is er enige discussie of er op spermatozoa ACE2 aanwezig is. Vooral gebaseerd op RNA-expressie-studies wordt door enkele instanties aangenomen dat er geen virusreceptor voorkomt in spermatozoa. In dit geval is het aannemelijk dat het virus niet zal binden en weggewassen en uitverdund zal worden met de gebruikelijke bewerking van eventueel geïnfecteerd semen (ESHRE Guidance on fertility services, april 2020; ECDC, 2020). Echter gebaseerd op studies van eiwitprofielen concludeert Aitken (2020) dat er wel degelijk ACE2 aanwezig is in de zaadcelmembraan. Er dient daarom definitief vastgesteld te worden of SARS-CoV-2 kan binden aan spermatozoa en verwijderd kan worden bij bewerking.

## Betekenis voor mogelijke risico's op transmissie:

### Algemene uitgangspunten en aanbevelingen van instanties:

*De aanwezigheid van viraal mRNA betekent niet altijd dat er infectiegevaar is*

Voorafgaand aan de bespreking van mogelijke transmissie routes is het goed om te benadrukken dat het aantonen van virus RNA in een weefsel of vloeistof niet meteen betekent dat er actief virus aanwezig is en daarmee gevaar voor infectie. De PCR-testen om viraal RNA aan te tonen zijn zeer gevoelig en zullen ook niet infectieus viraal materiaal detecteren. Enkel de isolatie van intacte viruspartikels uit een weefsel of vloeistof (meestal uitgevoerd in celkweken en met behulp van dierproeven) betekent een direct bewijs voor het infectieus zijn (Feldmann, 2018, Atkinson en Pedersen (2020).

### **Het SARS-CoV-2 virus kan worden verspreid door.**

*Via druppeltjes uit neus en keel na hoesten en niezen*

De transmissie van SARS-CoV-2 virus vindt primair plaats via grote druppels uit hoesten en niezen (speeksel/ neusslijm) binnen een afstand van 1,5 meter. Secundair vindt overdracht plaats via handen, en indirect vanaf oppervlakken, naar slijmvliezen (FMS, 2020). Besmetting met SARS-CoV-2 virus vindt voornamelijk plaats via druppeltjes uit de neus en keel van de besmette persoon die direct of indirect op de slijmvliezen van ogen, neus of mond van de ontvanger terecht komen. Door hoesten en niezen worden de druppeltjes verspreid. Iemand anders kan ze inademen en daardoor besmet raken. De druppeltjes kunnen ook via handen worden overgedragen. Bijvoorbeeld als iemand met de handen aan de neus of het gezicht zit en vervolgens een ander een hand geeft (<https://www.rivm.nl/coronavirus-covid-19>).

*Via kleine aerosolen*

Het SARS-CoV-2 virus blijkt na verspreiding via aerosolen (< 5 µm doorsnede) met daarin virus in een concentratie die aanwezig zou zijn in de luchtwegen van besmette patiënten minimaal 3 uur aantoonbaar te zijn in de aerosolen zelf (van Doremalen et al., 2020). Ook andere auteurs wijzen op de mogelijkheid dat het virus verspreid wordt via deze kleine aerosolen in de lucht over grotere afstanden dan 1,5 meter (Setti et al., 2020). Deze transmissieroute wordt echter niet door alle auteurs gevonden (Ong et al., 2020). Hoewel dit steeds meer ter discussie staat, stellen WHO en RIVM dat er geen aanwijzingen zijn dat het virus zich aerogeen (via zwevende deeltjes in de lucht) verspreidt, ook niet via ventilatiesystemen. Uitzondering hierop vormen specifieke medische handelingen en procedures die een infectieus aerosol kunnen genereren (<https://lci.rivm.nl/richtlijnen/covid-19>). De Federatie Medisch Specialisten heeft een overzicht van deze medische procedures gepubliceerd (FMS, 2020). In deze leidraad stelt de FMS dat andere zeer kleine druppels (aerosolen) die behalve de grote druppels kunnen vrijkomen tijdens het niezen en hoesten in het algemeen niet tot een overdracht van SARS-CoV-2 zullen leiden.

*Indirect contact transmissie via druppeltjes uit neus en keel na hoesten en niezen op instrumentaria, monsterpotjes, formulieren en andere oppervlakken ("fomite transmission").*

Druppeltjes uit neus en keel van een geïnfecteerd persoon kunnen (bijvoorbeeld door hoesten en niezen) oppervlakken en voorwerpen contamineren. Levensvatbaar SARS-CoV-2 virus wordt gevonden op deze oppervlakken tot enige uren en in sommige gevallen tot enkele dagen na contaminatie, e.e.a. afhankelijk van omgevingsfactoren zoals temperatuur en vochtigheid en van het type materiaal (WHO



Scientific brief d.d. 09-07-2020). Contaminatie van oppervlakken en voorwerpen kan behalve door grotere druppels ook optreden door aerosolen. Levensvatbaar SARS-CoV-2 virus (getest m.b.v. celkweken) blijkt na verspreiding via aerosolen (< 5 µm doorsnede) aantoonbaar in/op de volgende materialen:

- via aerosolen verspreid op koperen en kartonnen oppervlakten: tot respectievelijk 4 uur en 24 uur,
- via aerosolen verspreid op roestvrijstaal en plastic: nog steeds aanwezig (hoewel in sterk gereduceerde virus-titers) na respectievelijk 24 uur en 72 uur (van Doremalen et al., 2020).

Hoewel diverse auteurs echter stellen dat de gebruikte onderzoeksmethode geen realistische weergave is van de “real life” verspreiding van het virus en dat het geen bewijs is voor verspreiding van het virus door de lucht, anders dan via grotere druppels (> 5 µm) verspreid door hoesten en niezen, moet verspreiding van het SARS-CoV-2 virus via de lucht en vervolgens via het aanraken van besmette oppervlakten als een potentiële indirecte transmissie route niet uitgesloten worden (diverse correspondentie n.a.v. artikel van Doremalen et al., 2020). In Intensive Care Units en ziekenhuiskamers met COVID-19 patiënten werd SARS-CoV-2 virus RNA aangetoond op vloeren, computer muizen, vuilnisbakken, bed rails, schoenzolen van artsen en verpleegkundigen en ook in luchtmonsters genomen op 4 meter afstand van de patiënt (Guo et al., 2020a).

Transmissie kan optreden door het aanraken van met het SARS-CoV-2 virus gecontamineerde oppervlakken en voorwerpen, gevolgd door het aanraken van de eigen mond, neus of ogen (WHO Scientific brief d.d. 09-07-2020). In officiële richtlijnen van het RIVM wordt echter gesteld dat indirecte transmissie via oppervlakken die met lichaamsvloeistoffen zijn verontreinigd, theoretisch mogelijk is, maar een ondergeschikte rol speelt (<https://lci.rivm.nl/richtlijnen/sars>). De kans op besmetting via met het SARS-CoV-2 virus gecontamineerde oppervlakken en voorwerpen wordt als zeer klein ingeschat, en lijkt alleen mogelijk te zijn als een geïnfecteerd persoon hoest of niest op een oppervlak en iemand anders raakt dit oppervlak binnen 1-2 uur later aan (Goldman, 2020).

Het is onduidelijk of met aerosolen, hoestdruppels, faeces, etc., gecontamineerde (aanvraag-) formulieren, materialen, goederen, semenpotjes en buizen met follikelvloeistof in de dagelijkse praktijk binnen een laboratorium voor geassisteerde voortplanting een reële transmissieroute is. Richtlijnen van sommige beroepsverenigingen houden hier wel rekening mee en adviseren diverse vormen van desinfectie (o.a. SART&CRB&SRBT, 2020; BSRM, 2020).

Risico's op mogelijke transmissie waar specifiek binnen laboratoria voor geassisteerde voortplanting op moet worden geanticipeerd:

Ten aanzien van de transmissie van het virus naar laboratoriumpersoneel via potentieel besmette instrumentaria, monsterpotjes, formulieren en andere oppervlakken stelt de commissie op basis van de huidige kennis en richtlijnen dat deze risico's door de gebruikelijke laboratorium- en handhygiëne maatregelen kunnen worden geminimaliseerd.

Via oogvocht op microscoop oculairen

Ten aanzien van de transmissie van het virus naar laboratoriumpersoneel via potentieel besmette microscoop oculairen stelt de commissie op basis van de bewezen aanwezigheid van kweekbaar (infectieus) SARS-CoV-2 virus in oogvocht (FMS, 2020; Lu et al., 2020), dat transmissie niet kan worden uitgesloten.

### Bewerken van semen:

#### *Semen productie en transport naar het laboratorium:*

Het virus kan verspreid worden via feces (Tian et al., 2020; Xiao et al., 2020). Het virus werd aangetroffen in toiletruimten die gebruikt waren door patiënten met COVID-19: op de deurklink, toiletpot en andere oppervlakken (Ong et al., 2020). Onduidelijk is of de oorzaak het ontstaan van besmette aerosolen tijdens doorspoelen van het toilet is, of door een slechte handhygiëne. Dat het mogelijk is dat patiënten met COVID-19 oppervlakken, pennen, formulieren en semenmonsterpotjes aan de buitenkant met feces resten kunnen besmetten mag duidelijk zijn uit de studies waarbij bij 28% van reizigers in het openbaar vervoer de aanwezigheid van feces bacteria op de handen kon worden aangetoond (Judah et al., 2010). Of het semen zelf ook besmet kan worden via feces is op dit moment nog onbekend. Belangrijk hierbij om op te merken is dat contaminatie van semen met darmflora (zoals E. Coli) een veel voorkomend verschijnsel is (circa 50%) (Cottell et al., 2000).

Ten aanzien van de transmissie van het virus naar laboratoriumpersoneel via potentieel met feces resten gecontamineerde monsterpotjes en formulieren stelt de commissie op basis van de huidige kennis en richtlijnen dat het risico klein tot verwaarloosbaar is, mits de gebruikelijke laboratorium- en handhygiëne maatregelen worden gehanteerd.

#### *Bewerken:*

Hoewel de aanwezigheid van vitaal, infectieus SARS-CoV-2 virus in semen nog niet is vastgesteld geeft de beschikbare literatuur aanleiding om dit wel als een meer dan alleen theoretische mogelijkheid te beschouwen. Het risico op besmetting van laboratoriumpersoneel (door spatten, morsen en aerosolvorming als gevolg van morsen of spatten, pipetteren en centrifugeren) wordt door de commissie echter als zeer klein ingeschat, mits de gebruikelijke laboratorium- en handhygiëne maatregelen worden gehanteerd. Bij gebruik van een biologische veiligheidsbank, class-2, zoals de WHO adviseert (WHO Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease (COVID-19). Interim guidance (2020) met verwijzing naar de WHO Laboratory biosafety manual, Third edition (2004)), is dit risico in feite al geëlimineerd. In een dergelijke veiligheidsbank wordt de lucht die over het monster stroomt en de lucht die weer in de laboratoriumruimte geblazen wordt door HEPA-filters gefilterd welke 99.97% wegvangen van partikels met een diameter van 0.3 µm en 99.99% van partikels met een grotere of een kleinere diameter (WHO Laboratory biosafety manual, Third edition, page 59-61; 2004). Omdat semen voor gebruik bij geassisteerde voortplanting uitgebreid wordt bewerkt en gewassen wordt door de commissie het risico op transmissie van de partner (bij IUI) of naar het embryo (bij IVF of ICSI) als zeer klein ingeschat. De effectiviteit van virusverwijdering door bewerken en wassen moet nog definitief worden vastgesteld.

Aan het gebruik van donorsemen mogen hogere eisen worden gesteld en worden aanvullende maatregelen voorgesteld.

### Verzamelen en bewerken van eicellen, ICSI en het kweken en invriezen van embryo's.

Recente literatuur maakt het aannemelijk dat in humane eicellen en embryo's zowel receptoren voor SARS-CoV2 als een voor infectie noodzakelijk protease aanwezig zijn (Singh e.a. 2020, Barragan e.a. 2020; Weatherbee e.a. 2020; Essahib e.a. 2020). Zolang het embryo door een intacte ZP (= zona pellucida) wordt omsloten is het onbereikbaar voor virussen (Van Soom e.a. 2010; S-Y. Liao et al. 2019). Wanneer de ZP wordt doorbroken vanwege ICSI, biopsie of (al dan niet assisted) hatching is deze barrière niet meer aanwezig en zou het theoretische geïnfecteerd kunnen worden door SARS-CoV-2 wanneer kweken gecontamineerd zouden raken.

Omdat SARS-CoV-2 RNA kan worden aangetoond in feces van een significant deel van COVID-19 patiënten is niet uit te sluiten dat het virus in de vagina aanwezig kan zijn. Het is immers bekend uit de historische IVF-praktijk dat fecale bacteriën via een vaginale route, follikelvloeistof kunnen contamineren t.t.v. een transvaginale follikel aspiratie. In de meeste studies werd geen SARS-CoV-2 RNA in de vagina of in follikelvocht vastgesteld. In een Nederlandse dataset echter wel. Het risico op deze contaminatie wordt door de commissie als klein ingeschat. Onlangs kon in de eicellen van 2 SARS-CoV-2-positieve vrouwen geen virus-RNA gedetecteerd worden (Barragan e.a. 2020). Het risico op transmissie naar het embryo via deze route, gezien de waarschijnlijk zeer beperkte virale load van het uitgangsmateriaal en de wasstappen die een eikel en embryo ondergaat, wordt door de commissie ingeschat als zeer gering.

#### Desinfectie van oppervlakken:

Het SARS-CoV-2 virus wordt verondersteld om gevoelig te zijn voor de desinfectie maatregelen die effectief zijn tegen het SARS-CoV-1 virus. In een review werd gevonden dat het virus op oppervlakken effectief geïnactiveerd kan worden door desinfectie met 62 - 71% ethanol, 0.5% waterstofperoxide of 0.1% sodium hypochloriet binnen 1 minuut (Kamp et al., 2020). Andere desinfectie middelen zoals 0.05-0.2% benzalkonium chloride en 0.02% chloorhexidine digluconate zijn minder effectief (Kampf et al., 2020). Een regelmatig bijgewerkte lijst van stoffen die geschikt zijn voor oppervlakte desinfectie kan hier worden geraadpleegd: <https://www.epa.gov/pesticide-registration/list-n-disinfectants-use-against-sars-cov-2-covid-19>. Daarbij dient wel opgemerkt te worden dat bij het opstellen van deze lijst geen rekening is gehouden met embryotoxiciteit.

Laboratoria voor voortplantingsgeneeskunde hebben altijd rekening moeten houden met de toxiciteit van bepaalde desinfectiemiddelen t.o.v. gameten en embryo's en daarin een eigen beleid ontwikkeld. De commissie adviseert de laboratoria om te verifiëren of de in gebruik zijnde desinfectiemiddelen ook effectief zijn tegen SARS-CoV-2.

## Aanbeveling KLEM:

### *Prospectieve risico evaluatie:*

Mede gelet op de adviezen van de ESHRE, ASRM en HFEA werd eerder aanbevolen om voor het starten van de patiëntenzorg een prospectieve en systematische risico-inventarisatie uit te voeren, tijdig de daaruit voortvloeiende maatregelen te nemen en te testen op uitvoerbaarheid en effectiviteit. Een goed voorbeeld van een dergelijke risicoanalyse t.a.v. het risico op een SARS-CoV-2 infectie in een IVF laboratorium volgens de "failure modes and effect analysis" (FMEA) methode is de publicatie van Maggiulli et al (2020).

Nederlandse laboratoria voor voortplantingsgeneeskunde hebben een erkenning als weefselinstelling en derhalve een operationeel kwaliteitssysteem. Doorgaans zullen zij daarin een methode hebben opgenomen voor prospectieve risico-inventarisatie en vertrouwd zijn met het uitvoeren van een dergelijke analyse.

Inmiddels is het SARS-CoV-2 virus meer dan een jaar "onder ons". Daarom wordt aanbevolen om binnen het operationele kwaliteitssysteem een procedure op te nemen waarmee de prospectieve risico-inventarisatie periodiek herhaald kan worden.

Voor de bekende transmissie routes gelden de door de diverse instanties (RIVM, ziekenhuisafdelingen voor ziekenhuishygiëne & infectiepreventie) uitgevaardigde algemeen geldende maatregelen ter voorkomen van besmetting.

Binnen de laboratoria voor voortplantingsgeneeskunde dient rekening gehouden te worden met het feit dat de aanwezigheid van SARS-CoV-2 virus in semen of follikelaspiraats niet is uitgesloten.

Bij het in kaart brengen van de risico's die de potentiële aanwezigheid van SARS-CoV-2 virus met zich mee brengt dient te worden gelet op:

- het risico op besmetting van personeel via directe of indirecte patiënt contacten
- het risico op besmetting van personeel via contact met patiëntmaterialen (follikelvocht, semen)
- het risico op besmetting van personeel via directe of indirecte contacten met ander personeel
- het risico op besmetting van patiënten via directe of indirecte contacten met personeel
- het risico op besmetting van patiëntmaterialen (eicellen, follikelvocht, semen, embryo's) door personeel.
- Het risico op besmetting van patiënten materiaal door het materiaal van andere patiënten.

### *Risico reductie:*

De volgende maatregelen komen in aanmerking om bovenstaande besmettingsroutes te voorkomen. Het laboratorium dient zelf de risico inschatting te maken (eventueel samen met de infectiepreventie deskundigen van het eigen centrum) en kan zelf besluiten of er wel of geen maatregelen genomen moeten worden:

- Methoden om te voorkomen (middels triage of testen volgens lokaal protocol) dat met SARS-CoV-2 besmette patiënten of medewerkers (van welke discipline dan ook) het laboratorium betreden of in contact komen met laboratoriummedewerkers.
  - Triage alleen is niet afdoende om dit te voorkomen. De hoeveelheden SARS-CoV-2 mRNA in de bovenste luchtwegen kunnen al hoog zijn voordat de eerste klachten optreden (Furukawa et al. 2020 (en referenties daarin), He et al. (2020), Walsh et al (2020)). Ook de richtlijn van het RIVM voor bron- en contactonderzoek gaat er vanuit

dat tenminste 2 dagen voor het optreden van klachten patiënten besmettelijk zijn (<https://lci.rivm.nl/COVID-19-bco>). Medewerkers dienen er daarom nadrukkelijk rekening mee te houden dat zij besmettelijk kunnen zijn, ook al hebben ze geen klachten. Medewerkers dienen er eveneens nadrukkelijk rekening mee te houden dat patiënten besmettelijk kunnen zijn, ook al is uit de triage geen verhoogd risico op besmettelijkheid gebleken.

- Medewerkers houden te allen tijde voldoende afstand tot patiënten en van elkaar (Wanneer dit niet mogelijk is, zoals bij dubbele controles, dienen er aanvullende maatregelen te worden getroffen om besmetting te voorkomen)
- Decontaminatie van potentieel gecontamineerde monsterpotjes/buizen
- Decontaminatie van bijgeleverde aanvraagformulieren bij monsterpotjes / buizen danwel zoveel als mogelijk gebruik te maken van digitale aanvraagprocedures en rapportages.
- Decontaminatie van geleverde goederen
- Decontaminatie van laboratoriumapparatuur met extra aandacht voor oculairen
- Decontaminatie of voorkomen van gemeenschappelijk gebruik van administratieve hulpmiddelen (pennen, ICT-hardware als muizen en toetsenborden, telefoons)
- Werkwijzen aanpassen bij handelingen die mogelijk aerosolen kunnen vormen (pipetteren en centrifugereren).
- Maatregelen ter voorkoming van contaminatie van eicel en embryokweken
- Extra maatregelen bij opslag van ingevroren materiaal in niet geheel gesloten systemen (Bijv.: Kitazato)
- Voorkomen van contaminatie van vloeibare stikstof door medewerkers.

#### *Variants of concern*

COVID-19 uitbraken zijn de Nederlandse IVF-laboratoria tot nu toe (april 2021) bespaard gebleven. Het is echter niet bekend of de huidige mitigerende maatregelen: 1,5 m afstand houden, frequente handhygiëne toepassen, gebruik neus-mondmaskers, triage en test-beleid en / of een gelukkig toeval dit hebben kunnen voorkomen. Maar voornamelijk lijkt er, ook met de komst van nieuwe meer besmettelijke varianten van SARS-CoV-2, geen noodzaak om nu geheel andere, aanvullende, maatregelen te treffen. Wel adviseert de commissie om, in het licht van de circulatie van deze varianten, te inventariseren of al deze maatregelen daadwerkelijk (kunnen) worden nageleefd binnen de muren van het laboratorium en de andere ruimten die worden gebruikt door medewerkers en patiënten. Wanneer dat binnen de bestaande ruimte of werkwijze niet mogelijk is dienen deze aangepast te worden, zodat de gezondheid van medewerkers en patiënten of de veiligheid van patiëntmateriaal niet in gevaar komt.

Het gedrag van mensen in de ruimten waarin pauze wordt genomen, gegeten, gedronken en geconverseerd, blijkt in de praktijk een hoger risico te vormen op besmetting in ziekenhuizen dan de directe patiëntenzorg (Richterman e.a. 2020). Het gedrag van medewerkers in en de inrichting van juist deze ruimten, verdient daarom extra aandacht bij het in stand houden van de veiligheidsmaatregelen.

#### *Wanneer patiënten positief testen op COVID-19:*

Er dient een lokaal protocol opgesteld te worden over hoe om wordt gegaan met situaties waarin er zich tijdens een van de fasen van een behandeling een (verdenking) op COVID-19 manifesteert. Zo adviseert bijvoorbeeld ESHRE om alle embryo's in te vriezen wanneer na de punctie, maar voor de embryo-transfer, een COVID-19 infectie wordt vastgesteld (ESHRE COVID-19 Working Group).

#### Aanbevelingen t.a.v. fertiliteitspreservatie bij mannen

Indien bij de triage van een man, waarvoor fertiliteitspreservatie is aangevraagd, verdenking op COVID-19 bestaat, moet er vooralsnog rekening gehouden worden met de aanwezigheid van SARS-CoV-2 virus in zijn semen. Wanneer dat medisch gezien mogelijk is, is het raadzaam cryopreservatie van zijn semen uit te stellen voor een periode van minimaal 2 weken na afloop van de klachten. Bij de meeste indicaties kan fertiliteitspreservatie echter niet worden uitgesteld. Het is in een dergelijk geval raadzaam een PCR op het semen uit te voeren. In overleg met de klinisch viroloog is hiervoor mogelijk slechts een klein volume (<0,2 ml) ruw semen (zonder cryoprotectans) nodig. Mocht bij deze test de aanwezigheid van SARS-CoV-2 virus worden vastgesteld kan dit semen toch op de gebruikelijke wijze worden opgeslagen (Bij CBS-HS-rietzjes is er geen kans op kruisbesmetting (Mortimer, 2004). Met de wetenschap dat het materiaal SARS-CoV-2 virus bevat, zullen, bij gebruik van het ingevroren materiaal in de toekomst, de bewerkingsprocedures volgens de dan beschikbare kennis worden uitgevoerd. Wanneer de patiënt de afgelopen 14 dagen ziek is geweest met COVID-19 gerelateerde klachten of in contact geweest met een lab-bevestigde COVID-19 patiënt kan eveneens deze procedure worden gevolgd.

Deze aanbeveling is een gevolg van het feit dat de testis en semen vooralsnog als een mogelijk reservoir van het SARS-CoV-2 virus moet worden beschouwd. Daarnaast is er een risico dat een besmettelijke COVID-19 patiënt zijn materiaal contamineert met virus ten tijde van het opvangen van zijn ejaculaat. Het testen van semen op de aanwezigheid van het SARS-CoV-2 virus voorafgaande aan de cryopreservatie van semen wordt eveneens gesuggereerd door een internationaal samenwerkingsverband (Esteves et al., 2020).

#### Aanbevelingen t.a.v. het gebruik van donorsemen:

De testis kunnen een reservoir zijn voor virus (Feldman 2018). Zo kon infectieus ZIKA-virus RNA worden aangetoond in het semen tot 30 dagen na het begin van de ziekte (zie onder aanbevelingen voor verder onderzoek). Omdat transmissie van SARS-CoV-2 virus via semen nog steeds niet uitgesloten kan worden dient bij gebruik van donorsemen rekening gehouden te worden met het risico op horizontale transmissie van SARS-CoV-2 bij inseminatie. Tevens zullen donoren die hersteld zijn van COVID-19 mogelijk een periode van koorts hebben doorgemaakt die hun spermatogenese kan hebben beïnvloed. Het lijkt daarmee verstandig om donoren die hersteld zijn van COVID-19 voldoende tijd te gunnen om hun spermatogenese te laten herstellen en eventueel aanwezig virus te klaren. Er zal bij donorinseminatie zelden of nooit sprake zijn van een acuut patiënten belang. Hierdoor is er doorgaans voldoende tijd om ook lagere theoretische risico's uit te sluiten.

Om het risico op horizontale transmissie te minimaliseren worden daarom de volgende maatregelen aanbevolen:

- Triage van de spermadonor aan de hand van een schriftelijke vragenlijst en deze door de donor laten ondertekenen.
- Donoren die mogelijk bloot zijn gesteld aan SARS-CoV-2 (d.w.z. in een risicogebied zijn geweest of in contact zijn geweest met een COVID-19 patiënt) dienen minimaal 14 dagen klachtenvrij te zijn gebleven, na het laatste contact met een COVID-patiënt of terugkeer uit een risicogebied, alvorens zij weer veilig kunnen doneren. (N.B. Volgens de richtlijnen van het RIVM dienen deze mannen, net als elke andere Nederlandse ingezetene, al minimaal 10 dagen in quarantaine te gaan en zich te laten testen bij klachten.)
- Donoren die COVID-19 verschijnselen vertonen komen niet in aanmerking voor donatie en dienen zich te laten testen (ECDC, 2020). (N.B. Dit laatste geldt voor elke Nederlandse ingezetene).
- Wanneer een donor na een donatie COVID-19 klachten ontwikkeld dient hij zich te laten testen. Indien daarbij COVID-19 wordt bevestigd, is hij mogelijk besmettelijk geweest ten tijde van

donatie en wordt die donatie vernietigd wanneer deze binnen 2 dagen voor het optreden van de klachten heeft plaats gevonden. (LCI-richtlijn COVID-19; 9 oktober 2020: <https://lci.rivm.nl/COVID-19-bco>)

- Donoren die zijn hersteld van COVID-19 dienen voldoende tijd te krijgen om eventueel aanwezig virus te klaren. Zij komen pas in aanmerking voor donatie indien ze minimaal 28 dagen vrij zijn van COVID-19 klachten en/of minimaal 28 dagen na een negatieve test. (NB: Het ECDC hanteert hier, afhankelijk van het al dan niet getest zijn van de donor verschillende termijnen. Omwille van de duidelijkheid en omdat er geen sprake is van een acute situatie adviseert de commissie hier één termijn (t.w. de meest veilige) te hanteren.
- Om de spermatogenese van een donor na een doorgemaakte infectie met SARS-CoV-2 virus voldoende te laten herstellen kan worden overwogen om de donor 3 maanden af te laten zien van donatie.

#### Aanbevelingen t.a.v. het gebruik van donoreicellen:

Er zijn geen redenen om m.b.t. de potentiële aanwezigheid van het SARS-CoV-2 virus voor eiceldonoren andere maatregelen te treffen dan die al gelden voor paren die in aanmerking komen voor een IVF- of ICSI behandeling.

#### Aanbevelingen voor verder onderzoek

- Systematisch onderzoek naar de aanwezigheid van SARS-CoV-2 virus in semen (bijvoorbeeld bij mannen met milde COVID-19-klachten, bij mannen met ernstige COVID-19-klachten en mannen die herstellende zijn van COVID-19) (zie ook Perry e.a. 2020).

De huidige beschikbare literatuur over de aanwezigheid van SARS-CoV-2 in semen is anekdotisch en beschrijft een zeer beperkt aantal COVID-19 patiënten in diverse stadia van hun ziekte. Isolatie van actief virus is nog niet uitgevoerd. Idealiter zou een studie zoals beschreven door Mead e.a. (2018) voor ZIKA moeten worden uitgevoerd. Daarin kon het ZIKA-virus RNA worden aangetoond in het semen van 33% van mannen die bewezen leden aan de ziekte, in sommige gevallen tot enkele maanden na het begin van de ziekte. Infectieus virus kon echter slechts geïsoleerd worden bij 4% van de semen monsters die positief waren voor het virus RNA en al deze semenmonsters werden geproduceerd binnen 30 dagen na het begin van de ziekte.

- Onderzoek naar de effectiviteit van was- en verdunningsstappen bij aanwezigheid van virus in ruw semen of follikelvocht.
- Onderzoek naar het effect van doorgemaakte COVID-19 op (mannelijke) fertiliteit.
- Onderzoek naar testisschade na doorgemaakte COVID-19.
- Systematisch onderzoek naar de aanwezigheid van SARS-CoV-2 virus in follikelvloeistof bijvoorbeeld bij vrouwen met milde COVID-19-klachten, met ernstige COVID-19-klachten en vrouwen die herstellende zijn van COVID-19.

Opgesteld door:

Dr. Ir. E.G.J.M. Arts, Klinisch embryoloog, UMCG, Groningen.

Dr. J.C.M. Dumoulin, Klinisch embryoloog, MUMC+, Maastricht.

Dr. S.M. Weima, Klinisch embryoloog, UMCU, Utrecht.

Met dank aan:

Dr. I.H.M. van Loo, Arts-microbioloog, Medische Microbiologie, MUMC+, Maastricht, voor het lezen en becommentariëren van versie 1 van dit standpunt.



## Bronnen:

- R.J. Aitken (2020) COVID-19 and human spermatozoa-Potential risks for infertility and sexual transmission? *Andrology* 2020;00:1-5. <https://doi.org/10.1111/andr.12859>
- American Society for Reproductive Medicine (ASRM): Patient management and clinical recommendations during the coronavirus (COVID-19) pandemic. Update #3 (April 24, 2020 through May 11, 2020).
- B. Atkinson and E. Pedersen (2020) Sars-Cov-2 shedding and infectivity. *The Lancet*. 395 pp 1339 – 1340.
- M. Barragan, J. Guillén, e.a. Undetectable viral RNA in oocytes from SARS-CoV-2 positive women, *Human Reprod* (2020) <https://doi.org/10.1093/humrep/deaa284>
- A.E. Bourgonje, A.E. Abule et al. (2002) Angiotensin-converting enzyme-2 (ACE2 ), SARS-CoV -2 and pathophysiology of coronavirus disease 2019 (COVID -19). *J. Pathology*. <https://doi.org/10.1002/path.5471>
- BSRM (Belgian Society for Reproductive Medicine) Patient management and clinical recommendations during the Coronavirus (COVID-19) pandemic (Version 02- 20200504).
- Burke.C.A, Skytte A. Kasiri S. et al. (2021) A cohort study of men infected with COVID-19 for presence of SARS-CoV-2 virus in their semen. *J Assist Reprod Genet*, published online 03 March 2021. <https://doi.org/10.1007/s10815-021-02119-y>
- Y. Chen, Y. Guo, e.a. Structure analysis of the receptor binding of 2019-nCoV, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Volume 525, Issue 1, 2020, pp135-140, <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.02.071>.
- E. Cottell, R.F. Harrison et al. (2000) *Fert.Ster.*74: 465-470. Are seminal fluid microorganisms of significance or merely contaminants? [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(00\)00709-3](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(00)00709-3)
- V.M. Corman, H.F. Rabenau, O. Adams, et al. (2020) SARS-CoV-2 asymptomatic and symptomatic patients and risk for transfusion transmission. *TRANSFUSION* 2020;60:1119–1122. <https://doi.org/10.1111/trf.15841>
- P. Cui, Z. Chen et al. (2020) Clinical features and sexual transmission potential of SARS-CoV-2 infected female patients: a descriptive study in Wuhan, China. *medRxiv preprint*. <https://doi.org/10.1101/2020.02.26.20028225>.
- Demirel C., Tulek F., Celik H.G. et al. (2021) Failure to Detect Viral RNA in Follicular Fluid Aspirates from a SARS-CoV-2-Positive Woman. *Reproductive Sciences*, published online 22-02-2021. <https://doi.org/10.1007/s43032-021-00502-9>
- Y. Ding, L. He et al. (2004) Organ distribution of severe acute respiratory syndrome (SARS) associated coronavirus (SARS-CoV) in SARS patients: implications for pathogenesis and virus transmission pathways. *J Pathol* 2004; 203:622–30. <https://doi.org/10.1002/path.1560>

- G.C. Douglas, M.K. O'Bryan e.a. The novel angiotensin-converting enzyme (ACE) homolog, ACE2 is selectively expressed by adult Leydig cells of the testis. *Endocrinology* (2004) 145 (10) pp4703- 4711. <https://doi.org/10.1210/en.2004-0443>.
- Dutta S & Sengupta P (2020) SARS-CoV-2 and Male Infertility: Possible Multifaceted Pathology. *Reproductive Sciences* (published online 10-07-2020) <https://doi.org/10.1007/s43032-020-00261-z>
- W. Essahib, G. Verheyen, e.a. SARS-CoV-2 host receptors ACE2 and CD147 (BSG) are present on human oocytes and blastocysts. *J. Assist. Reprod. Genet.* (2020) 37, 2657-2660; <https://doi.org/10.1007/s10815-020-01952-x>
- Esteves SC, Lombardo F, Garrido N. et al. (2020) SARS-CoV-2 pandemic and repercussions for male infertility patients: A proposal for the individualized provision of andrological services. *Andrologia*. <https://doi.org/10.1111/andr.12809>
- ESHRE COVID-19 Working Group: A statement from ESHRE for phase 1-Guidance on fertility services during pandemic, date of publication 02/04/2020, last update: 23/04/2020
- ESHRE COVID-19 Working Group: ESHRE guidance on recommencing ART treatments. Published on the ESHRE website, date of publication: 23/04/2020, last update: 05/05/2020.
- ESHRE COVID-19 Working Group: Safe ART services during the third phase of the COVID-19 pandemic. Published on the ESHRE website, date of publication: 14/10/2020, last update: 14/10/2020.
- European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), Stockholm, 2020. Coronavirus disease - 2019 (COVID-19) and supply of substances of human origin in EU/EEA - first update April 2020.
- C. Fenizia, M. Biasin, I. Cetin et al. (2020) Analysis of SARS-CoV-2 vertical transmission during pregnancy. *Nature Communications* (2020) 11:5128 <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18933-4>.
- Goldman E (2020) Exaggerated risk of transmission of COVID-19 by fomites. *The Lancet Infectious Diseases*, 20, p.893. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30561-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30561-2)
- Y. Guo et al. (2008) Pathogenetic mechanisms of severe acute respiratory syndrome. *Virus Research* 133 (2008) pp4–12. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2007.01.022>
- Furukawa NW, Brooks JT et al (2020), Evidence supporting transmission of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 while presymptomatic or asymptomatic. *Emerging Infectious Diseases* Vol. 26, No. 7, July 2020, [https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/26/7/20-1595\\_article](https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/26/7/20-1595_article).
- Gacci M., Coppi M., Baldi E. et al. (2021) Semen impairment and occurrence of SARS-CoV-2 virus in semen after recovery from COVID-19. *Human Reproduction, Advance Access Publication* on February 1, 2021. <https://doi.org/10.1093/humrep/deab026>.

- Guo et al. (2020a) Aerosol and Surface Distribution of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 in Hospital Wards, Wuhan, China, 2020. *Emerging Infectious Diseases*, Jaargang:26, Uitgave:7
- Guo L, Zhao S, Li W, Wang Y, Li L, Jiang S, Ren W, Yuan Q, Zhang F, Kong F, Lei J, Yuan M (2020b) Absence of SARS-CoV-2 in Semen of a COVID-19 Patient Cohort. *Andrology* in press. <https://doi.org/10.1111/andr.12848>
- He et al. (2020) Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nature medicine*, Volume 26 May 2020, 672–675. <https://www.nature.com/articles/s41591-020-1016-z>
- HFEA - Covid-19 Treatment Commencement Strategy Ref: 0014, Version:2 (11 mei 2020).
- Hoffmann, H. Kleine-Weber e.a. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease Inhibitor, *Cell*, Volume 181, Issue 2, (2020), pp271-280.e8, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>.
- Hogan, C.A., Stevens, B.A., Sahoo, M.K. (2020) High Frequency of SARS-CoV-2 RNAemia and association with severe disease. *Clinical Infectious Diseases* (in press). <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa1054>  
FMS (Federatie Medisch Specialisten). LEIDRAAD Medische procedures die een infectieuze aerosol genereren (IAGP) met SARS-CoV-2. Versie 1 - 29 april 2020.
- H. Feldmann (2018) Virus in Semen and the Risk of Sexual Transmission (editorial). *NJEM* 378; 15. <https://doi.org/10.1056/nejme1803212>
- Y. Jing, L. Run-Qian e.a. Potential influence of COVID-19/ACE2 on the female reproductive system. *Mol. Hum. Reprod.* <https://doi.org/10.1093/molehr/gaaa030>;
- Judah et al. (2010) Dirty hands: bacteria of faecal origin on commuters' hands. *Epidemiol. Infect.* (2010), 138, 409-414. <https://doi.org/10.1017/S0950268809990641>
- G. Kampf et al. (2020) Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents. *Journal of Hospital Infection* 104 (2020) 246-251. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2020.01.022>.
- Kayaaslan et al. (2020) Investigation of SARS-CoV-2 in Semen of Patients in the Acute Stage of COVID-19 Infection. *Urol Int* 2020;104:678–683. DOI: 10.1159/000510531.
- T. Kirkby; New variant of SARS-CoV-2 in UK causes surge of COVID-19. *The Lancet Respiratory Medicine*. Published online January 4, 2021. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(21\)00005-9](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(21)00005-9)
- Knight et al. (2020) Characteristics and outcomes of pregnant women hospitalised with confirmed SARS-CoV-2 infection in the UK: a national cohort study using the UK Obstetric Surveillance System (UKOSS). <https://doi.org/10.1101/2020.05.08.20089268>.
- B. Korber, W.M. Fischer e.a. Tracking Changes in SARS-CoV-2 Spike: Evidence that D614G Increases Infectivity of the COVID-19 Virus. *Cell* 182, 812–827; <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.06.043>

- K. Kupferschmidt K. (2021) Viral evolution may herald new pandemic phase. *Science* 371 (6525), pp. 108-109; <https://science.sciencemag.org/content/371/6525/108.full>
- M. M. Lamers, J. Beumer et al., *Science* 10.1126/science.abc1669 (2020). <https://science.sciencemag.org/content/early/2020/04/30/science.abc1669.full>.
- A. La Marca et al. (2020) COVID-19: lessons from the Italian reproductive medical experience. *Fert.Ster*,113, 920-922. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.03.021>.
- LCI-richtlijn COVID-19; (9 oktober 2020): <https://lci.rivm.nl/COVID-19-bco>
- Li D, Jin M, Bao P, Zhao W, Zhang S. Clinical Characteristics and Results of Semen Tests Among Men With Coronavirus Disease 2019. *JAMA Netw Open*. 2020;3(5). <http://jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jamanetworkopen.2020.8292>
- S-Y. Liao et al. (2019) *Theriogenology* 132 : 22 - 26 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.03.008>
- C-W. Lu et al. (2020) 2019-nCoV transmission through the ocular surface must not be ignored. *The Lancet* 2020; 395(10224): e39. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30313-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30313-5).
- Ma X., Guan C., Chen R. et al. (2021) Pathological and molecular examinations of postmortem testis biopsies reveal SARS-CoV-2 infection in the testis and spermatogenesis damage in COVID-19 patients. *Cellular & Molecular Immunology* 18:487–489; <https://doi.org/10.1038/s41423-020-00604-5>
- Machado B., Barcelos Barra G., Scherzer N. et al. (2021) Presence of SARS-CoV-2 RNA in Semen—Cohort Study in the United States COVID-19 Positive Patients. *Infect. Dis. Rep.* 13, 96–101. <https://doi.org/10.3390/idr13010012>.
- Maggiulli R, Giancani A, et al. (2020) Assessment and management of the risk of SARS-CoV-2 infection in an IVF laboratory. *RBMO* <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2020.06.017>
- P.S. Mead et al. (2020) Zika Virus Shedding in Semen of Symptomatic Infected Men. *N Engl J Med* 2018;378:1377-85. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1711038>.
- D. Mortimer (2004); Symposium: Cryopreservation and assisted human conception. Current and future concepts and practices in human sperm cryobanking. [https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)62123-2](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)62123-2)
- National Center for Immunization and Respiratory Diseases (NCIRD), Division of Viral Diseases. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/faq.Html>. Last Updated July 26, 2020
- J. Ning, W. Lei et al. (2020) Effects of 2019 novel coronavirus on male reproductive system: a retrospective study. <https://doi:10.20944/preprints202004.0280.v1>
- H. Nora, E. Philippos et al. (2020) Assessment of SARS-CoV-2 in human semen - a cohort study. *Fert. Ster.* (in press). <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.05.028>

- T.S. Omolaoye, A.A. Adeniji et al. (2020) SARS-COV-2 (Covid-19) and male fertility: Where are we? *Reprod. Toxicol.* 99; Jan 2021; 65 - 70  
<https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2020.11.012>
- S.W.X. Ong, Y.K. Tan et al. (2020) Air, surface environmental, and personal protective equipment contamination by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) from a symptomatic patient. *JAMA* 323, 1610.  
<http://jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jama.2020.3227>
- F.Pan, X. Xiao e.a. (2020) No evidence of SARS-CoV-2 in semen of males recovering from COVID-19, *Fertility and Sterility*, <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.04.024>.
- D. Paoli, F. Palotti et al. (2020) Study of SARS-CoV-2 in semen and urine samples of a volunteer with positive naso-pharyngeal swab. *Journal of Endocrinological Investigation*. <https://doi.org/10.1007/s40618-020-01261-1>.
- F. Parazzini, R. Bortolus et al. (2020). Delivery in pregnant women infected with SARS-CoV-2: A fast review. *Int J Gynecol Obstet* 2020; 1–6. <https://doi.org/10.1002/ijgo.13166>
- C. Pavone et al. (2020). Italian males recovering from mild COVID-19 show no evidence of SARS-CoV-2 in semen despite prolonged nasopharyngeal swab positivity. *IJIR: Your Sexual Medicine Journal* (2020) 32:560–562. <https://doi.org/10.1038/s41443-020-00344-0>.
- M.J. Perry, S. Arrington et al. (2020). It is currently unknown whether SARS-CoV-2 is viable in semen or whether COVID-19 damages sperm. *Andrology*.  
<https://doi.org/10.1111/andr.12831>.
- E. Prochaska, et al. (2020) COVID-19 in pregnancy: Placental and neonatal involvement. *American J. of Reproductive Immunology*. <https://doi.org/10.1111/aji.13306>.
- Quan W, Chen J, et al. (2020) No SARS-CoV-2 in expressed prostatic secretion of patients with coronavirus disease 2019: a descriptive multicentre study in China. *medRxiv preprint* doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.26.20044198>
- A. Raza (2020) SARS-CoV-2 in Urine: Should endourologists be concerned and what personal protective equipment measures should be taken to protect the surgeon? *J. of Endourology*, 34. <https://doi.org/10.1089/end.2020.0476>
- F.M. Reis, D.R. Bouissou e.a. (2011). Angiotensin-(1-7), its receptor Mas, and the angiotensin-converting enzyme type 2 are expressed in the human ovary. *Fertility and Sterility* 95, (1), 2011, pp 176-181, <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2010.06.060>.
- A. Richterman, E.A. Meyerowitz EA e.a. (2020). Hospital-Acquired SARS-CoV-2 Infection Lessons for Public Health. *JAMA*. 324(21): 2155-2156.  
<https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2773128>
- L. Qiu, Z. Liu et al. (2020) SARS-CoV-2 Is Not Detectable in the Vaginal Fluid of Women With Severe COVID-19 Infection. *Clinical Infectious Diseases* april 2020.  
<https://doi.org/10.1093/cid/ciaa375>

- Rawlings et al. (2020) No Evidence of SARS-CoV-2 Seminal Shedding Despite SARS-CoV-2 Persistence in the Upper Respiratory Tract. *Open Forum Infectious Diseases*. DOI: 10.1093/ofid/ofaa325
- SART & CRB & SRBT (Society for Assisted Reproductive Technology (SART), the College of Reproductive Biology (CRB), and the Society for Reproductive Biologists and Technologists (SRBT)). Laboratory guidance for commencing or continuing ART operations during the ongoing COVID-19 pandemic.
- L. Setti, F. Passarini et al. (2020) Airborne Transmission Route of COVID-19: Why 2 Meters/6 Feet of Inter-Personal Distance Could Not Be Enough. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2020, 17, 2932; <https://doi.org/10.3390/ijerph17082932>
- J. Shang, Y. Wan et al. (2020) Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2. <https://www.pnas.org/content/pnas/early/2020/05/05/2003138117.full.pdf>
- J.D. Siegel, E. Rhinehart et al; The Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee 2007 Guideline for Isolation Precautions: Preventing Transmission of Infectious Agents in Healthcare Settings. Last update: July 2019. <https://www.cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/isolation/index.html>.
- B. Singh, M. Gornet et al. (2020) Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARSCoV-2) and its effect on gametogenesis and early pregnancy. *Am J Reprod Immunol.* 2020; 84: e13351. <https://doi.org/10.1111/aji.13351>
- M. Singh, V. Bansal et al. (2020) A Single-Cell RNA Expression Map of Human Coronavirus Entry Factors. *Cell Reports* 32, 108175 September 22, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108175>
- C. Song, Y. Wang et al. (2020) Absence of 2019 novel coronavirus in semen and testes of COVID-19 patients. *Biology of Reproduction*, <https://doi.org/10.1093/biolre/ioaa050>
- H. Tegaly, E. Wilkinson. e.a. (2021) Emergence and rapid spread of a new severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 (SARS-CoV-2) lineage with multiple spike mutations in South Africa. *MedRxiv* <https://doi.org/10.1101/2020.12.21.20248640>
- A. Schwartz, Yogev Y., Zilberman A. et al. (2021) Detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) in vaginal swabs of women with acute SARS-CoV-2 infection: a prospective study. *BJOG* 128:97–100. <https://doi.org/10.1111/1471-0528.16556>
- Y. Tian, L. Rong et al. (2020) Review article: gastrointestinal features in COVID-19 and the possibility of faecal transmission. *Aliment Pharmacol Ther.* 2020; 51:843–851. <https://doi.org/10.1111/apt.15731>
- W. Trypsteen, J. Van Cleemput, W. van Snippenberg et al. (2020) On the whereabouts of SARS-CoV-2 in the human body: A systematic review. *PLoS Pathog* 16(10): e1009037. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009037>.

- N. Van Doremalen, T. Bushmaker et al. Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARSCoV- 1. *N Engl J Med* (2020).  
<https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMc2004973>
- A. Van Soom et al. (2010) *Reproduction, Fertility and Development* 22 (1) 21-31  
<https://doi.org/10.1071/RD09230>
- E. Volz, S. Mishra. e.a. (2021) Transmission of SARS-CoV-2 Lineage B.1.1.7 in England: Insights from linking epidemiological and genetic data. *MedRxiv preprint*  
<https://doi.org/10.1101/2020.12.30.20249034>
- K.A. Walsh, K. Jordan (2020) Review; SARS-CoV-2 detection, viral load and infectivity over the course of an infection. *Journal of infection* 81 (3) 357 – 371.  
<https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.06.067>
- Wang K., Chen W, e.a. CD147-spike protein is a novel route for SARS-CoV-2 infection to host cells, *Signal Transduction and Targeted Therapie* (2020) 5, 283;  
<https://doi.org/10.1038/s41392-020-00426-x>
- W. Wang, Y. Xu et al. (2020) Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. *JAMA* May 12, 2020 Volume 323, Number 18.  
<https://doi.org/10.1001/jama.2020.3786>
- B. Weatherbee, D. Glover & M. Zernica-Goetz. Expression of SARS-CoV-2 receptor ACE2 and the protease TMPRSS22 suggests susceptibility of the human embryo in the first trimester. *Open Biol* (2020) 10: 200162; <http://dx.doi.org/10.1098/rsob.200162>
- WHO Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease (COVID-19). Interim guidance 13 May 2020. COVID-19: Laboratory and diagnosis. WHO reference number: WHO/WPE/GIH/2020.3.
- WHO Laboratory biosafety manual, Third edition (2004). WHO/CDS/CSR/LYO/2004.11.
- WHO Scientific brief dd 9 July 2020: Transmission of SARS-CoV-2: implications for infection prevention precautions.
- F. Xiao, M. Tang et al. (2020) Evidence for Gastrointestinal Infection of SARS-CoV-2. *Gastroenterology* 2020;158:1831–1833. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.02.055>
- J. Xu, L. Q1 e.a. (2006) Orchitis: a complication of severe acute respiratory syndrome (SARS). *Biol Reprod* 74: pp410–6. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.105.044776>.
- F. Yu, L. Yan et al. (2020) Quantitative Detection and Viral Load Analysis of SARS-CoV-2 in Infected Patients. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa345>
- S. Zhang et al. (2020) The absence of coronavirus in expressed prostatic secretion in COVID-19 patients in Wuhan city. *Reproductive Toxicology* 96 (2020) 90–94.  
<https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2020.06.006>.
- J. Zhou, C. Li et al. Infection of bat and human intestinal organoids by SARS-CoV-2. *Nat Med* (2020). <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0912-6>