

<https://doi.org/10.29296/25877305-2020-08-01>

Диагностика COVID-19. Способы и проблемы обнаружения вируса SARS-CoV-2 в условиях пандемии

Д.А. Кудлай^{1,2}, доктор медицинских наук, профессор,
Я.Е. Ширококов³,
Е.П. Гладунова³, доктор фармацевтических наук, профессор,
Е.А. Бородулина³, доктор медицинских наук, профессор
(Сеченовский Университет)
¹Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет)
²Государственный научный центр «Институт иммунологии»
ФМБА России, Москва
³Самарский государственный медицинский университет
E-mail: borodulinbe@yandex.ru

По мере того, как продолжается пандемия COVID-19 и тестирование на SARS-CoV-2 становится все более доступным, появляются новые вопросы и проблемы в отношении нового вируса. Когда проводить тестирование? Кого тестировать? Как часто? И что делать с полученными результатами? Какие виды тестов имеются сейчас в наличии, и при каких обстоятельствах они могут оказаться полезными? Понимание вопросов организации тестирования на местном, региональном, государственном и национальном уровнях позволит оптимизировать проведение тестирования. В статье проведен обзор имеющихся тестов и то, как они могут быть полезны в условиях быстро меняющейся и никогда ранее не существовавшей ситуации.

Ключевые слова: инфекционные заболевания, лабораторная диагностика, COVID-19, тестирование на SARS-CoV-2.

Для цитирования: Кудлай Д.А., Ширококов Я.Е., Гладунова Е.П. и др. Диагностика COVID-19. Способы и проблемы обнаружения вируса SARS-CoV-2 в условиях пандемии. *Врач.* 2020; 31 (8): 5–10. <https://doi.org/10.29296/25877305-2020-08-01>

30 января 2020 г. ВОЗ признала вспышку коронавирусной инфекции в Китае чрезвычайной ситуацией для общественного здравоохранения, имеющей международное значение. В классификации ВОЗ такими ситуациями считаются «экстраординарные события, которые будут представлять риск в области здравоохранения другим государствам» и потенциально требуют скоординированных действий международного сообщества. В заявлении ВОЗ говорится, что распространение вируса возможно остановить, если страны мира примут меры по раннему распознаванию коронавируса, изолируют больных и отследят их контакты [1, 2].

Изначально новый вирус назывался 2019-nCoV. Впоследствии группа экспертов Международного Комитета по таксономии вирусов (ICTV) назвала его вирусом SARS-CoV-2, так как он очень похож на вирус,

вызвавший вспышку атипичной пневмонии (SARS-CoV) [2].

Вирус SARS-CoV-2 возник у летучих мышей и был передан людям через еще неизвестных животных-посредников в Ухане, провинция Хубэй, Китай, в декабре 2019 г. Инфекция передается воздушно-капельным путем, инкубационный период колеблется от 2 до 14 дней. Симптомы обычно включают лихорадку, кашель, боль в горле, одышку, усталость, недомогание и др. У большинства людей заболевание протекает в легкой форме, но у некоторых (обычно пожилых и лиц с сопутствующими заболеваниями) оно может прогрессировать до пневмонии, острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) и полиорганной недостаточности. Диагноз ставится путем обнаружения вируса в дыхательных выделениях с помощью специальных молекулярных тестов [2].

МЕТОДЫ ВИРУСНОЙ ДИАГНОСТИКИ

Существует две основные категории тестов на наличие SARS-CoV-2: молекулярно-генетические тесты на основе амплификации нуклеиновых кислот, обнаруживающие вирусную РНК (тест полимеразной цепной реакции – ПЦР, петлевая изотермальная амплификация) и иммунологические тесты, определяющие реакцию «хозяина на инфекцию» [3–5].

ТЕСТЫ НА НАЛИЧИЕ РНК SARS-COV-2

Материал для исследования. Материалом для проведения тестов на выделение РНК вируса являются выделения из верхних дыхательных путей, хотя для пациентов с продуктивным кашлем рекомендуются выделения из нижних дыхательных путей [6]. Образцы из верхних дыхательных путей включают мазки из носоглотки, мазки из ротоглотки, носоглоточный аспират. Образцы из нижних дыхательных путей включают мазки, взятые из носоглотки и (или) ротоглотки, жидкость бронхоальвеолярного лаважа и трахеальный аспират. Однако жидкость бронхоальвеолярного лаважа и трахеальный аспират связаны с высоким риском образования аэрозолей [7].

Если производится сбор обоих образцов, то эти два мазка могут быть объединены и помещены в раствор для высвобождения вирусной РНК [6, 8].

У больных пневмонией, помимо мазка из носоглотки и ротоглотки, исследуются выделения нижних дыхательных путей, такие как мокрота и жидкость бронхоальвеолярного лаважа. Однако вероятность обнаружения SARS-CoV-2 в каждом из образцов не одинакова, частота обнаружения в каждом типе образцов варьируется от пациента к пациенту и может меняться по мере течения заболевания. Например, некоторые пациенты с пневмонией могут иметь отрицательные образцы, собранные со слизистой носоглотки или ротоглотки, но положительные образцы из нижних дыхательных путей [9]. Соответственно, чувствительность любого из ныне существующих тестов не определена. Отрицатель-

ный результат теста не исключает возможности того, что человек заражен. Однако если результат теста положительный, то он, скорее всего, верный, хотя есть вероятность получения ложноположительного результата [8].

Требования к забору материала. Правильный сбор образцов является важнейшим этапом лабораторной диагностики инфекционных заболеваний. Неправильно собранный образец может привести к ложноотрицательным результатам теста.

Мазок из носоглотки/ротоглотки (горла). При заборе мазка из носоглотки/ротоглотки необходимо использовать только тампоны из синтетического волокна с пластиковыми или гибкими валами. Тампоны из кальциевого альгината или тампоны с деревянными стержнями не используются, т.к. они могут содержать вещества, которые инактивируют некоторые вирусы и ингибируют реакцию на этапе выделения РНК или амплификации. Согласно обновленным временным рекомендациям по сбору, транспортировке, хранению и обработке образцов, Центр по контролю и профилактике заболеваний (CDC) рекомендует забирать только мазок из носоглотки [10]. Если собираются оба мазка, их следует объединить в одну пробирку, чтобы максимизировать чувствительность теста и ограничить использование ресурсов тестирования [6].

При заборе биоматериала необходимо использовать рекомендованные производителем диагностических тест-систем транспортные среды. Забор биоматериала в нерекондованную производителем транспортную среду также может ингибировать реакцию выделения РНК.

Мазок из носоглотки: тампон с гибким стержнем вставляется через ноздрю параллельно нёбу (не вверх) до тех пор, пока не возникнет сопротивление или расстояние не будет эквивалентно расстоянию от уха до ноздри пациента, указывая на контакт с носоглоткой. Тампон должен достигать глубины, равной расстоянию от ноздрей до наружного отверстия уха. Аккуратно потрите и сверните тампон. Тампон остается на месте несколько секунд, чтобы впитать выделения. Далее он медленно извлекается, при этом его необходимо вращать. Образцы могут быть собраны с обеих сторон с помощью одного и того же тампона, однако если конец тампона насыщен жидкостью после 1-го сбора, то собирать образцы с обеих сторон не нужно. Если искривление перегородки или скопление слизи создают трудности в получении образца из одной ноздри, то тем же тампоном можно забрать образец из другой ноздри [3, 6].

Мазок из ротоглотки: тампон вставляется в заднюю часть глотки и миндалин, затем им протирают по обеим миндалинам и задней ротоглотке, при этом необходимо избегать прикосновения к языку, зубам и деснам [3, 6].

Назальные смывы или аспирация. К всасывающему аппарату прикрепляется катетер. Пациенту необходимо занять сидячее положение, слегка откинув голову назад. В одну ноздрю закапывают 1,0–1,5 мл небактериостатического физиологического раствора (рН=7,0). Трубка

вставляется в ноздрю параллельно нёбу (не вверх). Катетер должен достигать глубины, равной расстоянию от ноздрей до наружного отверстия уха. Затем можно начинать мягкое всасывание/аспирацию, после извлечь катетер, мягко вращая его. Образец помещается в стерильную пробирку с вирусной транспортной средой [6].

Результативность выявления РНК в различном материале. Наиболее распространенными типами исследуемых проб являются мазки, взятые из носоглотки и (или) ротоглотки, причем 1-й считается немного более чувствительным, чем 2-й. В сравнительном исследовании Xiong Wang и соавт. в 73,1% случаев при проведении ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) мазки из носоглотки давали положительный результат, в то время как мазки из ротоглотки – отрицательный, что говорит о более высокой вероятности получить ложноотрицательный результат при анализе мазка из ротоглотки [11].

При сравнении мазков из горла и слюны положительный результат был зафиксирован в 44,2% и 76,9% случаях соответственно. Образцы мокроты показали значительно более высокий процент выявления, чем мазки из горла ($p=0,001$) [12].

Результаты анализа также зависят от количества дней после начала заболевания. В первые 14 дней после начала заболевания SARS-CoV-2 чаще обнаруживается в мокроте с последующим взятием мазков из носа, тогда как при анализе мазков из зева результаты чаще сомнительные даже через 8 дней после появления первых симптомов [7, 13, 14].

МЕТОДЫ АМПЛИФИКАЦИИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Большинство тестов, используемых в настоящее время для детекции SARS-CoV-2, идентифицируют вирусную РНК с помощью методов амплификации нуклеиновых кислот, обычно с использованием ПЦР [7, 8] или петлевой изотермальной амплификации [15, 16].

Тестирование на вирусную РНК на данный момент является лучшим вариантом и золотым стандартом для обнаружения SARS-CoV-2 [3, 7, 8, 17]. Важно признать, что точность результата зависит от качества забора мазка, и поэтому крайне важно, чтобы мазок был получен надлежащим (и безопасным) образом [7, 8]. Тестирование пациентов играет важную роль в осуществлении стратегий смягчения последствий заболевания, а также в целях предотвращения распространения инфекции в медицинских учреждениях и в обществе [8].

На данный момент есть множество нерешенных вопросов, проблем и противоречий, связанных с тестированием на вирусную РНК. Во-первых, РНК с течением времени разрушается, что негативно сказывается на результатах теста [17]. Во-вторых, существуют опасения, что сбор образцов для тестирования значительно снижает запасы средств индивидуальной защиты, необходимых для ухода за инфицированными пациентами, поэтому должны рассматриваться альтернативные

стратегии сбора образцов, включая наборы для тестирования в домашних условиях. Необходимо также рассмотреть возможность использования альтернативных типов образцов для тестирования, таких как жидкость ротовой полости (слюна), но только если точность результатов эквивалентна точности результатов при анализе мазка из носоглотки [8].

Как альтернатива ОТ-ПЦР в 2000 г. в Японии был разработан метод петлевой изотермической амплификации (**Loop mediated isothermal amplification – LAMP**) [18]. Метод LAMP позволяет проводить молекулярную диагностику существенно быстрее, по сравнению с ПЦР. При диагностике РНК-вирусов метод LAMP позволяет использовать для выделения РНК лизирующий буфер, входящий в состав набора, и проводить обратную транскрипцию и амплификацию в одной пробирке, без переноса жидкости, что снижает вероятность контаминации, а также уменьшает время проведения тестирования более чем в 3–4 раза. Метод тестирования на основе LAMP значительно проще, чем метод ОТ-ПЦР и позволяет экономить время и ресурсы лаборатории, а также быстро и эффективно протестировать большие группы населения без дополнительных затрат.

В настоящее время мало известно об обнаружении вирусной РНК у бессимптомных пациентов [8]. Данный вопрос является одним из наиболее актуальных, т.к. раннее выявление позволит увеличить эффективность лечения и ускорить выздоровление пациента, а также избежать госпитализации [8, 19].

Существуют различные методики проведения ОТ-ПЦР в стационарных условиях [7]. V.M. Corman и соавт. предложили трехэтапный подход для диагностики SARS-CoV-2 [20]. На 1-м этапе, чтобы максимально увеличить число идентифицированных инфицированных пациентов, обнаруживаются все вирусы, связанные с SARS, путем нацеливания на разные области гена *E*. Если этот тест положительный, то на 2-м этапе предлагается обнаружение гена *RdRP* с использованием 2-х разных праймеров и 2-х разных зондов. Если эти результаты также являются положительными, то на 3-м этапе проводят дискриминационный тест с одной из двух последовательностей зондов [20]. D.K.W. Chu и соавт. предложили несколько иной подход [21]. Они провели скрининг образцов, используя праймеры для гена *N*, и использовали их для подтверждения из гена *ORF1b*. Результат, при котором образец пациента является положительным с праймером гена *N* и отрицательным с геном *ORF1b*, характеризуется как сомнительный. В таких ситуациях для подтверждения диагноза потребуются тесты на антитела или секвенирование [21].

ТЕСТЫ НА НАЛИЧИЕ АНТИТЕЛ К SARS-COV-2

Другая широкая категория тестов направлена на обнаружение иммуноглобулинов (Ig) -M, -A, -G [7, 8, 17]. Обычные серологические анализы, такие как иммуноферментный анализ (ИФА) для специфических антител

IgM и IgG, имеют высокую пропускную способность и позволяют избежать ложноотрицательных результатов, возникающих при использовании метода ОТ-ПЦР [17, 20, 22].

В метаанализе, в котором была проведена оценка 16 тестов, используемых в Бразилии, был сделан вывод об их удовлетворительной точности. Тем не менее, важно подчеркнуть, что процент ложноотрицательных результатов варьировался от 10 до 44% [23].

Ранние исследования показывают, что в случае инфицирования SARS-CoV-2 у большинства пациентов видоизменение серологической специфичности происходит на 7–11 день после контакта с вирусом, хотя у некоторых пациентов выработка антител может происходить быстрее [24].

Учитывая недавние исследования, можно предположить наличие другие белковых или клеточных маркеров, которые могут быть использованы для обнаружения вируса. W. Guan и соавт. выяснили, что инфицированные пациенты имели повышенные уровни С-реактивного белка и D-димера, а также низкие уровни лимфоцитов, лейкоцитов и тромбоцитов крови [25]. Проблема использования данных биомаркеров заключается в том, что они также являются аномальными при других заболеваниях [7].

В настоящее время идет активная разработка и совершенствование серологических тестов [26, 27].

В России широкое применения нашли тест-системы Антигма-А, Антигма-G, Антигма-Скрин (АО «ГЕНЕРИУМ», Россия), имеющие антигены к S1 белку и к нуклеокапсиду SARS-CoV-2, что делает их высокочувствительными и информативными в выявлении Ig классов А, М и G. В основе всех трех тест-систем используется метод ИФА. Высокая чувствительность и специфичность тест-систем доказана в клинико-лабораторных исследованиях. Время постановки тестов занимает всего 1 ч, они могут выполняться как в ручном режиме, так и на автоматическом анализаторе, т.е. они подходят для лабораторных учреждений любого уровня оснащенности.

По результатам последних исследований наиболее оптимальными для определения иммунного ответа у пациентов с подозрением на COVID-19 является определение уровня Ig A и G. В исследовании, проведенном в Китае [28], установлено, что за все время исследования сероконверсия IgA, -M и -G была определена более чем у 90% пациентов. Обращает на себя внимание опережающая динамика IgA у данных пациентов. Сероконверсия IgA наблюдалась уже через 2 дня после появления начальных симптомов, а для IgM и IgG – через 5 дней. По данным ученых, положительный уровень антител в 183 образцах составил 98,9%, 93,4% и 95,1% для IgA, -M и -G соответственно. Уровни как IgA, так и IgG заметно увеличивались примерно через 2 недели после появления симптомов и оставались непрерывно повышенными в течение следующих 2 нед. Напротив, уровень изменения IgM в зависимости от времени был минимальными.

Полученные учеными данные свидетельствуют, что тесты на антитела к SARS-CoV-2 могут использоваться для скрининга пациентов, обращающихся за медицинской помощью через 7 дней и более после появления симптомов ОРВИ или контактировавших с заболевшим COVID-19. Обнаружение в крови пациентов антител «быстрого» реагирования при COVID-19 (IgA) поможет своевременно выявить пациентов на начальных этапах развития заболевания. Кроме того, тесты на антитела могут использоваться при оценке формирования устойчивого иммунного ответа к коронавирусу SARS-CoV-2 (IgG) и выявления пациентов на разных стадиях инфекционного процесса даже при бессимптомном течении заболевания, а также позволят оценить степень распространения COVID-19.

Предположив, что после перенесенной инфекции формируется иммунитет, «серологическая информация» может дополнительно использоваться для принятия решений о возвращении на работу, в том числе для лиц, работающих в местах с высоким риском инфицирования SARS-CoV-2 (например, работники здравоохранения). Серологическое исследование также может быть полезно для выявления лиц, являющихся возможным источником терапевтических (в настоящее время экспериментальных) или профилактических нейтрализующих антител. Кроме того, тестирование на антитела может использоваться в научных исследованиях для определения чувствительности методов амплификации нуклеиновых кислот, ретроспективно для определения истинного масштаба пандемии и оказания помощи в расчете статистических данных, включая коэффициент летальности [8].

ЧТО НАДО ПОМНИТЬ ВО ВРЕМЯ ПАНДЕМИИ. COVID-19 И ТУБЕРКУЛЕЗ: ОБОЮДНЫЕ РИСКИ

Важно отметить, что имеется все больше данных, указывающих на необходимость тестирования пациентов с COVID-19 на латентную туберкулезную инфекцию. В исследовании, опубликованном в марте 2020 г., отмечена важность ранней диагностики туберкулеза у пациентов с COVID-19 [29]. Показатели инфицированности микобактериями туберкулеза оказались достаточно высокими у пациентов с COVID-19 (36,11%, что выше, чем в среднем в популяции), вследствие чего авторы предположили, что наличие туберкулезной инфекции является важным фактором риска восприимчивости к вирусу SARS-CoV-2. В данном исследовании также было отмечено, что туберкулезная инфекция является специфическим фактором риска именно для инфекции SARS-CoV-2 и не является таковым для развития бактериальной или вирусной пневмонии в целом. Положительные тесты IGRA у пациентов с тяжелым течением COVID-19 отмечались в 78% случаев, а у пациентов с легким течением — только в 22%. Эти данные позволяют сделать вывод, что заражение SARS-CoV-2 на фоне туберкулезной инфекции (в том числе латентной) ведет к развитию более серьезных, а иногда даже критических осложнений COVID-19,

и обеспечивает развитие клинической симптоматики на 3,3 дня раньше, чем у пациентов без туберкулезной инфекции. У пациентов с пневмонией, вызванной COVID-19, в анализах крови отмечается лейкопения и лимфопения, что можно рассматривать как фактор риска перехода латентной туберкулезной инфекции в активную и отнести группу пациентов с COVID-19 к группам риска, которым требуется тестирование на латентную туберкулезную инфекцию [30, 31].

В этой связи, вместе с мерами реагирования на эпидемию COVID-19 необходимо приложить все возможные усилия для своевременного выявления пациентов с туберкулезом, в том числе с латентной туберкулезной инфекцией. Предпочтение следует отдавать методу ELISPOT (T-SPOT.TB) с учетом высокой диагностической эффективности данного метода у пациентов всех возрастов независимо от иммунного статуса [32].

ТЕСТИРОВАНИЕ НА НАЛИЧИЕ SARS-COV-2 В СТАЦИОНАРНЫХ УСЛОВИЯХ

Тестирование пациента в стационарных условиях необходимо для диагностики пациентов без отправки образцов в централизованные учреждения, что позволяет выявлять инфицированных пациентов в местах, где нет необходимого оборудования. Обнаружение антигена SARS-CoV-2 на тест-полосках является одним из подходов для диагностики COVID-19, который находится в стадии разработки [27].

Еще одним подходом для тестирования в стационарных условиях являются микрофлюидные устройства. Данные устройства состоят из чипа размером с ладонь, с встроенными микрометровыми каналами и реакционными камерами. Чип смешивает и разделяет жидкие образцы с помощью электрокинетических, капиллярных, вакуумных и (или) других сил. К преимуществам данного устройства относятся малый размер, малый объем образца, быстрое время обнаружения и мобильность [33]. Данная технология может быть адаптирована для обнаружения РНК или белков SARS-CoV-2.

ОБСУЖДЕНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Продолжающаяся беспрецедентная вспышка COVID-19 во всем мире подчеркнула важность лабораторной диагностики коронавирусной инфекции человека для ограничения ее распространения. В настоящее время появились отечественные технологии, которые позволяют сделать диагностику не только доступной, но и высокоэффективной. Необходимо обеспечить систематические и скоординированные усилия между государственным, клиническим, коммерческим и промышленным секторами для обеспечения надежных линий поставок в разгар пандемии, чтобы использовать возможности тестирования для борьбы с пандемией.

* * *

Авторы заявляют об отсутствии финансовых и иных конфликтных интересов.

COVID-19:

СОВРЕМЕННЫЕ РЕШЕНИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ



«Изотерм SARS-CoV-2 РНК-скрин»*

- выявление РНК коронавируса SARS-CoV-2 в назальных и/или назофарингеальных мазках
- точность диагностики более 96%
- определение РНК и проведение анализа образцов в течение 40 минут

РУ № РЗН 2020/9957 от 02.04.2020

Наборы реагентов «Антигма»**

- определение иммуноглобулинов трех классов (IgA, IgM, IgG) к коронавирусу SARS-CoV-2
- в основе – метод иммуноферментного анализа (ИФА) с применением двух антигенов коронавируса – S1-белку и нуклеокапсиду (COVNC-S)



Комплекс для суммарного выявления трех классов антител IgA, IgM и IgG

- Скрининг и оценка степени распространения COVID-19

РУ № РЗН 2020/10718 от 04.06.2020



Определение антител класса А (IgA)

- Выявление антител «быстрого» реагирования при COVID-19

РУ № РЗН 2020/10722 от 04.06.2020



Количественное выявление антител класса G (IgG)

- Оценка формирования иммунного ответа к коронавирусу SARS-CoV-2

РУ № РЗН 2020/10592 от 29.05.2020

ИНФОРМАЦИЯ ПРЕДНАЗНАЧЕНА ДЛЯ СПЕЦИАЛИСТОВ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
ПЕРЕД ПРИМЕНЕНИЕМ НЕОБХОДИМО ОЗНАКОМИТЬСЯ С ИНСТРУКЦИЕЙ ПО ПРИМЕНЕНИЮ



АО «ГЕНЕРИУМ», 123112, г. Москва, ул. Тестовская, д. 10; тел./факс: +7 (495) 988-47-94

* Инструкция по применению на медицинское изделие для диагностики in vitro «Набор реагентов для выявления РНК SARS-CoV-2 методом петлевой изотермальной амплификации «Изотерм SARS-CoV-2 РНК-скрин».
** Инструкция по применению медицинского изделия для диагностики in vitro «Антигма-Скрин», набор реагентов для иммуноферментного выявления суммарных антител к вирусу SARS-CoV-2, ТУ 21.20.23-072-26329720-2020; Инструкция по применению медицинского изделия для диагностики in vitro «Антигма-А», набор реагентов для иммуноферментного выявления антител класса А (IgA) к вирусу SARS-CoV-2, ТУ 21.20.23-071-26329720-2020; Инструкция по применению медицинского изделия для диагностики in vitro «Антигма-Г», набор реагентов для иммуноферментного выявления антител класса G (IgG) к вирусу SARS-CoV-2, ТУ 21.20.23-070-26329720-2020.

Литература/Reference

- Самородская И.В., Ларина В.Н., Назимкин К.Е. и др. Организационные и клинические проблемы диагностики COVID-19 на амбулаторном этапе. *Врач*. 2020; 31 (5): 23–30 [Samorodskaya I., Larina V., Nazimkin K. et al. Organizational and clinical problems of outpatient COVID-19 diagnostics. *Vrach*. 2020; 31 (5): 23–30 (in Russ.)]. <https://doi.org/10.29296/25877305-2020-05-05>
- Cascella M., Rajnik M., Cuomo A. et al. Features, Evaluation and Treatment Coronavirus (COVID-19). StatPearls: StatPearls Publishing, 2020. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554776/>
- Sullivan P.S., Sailey C., Guest J.L. et al. Detection of SARS-CoV-2 RNA and Antibodies in Diverse Samples: Protocol to Validate the Sufficiency of Provider-Observed, Home-Collected Blood, Saliva, and Oropharyngeal Samples. *JMIR Public Health Surveill*. 2020; 6 (2): e19054. DOI: 10.2196/19054
- Sanduzzi A., Zamparelli S.S. Nasopharyngeal and oropharyngeal swabs, and/or serology for SARS COVID-19: What are we looking for? *Int J Environ Res Public Health*. 2020; 17 (9): 3289. DOI: 10.3390/ijerph17093289
- Testing for COVID-19 | CDC [Electronic resource]. URL: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/symptoms-testing/testing.html> (accessed: 19.07.2020).
- Interim Guidelines for Clinical Specimens for COVID-19 | CDC [Electronic resource]. URL: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/lab/guidelines-clinical-specimens.html> (accessed: 16.06.2020).
- Udugama B. et al. Diagnosing COVID-19: The Disease and Tools for Detection. *ACS Nano*. 2020; 14 (4): 3822–35. DOI: 10.1021/acsnano.0c02624
- Patel R. et al. Report from the American Society for Microbiology COVID-19 International Summit, 23 March 2020: Value of diagnostic testing for SARS-CoV-2/COVID-19. *mBio*. 2020; 11 (2): e00722–20. DOI: 10.1128/mBio.00722-20
- Winichakoon P. et al. Negative nasopharyngeal and oropharyngeal swabs do not rule out COVID-19. *J Clin Microbiol*. 2020; 58 (5): e00297–20. DOI: 10.1128/JCM.00297-20
- CDC. Updated Interim Guidelines for Collecting, Handling, and Testing Clinical Specimens from Persons Under Investigation (PUIs) for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). URL: https://www.cdc.gov/csels/dls/loc/2020/updated_interim_pui_guidelines_for_covid-19.html
- Wang X. et al. Comparison of nasopharyngeal and oropharyngeal swabs for SARS-CoV-2 detection in 353 patients received tests with both specimens simultaneously. *Int J Infect Dis*. 2020; 94: 107–9. DOI: 10.1016/j.ijid.2020.04.023
- Lin C. et al. Comparison of throat swabs and sputum specimens for viral nucleic acid detection in 52 cases of novel coronavirus (SARS-CoV-2)-infected pneumonia (COVID-19). *Clin Chem Lab Med*. 2020; 58 (7): 1089–94. DOI: 10.1515/cclm-2020-0187
- Pan Y. et al. Viral load of SARS-CoV-2 in clinical samples. *Lancet. Infect Dis*. 2020; 20 (4): 411–2. DOI: 10.1016/S1473-3099(20)30113-4
- Yang Y. et al. Evaluating the accuracy of different respiratory specimens in the laboratory diagnosis and monitoring the viral shedding of 2019-nCoV infections. *medRxiv*. 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.02.11.20021493>
- Kashir J., Yaqinuddin A. Loop mediated isothermal amplification (LAMP) assays as a rapid diagnostic for COVID-19. *Med Hypotheses*. 2020; 141: 109786. DOI: 10.1016/j.mehy.2020.109786
- Старшинова А.А., Кушнарева Е.А., Малкова А.М. и др. Новая коронавирусная инфекция: особенности клинического течения, возможности диагностики, лечения и профилактики инфекции у взрослых и детей. *Вопросы современной педиатрии*. 2020; 19 (2): 123–31 [Starshinova A.A., Kushnareva E.A., Malkova A.M. et al. New Coronavirus Infection: Features of Clinical Course, Capabilities of Diagnostics, Treatment and Prevention in Adults and Children. *Current Pediatrics*. 2020; 19 (2): 123–31 (in Russ.)]. <https://doi.org/10.15690/vsp.v19i2.2105>
- Zhong L. et al. Detection of serum IgM and IgG for COVID-19 diagnosis. *Sci China Life Sci*. 2020; 1–4. DOI: 10.1007/s11427-020-1688-9
- Notomi T., Okayama H., Masubuchi H. et al. Loop-Mediated Isothermal Amplification Of DNA. *Nucleic Acids Res*. 2000; 28 (12): E63. DOI: 10.1093/nar/28.12.e63
- Treibel T.A. et al. COVID-19: PCR screening of asymptomatic health-care workers at London hospital. *Lancet*. 2020; 395 (10237): 1608–10. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)31100-4
- Corman V.M. et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill*. 2020; 25 (3): 2000045. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045
- Chu D.K.W. et al. Molecular Diagnosis of a Novel Coronavirus (2019-nCoV) Causing an Outbreak of Pneumonia. *Clin Chem*. 2020; 66 (4): 549–55. DOI: 10.1093/clinchem/hvaa029

- Lu R. et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*. 2020; 395 (10224): 565–74. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30251-8
- Castro R. et al. COVID-19: a meta-analysis of diagnostic test accuracy of commercial assays registered in Brazil. *Brazilian J Infect Dis*. 2020; 24 (2): 180. DOI: 10.1016/j.bjid.2020.04.003
- Bao L. et al. Lack of Reinfection in Rhesus Macaques Infected with SARS-CoV-2 Beijing Key Laboratory for Animal Models of Emerging and Reemerging Infectious. *bioRxiv*. 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.03.13.990226>
- Guan W. et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med*. 2020; 382 (18): 1708–20. DOI: 10.1056/NEJMoa2002032
- Zhang W. et al. Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes. *Emerg Microbes Infect*. 2020; 9 (1): 386–9. DOI: 10.1080/22221751.2020.1729071
- Xiang J. et al. Evaluation of Enzyme-Linked Immunoassay and Colloidal Gold-Immuno-chromatographic Assay Kit for Detection of Novel Coronavirus (SARS-CoV-2) Causing an Outbreak of Pneumonia (COVID-19). *medRxiv*. 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.02.27.20028787>
- Yu H-qiong, Sun B-qing, Fang Z-fu et al. Distinct features of SARS-CoV-2-specific IgA response in COVID-19 patients. *Eur Respir J*. 2020; In press. <https://doi.org/10.1183/13993003.01526-2020>
- Marimuthu Y., Nagappa B., Sharma N. et al. COVID-19 and tuberculosis: A mathematical model based forecasting in Delhi, India. *Indian J Tuberc*. 2020; 67 (2): 177–81. DOI: 10.1016/j.ijtb.2020.05.006
- Mohsen Rokni, Vida Ghasemi, Zahra Tavakoli. Immune responses and pathogenesis of SARS-CoV-2 during an outbreak in Iran: Comparison with SARS and MERS. *Rev Med Virol*. 2020; 30 (3): e2107. DOI: 10.1002/rmv.2107
- Временные методические рекомендации по оказанию противотуберкулезной помощи в условиях пандемии новой коронавирусной инфекции (COVID-19) от 28.04.2020 утвержденные президиумом Российского общества фтизиатров и президиумом Ассоциации фтизиатров. Режим доступа: [Электронный ресурс]. [Vremennye metodicheskie rekomendatsii po okazaniyu protivotuberkuleznoi pomoshchi v usloviyakh pandemii novoi koronavirusnoi infektsii (COVID-19) ot 28.04.2020 utverzhdennye prezidiumom Rossiiskogo obshchestva ftiziatrov i prezidiumom Assotsiatsii ftiziatrov. Rezhim dostupa: [Elektronnyi resurs]. (in Russ.)]. URL: http://phtiziatr.iopd.ru/images/Clinic_Recomend/Pril_597_290420.pdf
- Слогодская Л.В., Синицын М.В., Кудлай Д.А. Возможности иммунологических тестов в диагностике латентной туберкулезной инфекции и туберкулеза. *Туберкулез и болезни легких*. 2019; 97 (11): 46–58 [Slogotskaya L.V., Sinityn M.V., Kudlay D.A. Potentialities of immunological tests in the diagnosis of latent tuberculosis infection and tuberculosis. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2019; 97 (11): 46–58 (in Russ.)] DOI: 10.21292/2075-1230-2019-97-11-46-58
- Foudeh A.M. et al. Microfluidic designs and techniques using lab-on-a-chip devices for pathogen detection for point-of-care diagnostics. *Lab on a Chip. Royal Society of Chemistry*. 2012; 12 (18): 3249–66. DOI: 10.1039/c2lc40630f

DIAGNOSIS OF COVID-19. METHODS AND PROBLEMS OF VIRUS SARS-COV-2 DETECTION UNDER PANDEMIC CONDITIONS

Professor D. Kudlay^{1,2}, MD; Ya. Shirobokov³; Professor E. Gladunova³, PharmD; Professor E. Borodulina³, MD

¹Sechenov First Moscow State Medical University

²NRC Institute of Immunology FMBA of Russia

³Samara State Medical University

As the COVID-19 pandemic continues and testing for SARS-CoV-2 becomes more readily available, there are new questions and concerns regarding this new virus. When to test? Who should be tested? How often? And what to do with the results obtained? What types of tests are currently available and under what circumstances they might be useful? Understanding the organization of testing at the local, regional, state, and national levels will optimize testing. The paper provides an overview of the available tests and how they can be useful in a rapidly changing and never-before-seen situation.

Key words: infectious diseases, laboratory diagnosis, COVID-19, testing for SARS-CoV-2.

For citation: Kudlay D., Shirobokov Ya., Gladunova E. et al. Diagnosis of COVID-19. Methods and problems of virus SARS-CoV-2 detection under pandemic conditions. *Vrach*. 2020; 31 (8): 5–10. <https://doi.org/10.29296/25877305-2020-08-01>

Об авторах/About the authors: Kudlay D.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1878-4467>; Shirobokov Ya.E.; Gladunova E.P. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8137-7197>; Borodulina E.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3063-1538>