

І. В. Дзюблик, О. Л. Боророва, Г. Б. Капітан, О. К. Яковенко АЛГОРИТМИ ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ COVID-19

Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика
ДУ «Національний інститут фізіотерії і пульмонології імені Ф. Г. Яновського НАМН України»
КП «Волинська обласна клінічна лікарня»

АЛГОРИТМИ ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ COVID-19

І. В. Дзюблик, О. Л. Боророва, Г. Б. Капітан, О. К. Яковенко

Резюме

Новий коронавірус SARS-CoV-2 спричиняє розвиток респіраторних захворювань у людей, зокрема гострої респіраторної хвороби COVID-19 (Coronavirus disease 2019), та може передаватися від людини до людини. Специфічна противірусна терапія остаточно не розроблена. Широко впроваджуються в світі різні вакцини. Неспецифічна профілактика, що спрямована на попередження поширення вірусу SARS-CoV-2, проводиться по відношенню до джерела збудника інфекції (хворого або вірусоносія), механізмів передачі вірусу та захисту осіб, що знаходяться, або знаходились в контакт з хворою людиною або вірусоносієм.

У період пандемії тестування на SARS-CoV-2 є надзвичайно важливою частиною першої лінії захисту населення будь-якої країни світу від COVID-19. Саме своєчасне тестування дозволяє виявляти та ізолювати інфіковану людину, уповільнити передачу коронавірусу та надати цілеспрямовану допомогу хворим. Діагностичне тестування на SARS-CoV-2 вважається надзвичайно важливим компонентом загальної стратегії профілактики та контролю за COVID-19. ВООЗ наполегливо рекомендує негайно або як можна раніше здійснювати тестування осіб, щодо яких є підозра визначення випадку COVID-19, щоб підтвердити або виключити зараження SARS-CoV-2. Стрімке поширення COVID-19 ставить перед фахівцями системи охорони здоров'я цілий перелік надзвичайно важливих завдань, вирішення яких тісно пов'язано з широким впровадженням ефективної етіологічної діагностики, в тому числі із застосуванням швидких тестів. Для безпечного та якісного використання швидких тестів важливим є базове розуміння того, як вони працюють, які у них переваги та недоліки, якими мають бути алгоритми їх застосування та місце в етіологічній діагностиці COVID-19, як правильно провести облік результатів та зробити висновки.

У статті викладені вимоги до застосування швидких тестів на основі імунохроматографічного аналізу та порядок дослідження на COVID-19, що базуються на матеріалах ВООЗ, аналізі вітчизняних і закордонних наукових публікацій, нормативних документів та наказів МОЗ України.

Ключові слова: COVID-19, SARS-CoV-2, діагностика, швидкі тести, метод ампліфікації нуклеїнових кислот.

Укр. пульмонолог. журнал. 2022;30(2-3):63-71.

Дзюблик Ірина Володимирівна

Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика
Завідувачка кафедри вірусології

Доктор медичних, професор

9, вул. Дорогожицька, м. Київ, 04112, Україна

Тел.: 38044 2054919, idzyublyk@ukr.net

LABORATORY DIAGNOSTIC ALGORITHMS FOR COVID-19

I. V. Dziublyk, O. L. Bororova, G. B. Kapitan, O. K. Yakovenko

Abstract

The novel coronavirus SARS-CoV-2 causes respiratory diseases in humans, in particular acute respiratory disease COVID-19 (Coronavirus disease 2019), and can be transmitted from person to person. Specific antiviral therapy has not been developed completely. Various vaccines are widely introduced in the world. Non-specific prophylaxis, aimed at preventing the spread of the SARS-CoV-2 virus, is carried out in relation to the source of the infectious agent (patient or virus carrier), the mechanisms of transmission of the virus and the protection of contact person.

During a pandemic, testing for SARS-CoV-2 is a very important part of the first line defense of the population from COVID-19 in any country of the world. It is timely testing that makes it possible to identify and isolate an infected person, slow down the transmission of coronavirus and provide targeted care to the patients. Diagnostic testing for SARS-CoV-2 is considered a very important component of the overall COVID-19 prevention and control strategy. WHO strongly recommends to test individuals suspected of having a COVID-19 immediately or as early as possible to confirm or rule out SARS-CoV-2 infection. The rapid spread of COVID-19 poses a whole list of critical tasks in front of healthcare professionals, the solution of which is closely related to the introduction of effective etiological diagnostics, including the use of rapid tests. For the safe and high-quality use of rapid tests, it is important to have a basic understanding of how they work, what are their advantages and disadvantages, what are the algorithms for their use, where is their place in the etiological diagnosis of COVID-19, and how to record correctly the results and to draw conclusions.

The article sets out the requirements for the use of rapid tests based on immunochromatographic analysis and the procedure for testing for COVID-19 based on WHO materials, analysis of domestic and foreign scientific publications, regulatory documents and orders of the Ministry of Health of Ukraine.

Key words: COVID-19, SARS-CoV-2, diagnostics, rapid tests, nucleic acid amplification method.

Ukr. Pulmonol. J. 2022;30(2-3):63-71.

Iryna V. Dziublyk

P. L. Shupyk National Healthcare University of Ukraine

Chief of virology department

Doctor of medicine, professor

9 Dorohozhytska Str.,

Kyiv, 04112 Ukraine

Tel.: 38044 2054919, idzyublyk@ukr.net

У грудні 2019 року в м. Ухань, провінція Хубей, Китай, вперше був зареєстрований спалах висококонтагіозного захворювання вірусної етіології, яке отримало назву коронавірусна хвороба 2019 (COVID-19). Збудником захворювання виявився новий коронавірус людини, який отримав назву Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). Вже 11 березня 2020 року ВООЗ оголосила про пандемічне поширення COVID-19 у світі. Було встановлено, що інфікування SARS-CoV-2 відбувається переважно повітряно-крапельним та контак-

тним шляхами. Можливе безсимптомне носійство SARS-CoV-2. Від безсимптомного носія інфікування іншої людини вірусом відбувається через особистий контакт [1, 2].

Специфічна противірусна терапія остаточно не розроблена. В Україні лікування COVID-19 здійснюється згідно з протоколом «Надання медичної допомоги для лікування коронавірусної хвороби (COVID-19)», затвердженого Наказом МОЗ України від 2 квітня 2020 р. №762 (в редакції від 22 лютого 2022 р. № 358). В цей протокол на підставі даних, отриманих в провідних країнах світу, було включено два противірусні препарати (ремдесівір та фавіпіравір) та моноклональні антитіла (тоцилізумаб, бамланівімаб, етесевімаб, казиривімаб, імдевімаб, пер-

данвімаб) або інгібітор янус-кінази тофацитиніб у якості патогенетичної терапії. Нещодавно компанія Pfizer оголосила про високу доведену ефективність нового проти-вірусного препарату під торговою маркою PAXLOVID та запропонувала його використання за схемою «PAXLOVID + ритонавір» [3, 4]. Фармацевтична компанія «Merck» розробила антивірусний препарат монлупіравір, який знижує ризик госпіталізації або смерті приблизно на 50% у амбулаторних дорослих пацієнтів в групі ризику, які мали легку та помірну форму COVID-19 [5].

Неспецифічна профілактика, що спрямована на попередження поширення вірусу SARS-CoV-2, проводиться по відношенню до джерела збудника інфекції (хворого або вірусоносія), механізмів передачі вірусу та захисту осіб, що знаходяться, або знаходились в контакті з хворою людиною або вірусоносієм.

Розроблені і широко впроваджуються в світі різні вакцини, серед яких найбільш часто застосовуються інактивовані, векторні та генетичні РНК-ові та ДНК-ові вакцини різних фірм-виробників [6].

Якісна та своєчасна вірусологічна діагностика (синоніми: етіологічна діагностика, діагностичне тестування) є надзвичайно важливим інструментом впливу не тільки на розвиток захворювання, а і на поширення збудника інфекції, якість лікування тощо. На думку експертів ВООЗ вірусологічні дослідження на SARS-CoV-2 є надзвичайно важливою частиною першої лінії захисту населення будь-якої країни світу від COVID-19. Саме своєчасне діагностичне тестування дозволяє виявляти та ізолювати інфіковану людину, вплинути або уповільнити передачу коронавірусу та надати цілеспрямовану допомогу хворим. Крім того, діагностичне тестування на SARS-CoV-2 вважається надзвичайно важливим компонентом загальної стратегії профілактики та контролю за COVID-19 в будь-якій країні світу [7].

Переважно для етіологічної діагностики COVID-19 застосовуються методи ампліфікації нуклеїнових кислот (МАНК). Найчастіше мова йде про метод полімеразної ланцюгової реакції із зворотною транскрипцією (ЗТ-ПЛР). Виявлення РНК SARS-CoV-2 методом ЗТ-ПЛР проводиться у пацієнтів з клінічними проявами респіраторного захворювання та при підозрі на інфекцію у контактних осіб. Матеріалом для дослідження служать: мазки та змиви зі слизової порожнини носу, мазки та змиви з ротоглотки, мокротиння, бронхоальвеолярний лаваж (рідина після промивання бронхів), кров тощо. Всі зразки біологічних матеріалів, що отримані для вірусологічного дослідження на SARS-CoV-2, вважаються потенційно небезпечним і при роботі з ними мають бути дотримані всі вимоги, що пред'являються до організації роботи з біологічними агентами I–II групи патогенності [8].

Для серологічного дослідження часто використовують тест-системи на основі імуноферментного аналізу (ІФА). Ці ІФА-тест-системи виявляють присутність специфічних антитіл, вироблених імунною системою проти коронавірусу SARS-CoV-2. Вони виявляють антитіла класів як IgM, так IgG. Матеріалом для дослідження слугує кров, узята з вени або з пальця. Оскільки антитіла продовжують циркулювати навіть після того, як людина одужала, серологічні тести тривалий час можуть бути

позитивними. CDC рекомендує використовувати тестування на наявність антитіл переважно для епідагляду і в дослідницьких цілях, в той час як методологія молекулярно-генетичних методів має використовуватись для етіологічної діагностики гострої коронавірусної інфекції COVID-19 постійно [9].

На часі провідні фахівці ВООЗ вважають, що для боротьби з COVID-19 вкрай потрібно розширити послуги та покращити доступ до тестування в децентралізованих умовах. Обмежене охоплення лабораторними послугами та тривалі терміни отримання результатів дослідження призвели до того, що потужності лабораторій, що застосовують для діагностики коронавірусної хвороби МАНК, часто є недостатніми для задоволення попиту в багатьох країнах світу, особливо в тих, де населення має низький та середній рівень доходу. Висока вартість молекулярного ПЛР-тестування також впливає на своєчасність та якість етіологічної діагностики, яка дуже часто обмежена бюджетом в ряді країн. Таким чином, доступ та ціна залишаються суттєвими бар'єрами для молекулярного тестування на місці надання медичної допомоги. При цьому своєчасні, детальні дані про тестування та спостереження на COVID-19 мають життєво важливе значення для реагування громадського здоров'я на COVID-19.

Сучасні швидкі тести (ШТ) дозволяють отримати результат дослідження в максимально короткий термін — впродовж декількох хвилин, найчастіше за 10-15 хвилин. ШТ є технічно простими у використанні, не вимагають складної пробопідготовки клінічного матеріалу, спеціальних умов проведення тестування та обліку результатів (облік візуальний), мають внутрішній контроль, який підтверджує якість проведення тестування і те, що всі компоненти тесту спрацювали правильно і що, відповідно, правильно було внесено клінічний матеріал для дослідження. Все це мінімізує технічні помилки та сприяє широкому впровадженню ШТ. Крім того, ШТ є значно дешевшими у порівнянні з будь-яким МАНК та ІФА. Вони можуть бути використані будь-де: на місці або поблизу пунктів надання медичної допомоги без необхідності використання спеціального обладнання або лабораторної інфраструктури. Вони є дуже зручними для практичного лікаря, в будь-яких умовах.

З діагностичною метою використовуються ШТ на антиген та ШТ на антитіла. ШТ на антиген безпосередньо виявляють антиген (Ag) вірусу SARS-COV-2. ШТ на антитіла (Ab) виявляють один або кілька типів антитіл, вироблених організмом хворої людини у відповідь на вірусну інфекцію [10]. Переваги та недоліки перелічених методів етіологічної діагностики COVID-19 представлені в таблиці [11].

В Україні зареєстрована низка ШТ для етіологічної діагностики COVID-19, грипу та інших респіраторних вірусних інфекцій, перелік яких постійно поповнюється. Їх застосування є важливим та необхідним в роботі практичного або сімейного лікаря для етіологічної та диференційної діагностики особливо в період сезонного підйому захворюваності та/або пандемічного поширення коронавірусної інфекції COVID-19. За різних умов розвитку епідемічної ситуації в Україні дуже важливо розу-

Переваги та недоліки методів тестування на SARS-CoV-2 [11]

ТИП ТЕСТУ	ПЕРЕВАГИ	НЕДОЛІКИ
Метод ампліфікації нуклеїнових кислот (МАНК)	Виявляє активну інфекцію SARS-CoV-2 Висока чутливість і специфічність	Значні витрати часу Трудомісткий Потрібні лабораторне обладнання, інфраструктура та кваліфікований персонал Витрати більші, ніж для ІФА та ШТ
Швидкий діагностичний тест на антиген	Виявляє активну інфекцію SARS-CoV-2 Може використовуватися за межами лабораторії або для збільшення пропускної здатності в лабораторіях Простий у виконанні Швидкий результат (15-30 хв), що дозволяє швидко впроваджувати заходи боротьби з інфекцією, включаючи відстеження контактів Незначні витрати	Чутливість та специфічність, як правило, нижче, ніж у МАНК Низька чутливість означає, що негативне прогностичне значення тесту є нижчим, ніж у МАНК, особливо в умовах з високою поширеністю SARS-CoV-2 Верифікація позитивних результатів ШТ рекомендується при низькій поширеності захворювання, а для негативних результатів — при високій Негативні результати ШТ на АГ не можна використовувати для переривання ізоляції ШТ на АГ можна використовувати для відстеження контактів
Швидкий діагностичний тест на антитіла	Можна використовувати для виявлення перенесеної інфекції SARS-CoV-2 Може використовуватися за межами лабораторії або для збільшення пропускної здатності в лабораторіях Простий у виконанні Швидкий результат (15-30 хв) Незначні витрати	Клінічне значення позитивного результату ШТ на АТ ще досліджується Позитивні результати ШТ на АТ не гарантують наявності нейтралізуючих антитіл або захисного імунітету ШТ на АТ не використовуються для виявлення активної інфекції або для відстеження контактів Інтерпретація результатів ШТ на АТ залежить від часу захворювання, клінічних проявів, епідеміологічної ситуації та поширеності захворювання в конкретних умовах, типу використаного тесту, методу валідації та достовірності результатів

міти, що ШТ можуть бути включені до стратегії тестування в усіх тих випадках, коли МАНК недоступні або час отримання результату занадто тривалий для прийняття клінічних рішень та заходів громадського здоров'я, в тому числі таких як відстеження контактів.

Щоб розширити можливості тестування, як правило, застосовується поєднання двох або більше типів ШТ. Для тестування на COVID-19 застосовуються два типи ШТ: перший - для якісного виявлення антигенів (АГ) коронавірусу SARS-CoV-2 та другий - для якісного виявлення антитіл (АТ) класів IgM та/або IgG до коронавірусу SARS-CoV-2.

Доцільність застосування ШТ на АГ для етіологічної діагностики коронавірусної інфекції COVID-19 аргументована в настановах ВООЗ, FDA та у стандартах медичної допомоги «Коронавірусна хвороба (COVID-19)» МОЗ України [11, 9, 12].

Швидкий тест «CITO TEST® COVID-19 Ag» для якісного виявлення антигенів коронавірусу SARS-CoV-2 зареєстрований в Україні, розроблений за принципом імунохроматографічного аналізу (ІХА) для виявлення антигенів коронавірусу у мазках з носоглотки осіб з підозрою на коронавірусну інфекцію, що викликана будь-яким штамом вірусу SARS-CoV-2. Як правило, при COVID-19 антигени вірусу виявляють у зразках з верхніх дихальних шляхів впродовж перших 5–7 діб проявів гострого респіраторного захворювання. Чутливість та специфічність «CITO TEST® COVID-19 Ag» визначені у численних клінічних дослідженнях і становлять: 90,4% (чутливість) та 99,5% (специфічність).

«CITO TEST® COVID-19 Ag» працює за принципом ІХА з візуальним обліком результатів тестування. Під час тестування зразок біологічного матеріалу наноситься одноразовою піпеткою на нітроцелюлозну мембрану тест-касети в зоні «S» (зразок), далі мігрує по капілярах

мембрани до зони «C» (контролю) в кінці тест-касети. В зоні тестової лінії (Т) на мембрану заздалегідь нанесені мічені антитіла до SARS-CoV-2 і якщо у зразку є АГ коронавірусу, то відбувається взаємодія АГ з міченими АТ з утворенням імунного комплексу «АГ+АТ», в результаті чого з'являється кольорова лінія в зоні «Т», яка свідчить про позитивний результат дослідження. У тих випадках, коли в матеріалі від хворого (у зразку) немає АГ SARS-CoV-2, то імунний комплекс не утворюється і кольорова лінія в зоні «Т» не з'являється, що свідчить про негативний результат аналізу, тобто вірус SARS-CoV-2 не виявлено.

Кольорова лінія, яка завжди має з'являтися в контрольній зоні «C», свідчить про якісне виконання тестування. Вона є контролем правильного виконання процедури тестування, тим самим вказуючи, що було використано достатню кількість зразка і заповнення капілярів мембрани відбулося. Важливо підкреслити, що при позитивному результаті на мембрані тест-касети завжди з'являються дві кольорові лінії. Одна кольорова лінія — в контрольній зоні «C», а друга — в зоні «Т». Інтенсивність забарвлення ліній в зоні «Т» може змінюватись в залежності від концентрації антигенів у зразку. Тому поява кольорової лінії будь-якої інтенсивності в тестовій зоні повинна розглядатися як позитивний результат. При негативному результаті з'являється тільки одна кольорова лінія в контрольній зоні «C». Лінія в тестовій зоні «Т» — відсутня.

Недійсний результат обліковується за умови повної відсутності контрольної лінії. Причиною такого результату тестування може бути недостатня кількість використаного зразка, недотримання процедури тестування, термінів придатності та умов зберігання тесту. При отриманні недійсного результату необхідно повторити дослідження з використанням іншого ШТ.

Відбір, зберігання та транспортування зразків матеріалів для тестування на SARS-CoV-2 представлено в Додатку 3 до Стандартів медичної допомоги «Коронавірусна хвороба (COVID-19)» [12] та детально висвітлено в Інструкції по застосуванню ШТ на АГ.

Важливо пам'ятати, що при дослідженні зразків у осіб з підозрою на COVID-19 необхідно ретельно дотримуватися процедури та правильної інтерпретації результату тесту. Для виконання тесту критичним є правильний забір зразків. Недотримання процедури відбору матеріалу для тестування може призвести до неточних результатів.

Швидкий CITO TEST® COVID-19 Ag є якісним тестом і може бути використаний тільки для виявлення антигенів вірусу SARS-CoV-2 у назофарингеальних мазках осіб з підозрою на коронавірусну інфекцію. За допомогою тесту не можна визначити кількісний вміст збудника або концентрацію антигенів SARS-CoV-2 в досліджуваному матеріалі.

Позитивний результат, отриманий за допомогою CITO TEST® COVID-19 Ag, вказує лише на наявність антигенів SARS-CoV-2 у зразку і не може бути єдиним критерієм для постановки діагнозу коронавірусної інфекції. Як і в усіх випадках діагностики, результат тесту повинен братися до уваги в сукупності з клінічною інформацією, доступною лікарю. У випадку, коли результат тесту негативний, а симптоми COVID-19 присутні, рекомендується повторити тестування через декілька днів або провести тестування методом ЗТ-ПЛР або будь-яким іншим МАНК.

Важливо пам'ятати, що негативний результат тестування не виключає інфікування коронавірусом, особливо коли це стосується контактних осіб. Негативний результат також можливий у випадку, коли концентрація АГ в досліджуваному зразку дуже низька. Безумовно важливим є і те, чи правильно відібрано зразок для дослідження, оскільки надлишок слизу або наявність крові може призвести до отримання хибнонегативного результату.

У цілому рекомендації щодо застосування CITO TEST® COVID-19 Ag відповідають критеріям ефективності та можуть бути застосовані для використання в тих умовах, коли молекулярно-генетичні методи дослідження недоступні для практичного лікаря або коли лабораторії, що належать до системи охорони здоров'я України перевантажені, що призводить до подовження часу постановки ЗТ-ПЛР в реальному часі або інших МАНК на 48-72 години. Для досягнення найкращих результатів тести CITO TEST® COVID-19 Ag слід проводити протягом перших 5-7 днів після появи симптомів коронавірусної інфекції.

За даними ВООЗ застосування ШТ на АГ може ефективно заповнити як прогалини у доступі до тестування, так і в плані зменшення робочого навантаження на діагностичні лабораторії, що виконують МАНК, тим самим зменшуючи затримки з діагностикою та оптимізуючи використання наявних інструментів.

Швидкий тест «CITO TEST® COVID-19 Ag-Influenza A+B» призначений для якісного виявлення АГ коронавірусу SARS-CoV-2 та вірусів грипу людини А і В у пацієнтів з клінічними проявами гострої респіраторної інфекції.

«CITO TEST® COVID-19 Ag-Influenza A+B», як і вище описані ШТ, працює за принципом ІХА з візуальним обліком результатів тестування.

На касеті цього тесту розміщені дві зони «S», помічені як COVID-19 та як FLU_A+B відповідно та два віконця: ліве (окремо для виявлення АГ коронавірусу) та праве (для виявлення АГ вірусів грипу А і В).

Досліджуваний матеріал для виявлення коронавірусу вноситься у відповідну зону «S», просувається уздовж мембрани і взаємодіє з антитілами до вірусу SARS-CoV-2, міченими кольоровими часточками, утворюючи імунний комплекс в зоні «Т», в результаті чого утворюється кольорова тестова лінія.

У місці внесення у зону «S» на тест-касеті, поміченої як FLU A+B, зразка (досліджуваного матеріалу), що містить антигени вірусів грипу А та В, останній під дією капілярної сили просувається уздовж мембрани і, в разі присутності антигенів вірусів грипу А та/або В, взаємодіє із специфічними до вірусів грипу АТ, які були заздалегідь нанесені в зоні «Т» правого віконця, в результаті чого утворюється одна або дві кольорові тестові лінії.

Наявність кольорової тестової лінії в зоні «Т» в лівому або в правому віконцях тесту засвідчує позитивний результат, в той час, як відсутність ліній вказує на негативний результат тестування. Кольорові лінії, які завжди з'являються в контрольній зоні «С», є контролем виконання процедури, тим самим вказуючи, що було використано достатню кількість зразка і заповнення капілярів мембрани відбулося.

Дуже важливо, щоб використання «CITO TEST® COVID-19 Ag-Influenza A+B», виконували якомога швидше після забору зразків. Якщо виконати тестування негайно неможливо, слід помістити тампон зі зразком в суху, стерильну та щільно закриту пробірку для зберігання. Такий зразок може зберігатись протягом 8 год при кімнатній температурі та 24 год при 2-8°C.

Причиною недійсного результату тестування (не з'явилась контрольна лінія) може бути недостатня кількість використаного зразка, недотримання процедури тестування, недотримання термінів придатності та умов зберігання ШТ. При отриманні недійсного результату тестування необхідно повторити дослідження з використанням іншого ШТ.

При тестуванні зразків з носоглотки осіб з підозрою на коронавірусну інфекцію/грип А та/або В необхідно ретельно дотримуватися процедури тестування та інтерпретації результату тесту. Для виконання тесту критичним є правильний забір зразків. Недотримання процедури може призвести до неточних результатів.

Позитивний результат тесту вказує лише на наявність антигенів вірусів SARS-CoV-2/грипу А та В у зразку і не повинен бути єдиним критерієм для постановки діагнозу коронавірусної інфекції або грипу. Як і в усіх випадках діагностики, результат тесту повинен братися до уваги в сукупності з іншою клінічною інформацією, доступною лікарю.

У разі, коли результат тесту негативний, а клінічні симптоми захворювання присутні, рекомендується повторити тестування через декілька днів або провести тестування методом ЗТ-ПЛР або іншим МАНК.

Негативний результат тестування можливий у випадку наявності у зразку антигенів коронавірусу/вірусів грипу А та В у концентрації, нижчій за межу виявлення тесту.

Негативний результат тестування не виключає інфікування коронавірусом, особливо контактних осіб. Слід розглянути можливість подальшого тестування методом ЗТ-ПЛР.

Негативний результат на грип А або В, отриманий у разі тестування "CITO TEST® COVID-19 Ag-Influenza A+B", повинен бути підтверджений МАНК. Надлишок крові або слизу у зразку може призвести до отримання хибно-позитивних результатів. За допомогою тесту "CITO TEST® COVID-19 Ag-Influenza A+B" не можна визначити кількісний вміст та ступінь підвищення концентрації антигенів вірусів SARS-CoV-2 та вірусів грипу, проте можна здійснити диференційну діагностику та визначитись з питанням щодо того, з яким вірусом і яким захворюванням лікар має справу: вірусом грипу А, вірусом грипу В, вірусом SARS-CoV-2, або із змішаною вірусною інфекцією.

Інфекція COVID-19 також може бути виявлена опосередковано, а саме - шляхом виявлення імунної відповіді хворого на вірус SARS-CoV-2 при проведенні серологічної діагностики. Серологічна діагностика особливо важлива для пацієнтів з легкою і середньою тяжкістю перебігу захворювання, які можуть звернутися за допомогою по закінченні двох тижнів від початку захворювання. Серологічна діагностика також є важливим інструментом для оцінки поширеності COVID-19 серед людей, в тому числі для виявлення імунізованих і потенційно «захищених» від зараження осіб. Встановлено, що антитіла класу IgM при COVID-19 можуть визначатися після появи симптомів та виявлятися впродовж 2-х місяців і більше.

Швидкий тест "CITO TEST® COVID-19" для якісного виявлення антитіл класів IgM та IgG до коронавірусу SARS-CoV-2 доцільно застосовувати з діагностичними метою у випадках, коли ЗТ-ПЛР в реальному часі або будь-який інший МАНК не проводився або було отримано негативний або невизначений результат. Його можна застосовувати для встановлення наявності специфічних антитіл до SARS-CoV-2 у медичного персоналу, що працює з хворими COVID-19 (визначення IgM, IgG), в епідеміологічних дослідженнях для обстеження популяції з метою визначення осіб, що перехворіли, та/або перенесли інфекцію без виражених клінічних проявів захворювання. В результаті серологічних досліджень із застосуванням "CITO TEST® COVID-19" можливо ідентифікувати потенційних донорів реконвалесцентної плазми (один з методів лікування важких хворих COVID-19) та ретроспективно оцінювати динаміку формування популяційного імунітету.

"CITO TEST® COVID-19" є швидким імунохроматографічним тестом для якісного виявлення антитіл IgM і IgG до коронавірусу SARS-CoV-2 в цільній крові, сироватці та плазмі крові людини з метою діагностики коронавірусної інфекції. Він призначений для професійної *in vitro* діагностики. Тест доцільно застосовувати з другого тижня після появи перших симптомів коронавірусної інфекції. Матеріалом для дослідження на наявність анти-

тіл може бути капілярна кров, кров з вени, сироватка або плазма крові. Забір зразків, підготовка зразків та проведення процедури тестування детально висвітлені в Інструкції по застосуванню.

Принцип методу полягає в наступному: після внесення на мембрану тесту в зону «S» досліджуваного зразка крові, що містить антитіла класів IgM та IgG до вірусу, та буферного розчину, за час його просування до зони «Т», відбувається взаємодія з антигенами вірусу SARS-CoV-2, адсорбованими на нітроцелюлозній мембрані і міченими кольоровими часточками, з утворенням імунного комплексу. Якщо зразок не містить антитіл до коронавірусу SARS-CoV-2, кольорові лінії в зоні «Т» не з'являються, імунний комплекс не утворюється, що засвідчує негативний результат тестування.

Кольорова лінія, яка завжди з'являється в контрольній зоні «С», є контролем виконання процедури, вказує на те, що було використано достатню кількість зразка і заповнення капілярів мембрани відбулося.

Інтенсивність забарвлення тестових ліній може мінятися в залежності від концентрації антитіл до вірусу SARS-CoV-2 у зразку. Тому поява кольорової лінії будь-якої інтенсивності в зоні тестових ліній повинна розглядатися як позитивний результат.

Причиною недійсного результату тестування може бути недостатня кількість зразка крові, що досліджується, недотримання процедури та термінів придатності, умов зберігання, тощо. При отриманні недійсного результату тестування необхідно повторити дослідження з використанням іншої тест-касети.

Швидкий тест "CITO TEST® COVID-19" необхідно використовувати тільки для виявлення антитіл IgG і IgM до вірусу SARS-CoV-2 в зразках цільної крові, плазми та сироватки з метою діагностики коронавірусної інфекції. За допомогою тесту CITO TEST® COVID-19 не можна визначити а ні кількісний вміст, а ні ступінь підвищення концентрації антитіл IgG та IgM до SARS-CoV-2.

Важливо підкреслити, що позитивний результат тесту "CITO TEST® COVID-19", який вказує на наявність антитіл до SARS-CoV-2 у зразках крові, має братися до уваги в сукупності з іншою, в тому числі клінічною інформацією, доступною лікареві.

У разі, коли результат тесту негативний, а симптоми COVID-19 присутні, рекомендується додаткове тестування, з використанням інших лабораторних методів. Негативний результат не виключає можливості інфікування коронавірусом SARS-CoV-2. Негативний результат тестування можливий і за умови, коли титр антитіл до SARS-CoV-2 у досліджуваних зразках крові нижче заявлених операційних характеристик, або коли на момент забору зразка антитіла ще не з'явилися в організмі інфікованої людини.

У цілому для ефективного застосування швидких імунохроматографічних тестів CITO TEST® можуть бути застосовані вже розроблені алгоритми діагностики [13].

З огляду на це, представлені варіанти алгоритмів використання ШТ за таких обставин наступні:

1. Діагностика у безсимптомних осіб з відомим контактом із хворою на COVID-19 особою.

2. Діагностика у симптоматичних та безсимптомних

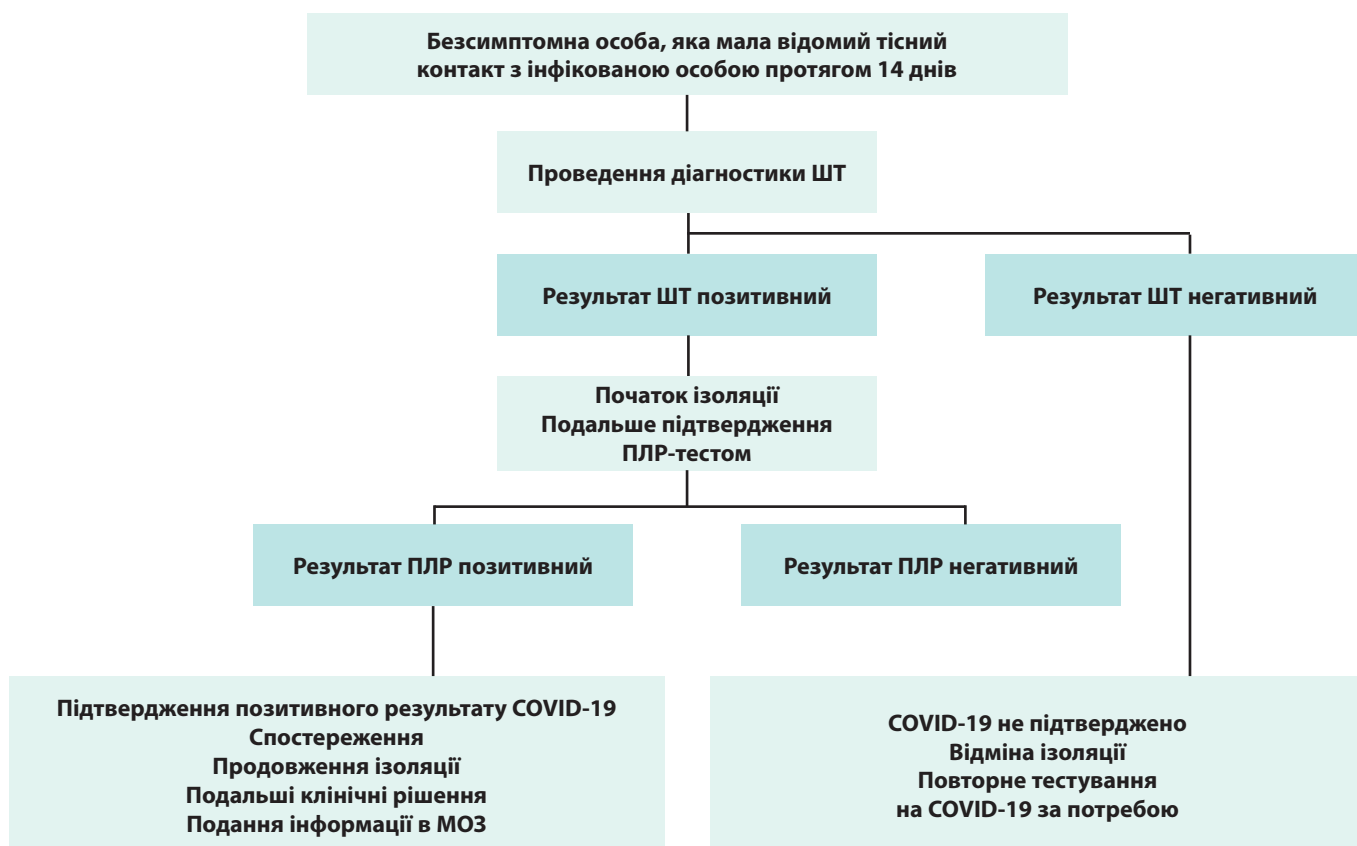


Рис. 1. Алгоритм 1 діагностики у безсимптомних осіб з відомим контактом з хворою на COVID-19 особою із застосуванням ШТ

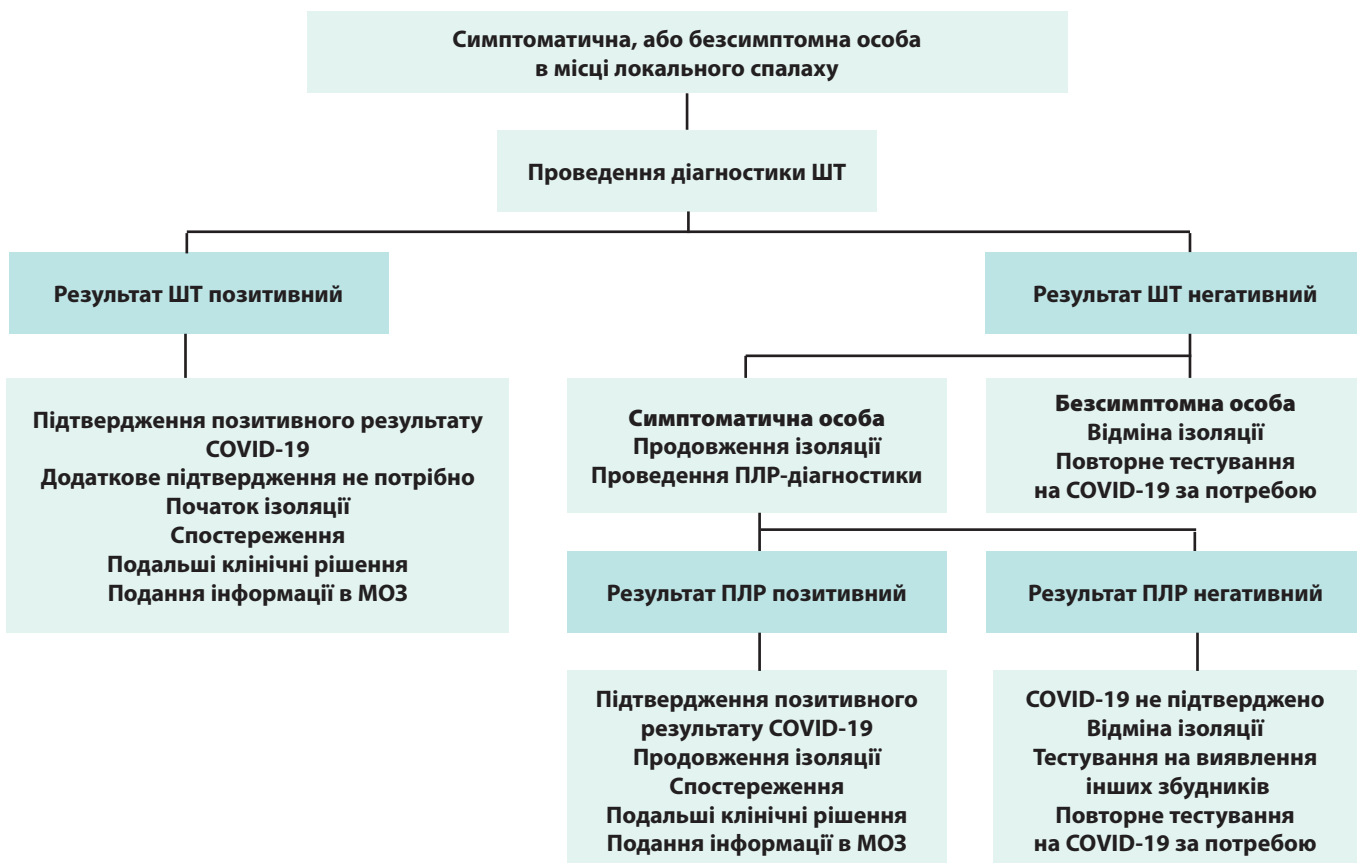


Рис. 2. Алгоритм 2 діагностики у симптоматичних та безсимптомних осіб під час спалаху COVID-19 в обмеженому колективі, коли час виконання МАНК тривалий (наприклад, >48 годин)

осіб під час спалаху COVID-19 в обмеженому колективі, коли час виконання МАНК тривалий.

3. Діагностика у симптоматичних та безсимптомних осіб, коли поширеність COVID-19 є високою, а час виконання МАНК тривалий.

4. Дискордантні результати діагностики (ШТ - позитивний, МАНК - негативний) у симптоматичних осіб.

Алгоритм 1. Діагностика у безсимптомних осіб з відомим контактом з хворою на COVID-19 особою з використанням ШТ (рис. 1).

Ця група осіб має «помірну» передтестову ймовірність. Рекомендованим є підтверджуюче тестування за допомогою МАНК усіх позитивних результатів ШТ у цій популяції. В той же час можливо уникнути підтвердження МАНК позитивних результатів на антиген, якщо внутрішній контроль якості підтверджує низький рівень хибнопозитивних результатів ШТ. При цьому сценарії медичні працівники повинні спочатку розглянути можливість проведення МАНК (наприклад, ЗТ-ПЛР), якщо доступно його проведення за короткий час, якщо особу неможливо ізолювати, або якщо є передбачувані перешкоди для підтверджувальної діагностики. Очікуючи результати підтвердження МАНК, пацієнт повинен самоізолюватися. МАНК слід проводити якомога швидше, але завжди протягом 48 годин після позитивного ШТ. Для осіб з негативним результатом ШТ все одно рекомендуваною є ізоляція.

В обмеженому колективі, де спостерігається спалах, коли час виконання тестів МАНК є неприйнятним (>48

годин) можна використовувати алгоритм 2, щоб полегшити прийняття рішень щодо вчасного виявлення та ізоляції інфікованих осіб (рис. 2).

Важливо підкреслити, що відповідно до алгоритму 2 при позитивному результаті ПЛР дослідження особи із симптомами захворювання підлягають негайній ізоляції. Очікуючи результати підтвердження МАНК, пацієнт повинен самоізолюватися. В цілому, дослідження МАНК слід проводити якомога швидше, але завжди протягом 48 годин після позитивного результату ШТ.

Поширеність COVID-19 визначається як «низька», коли відсоток позитивних результатів МАНК за останні 14 днів становить менше 5% або якщо за останні 14 днів було менше 20 нових випадків COVID-19 на 100000 осіб. Якщо поширеність серед населення є високою, а час виконання МАНК є неприйнятним (наприклад, >48 годин), слід використовувати алгоритм 3, щоб сприяти швидкому прийняттю рішень щодо виявлення та ізоляції інфікованих осіб (рис. 3).

Підтвердження МАНК або іншим методом після позитивного результату ШТ на антиген у особи з симптомами зазвичай не потрібне. ШТ на антиген добре працюють у пацієнтів із симптомами, оскільки позитивні результати мають високу специфічність. Однак можуть виникати помилкові результати, як правило, через технічні помилки. Крім того, лабораторії та клініки можуть час від часу проводити підтвердження МАНК разом із ШТ на антиген, як частину заходів із забезпечення контролю якості.

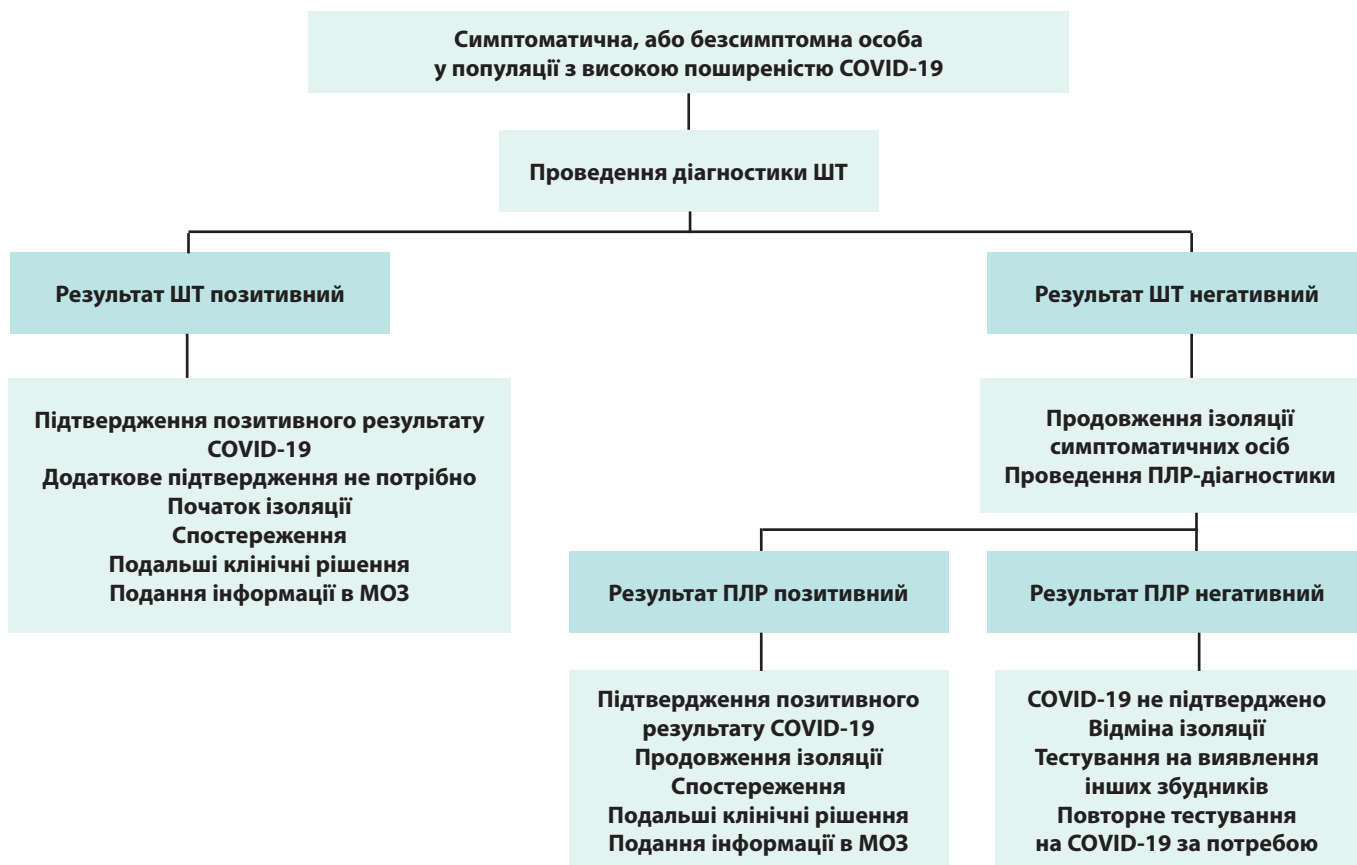


Рис. 3. Алгоритм 3 діагностики у симптоматичних та безсимптомних осіб, коли поширеність COVID-19 є високою, а час виконання МАНК триває більше 48 годин)

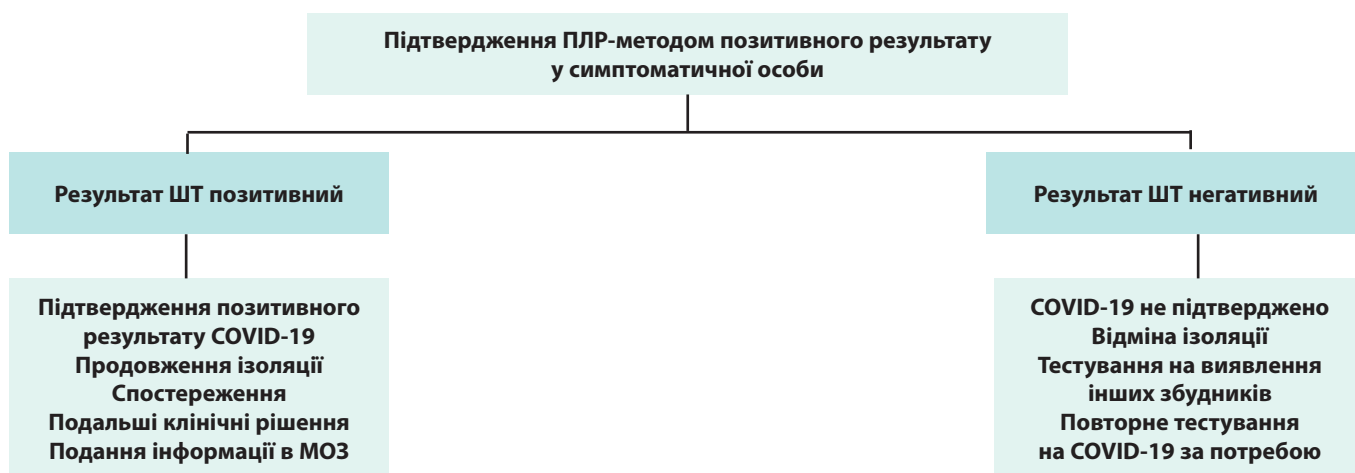


Рис. 4. Алгоритм 4 діагностики у випадку дискордантних результатів (ШТ — позитивний, МАНК — негативний) у симптоматичних осіб

Алгоритм 4 описує відповідні дії в цій ситуації, включаючи сценарій, коли результати діагностики є дискордантними (рис. 4).

В цілому, ШТ не повинні використовуватися для клінічних діагностичних цілей у безсимптомних осіб з низькою передтестовою ймовірністю, оскільки вони дадуть очікувано високий рівень хибнопозитивних результатів, та їх помірна чутливість у цій популяції загрожує хибнонегативним результатам у інфікованих осіб з низьким вірусним навантаженням, на ранньому етапі захворювання або після зникнення симптомів. Натомість цих осіб слід обстежити за допомогою МАНК (наприклад, ЗТ-ПЛР), оскільки МАНК зазвичай мають вищу чутливість, ніж ШТ. Проте, коли передтестова ймовірність помірна або висока, час застосування ШТ і їх здатність виявляти більшість пацієнтів з високим вірусним навантаженням роблять їх привабливим і практичним інструментом для швидкого прийняття рішень про ізоляцію, які можуть мати значний вплив на громадське здоров'я.

В усьому світі для боротьби з COVID-19 постійно розширюються послуги з тестування та покращується доступ до ШТ в децентралізованих умовах. Обмежене охоплення лабораторними послугами, їх висока ціна та тривалі терміни реалізації призвели до того, що потужності МАНК (наприклад, таких як ЗТ-ПЛР в реальному часі) є недостатніми для задоволення попиту у багатьох країнах світу, особливо в тих, населення яких має низький та середній рівні доходу. Ці обмеження вже призвели до того, що показники тестування в цих країнах в 2020 році, були приблизно в 10 разів нижчими, ніж у країнах з високим рівнем доходу [8].

Цілком очевидно, що своєчасні, детальні дані про тестування та дослідження на COVID-19 мають життєво важливе значення для реагування закладів громадського здоров'я будь-якої країни. *Важливо мати в реальному часі точні дані про тестування підозрюваних випадків, характер та стан ізоляції всіх підтверджених випадків, кількість контактів на випадок та повноту відстеження, а також динамічну здатність системи охорони здоров'я для лікування випадків COVID-19* [14].

ЛІТЕРАТУРА

1. Chau NVV, et al. The natural history and transmission potential of asymptomatic SARS-CoV-2 infection. *Clinical Infectious Diseases*. 2020;71(10):2679–2687. DOI: 10.1093/cid/ciaa711.
2. Oran DP, Topol EJ. Prevalence of asymptomatic SARS-CoV-2 infection: a narrative review. *Annals of internal medicine*. 2020;173(5):362–367. DOI: 10.7326/M20-3012
3. Dyer O, Covid-19: Doctors will refuse to limit use of antiviral drug to unvaccinated patients, say ethicists. *BMJ*. 2021;375:n2855. DOI:10.1136/bmj.n2855
4. Mahase E. Covid-19: Pfizer's paxlovid is 89% effective in patients at risk of serious illness, company reports. *BMJ*. 2021;375:n2713. DOI:10.1136/bmj.n2713
5. Mahase E. Covid-19: Molnupiravir reduces risk of hospital admission or death by 50% in patients at risk, MSD reports. *BMJ*. 2021;375:n2422 doi:10.1136/bmj.n2422. DOI: 10.1136/bmj.n2422
6. Forchette L, Sebastian W, Liu T. A comprehensive review of COVID-19 virology, vaccines, variants, and therapeutics. *Current medical science*. 2021;41(6):1037–1051. DOI: 10.1007/s11596-021-2395-1.
7. Tang YW, et al. Laboratory diagnosis of COVID-19: current issues and challenges. *Journal of clinical microbiology*. 2020;58(6):e00512–e00520. DOI: 10.1128/JCM.00512-20
8. SARS-CoV-2 test tracker. Geneva: Foundation for Innovative New Diagnostics; 2020. URL : <https://www.finddx.org/covid-19/test-tracker/> (accessed 18 November 2020)
9. McFee RB. COVID-19 laboratory testing/CDC guidelines. *Disease-a-Month*. 2020;66(9):101067. DOI: 10.1016/j.disamonth.2020.101067
10. Дзюблук ІВ та ін. Швидкі ІХА-тести для етіологічної діагностики інфекційних захворювань людини. Методичні рекомендації. 2-е видання. Київ. 2021:125 с.
11. Laboratory testing strategy recommendations for COVID-19: interim guidance URL : https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/331509/WHO-COVID-19-lab_testing-2020.1-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y

REFERENCES

1. Chau NVV, et al. The natural history and transmission potential of asymptomatic SARS-CoV-2 infection. *Clinical Infectious Diseases*. 2020;71(10):2679–2687. DOI: 10.1093/cid/ciaa711.
2. Oran DP, Topol EJ. Prevalence of asymptomatic SARS-CoV-2 infection: a narrative review. *Annals of internal medicine*. 2020;173(5):362–367. DOI: 10.7326/M20-3012
3. Dyer O, Covid-19: Doctors will refuse to limit use of antiviral drug to unvaccinated patients, say ethicists. *BMJ*. 2021;375:n2855. DOI:10.1136/bmj.n2855
4. Mahase E. Covid-19: Pfizer's paxlovid is 89% effective in patients at risk of serious illness, company reports. *BMJ*. 2021;375:n2713. DOI:10.1136/bmj.n2713
5. Mahase E. Covid-19: Molnupiravir reduces risk of hospital admission or death by 50% in patients at risk, MSD reports. *BMJ*. 2021;375:n2422 doi:10.1136/bmj.n2422. DOI: 10.1136/bmj.n2422
6. Forchette L, Sebastian W, Liu T. A comprehensive review of COVID-19 virology, vaccines, variants, and therapeutics. *Current medical science*. 2021;41(6):1037–1051. DOI: 10.1007/s11596-021-2395-1.
7. Tang YW, et al. Laboratory diagnosis of COVID-19: current issues and challenges. *Journal of clinical microbiology*. 2020;58(6):e00512–e00520. DOI: 10.1128/JCM.00512-20
8. SARS-CoV-2 test tracker. Geneva: Foundation for Innovative New Diagnostics; 2020. URL : <https://www.finddx.org/covid-19/test-tracker/> (accessed 18 November 2020)
9. McFee RB. COVID-19 laboratory testing/CDC guidelines. *Disease-a-Month*. 2020;66(9):101067. DOI: 10.1016/j.disamonth.2020.101067
10. Dzyublyk IV, et al. *Shvydkii IKHA-testy dlya etiologichnoyi diahnozyky infektsiyynykh zakhvoryuvan lyudyny* (Rapid IHA tests for etiological diagnosis of human infectious diseases). *Metodychni rekomendatsiyi*. 2-e vydannya. Kyiv. 2021:125 p.
11. Laboratory testing strategy recommendations for COVID-19: interim guidance URL : https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/331509/WHO-COVID-19-lab_testing-2020.1-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y

12. Стандарти медичної допомоги «Коронавірусна хвороба (COVID-19)» URL:https://www.dec.gov.ua/wpcontent/uploads/2021/10/2020_722_standart_covid_19.pdf
 13. Addendum to Appropriate Use of Point-of-Care (POC) Tests for SARS-CoV-2 URL : <https://covid-19.acgov.org/covid19-assets/docs/testing/point-of-care-testing-guidance-addendum-2021.01.21.pdf>
 14. COVID-19 strategy update. 14 April 2020. Geneva: World Health Organization; 2020. URL : <https://www.who.int/publications-detail-redirect/covid-19-strategy-update---14-april-2020> (accessed 18 November 2020)
 12. Standarty medychnoyi dopomohy "Koronavirusna khvoroba (COVID-19) (Standards of medical care "Coronavirus disease (COVID-19)". URL:https://www.dec.gov.ua/wpcontent/uploads/2021/10/2020_722_standart_covid_19.pdf
 13. Addendum to Appropriate Use of Point-of-Care (POC) Tests for SARS-CoV-2 URL : <https://covid-19.acgov.org/covid19-assets/docs/testing/point-of-care-testing-guidance-addendum-2021.01.21.pdf>
 14. COVID-19 strategy update. 14 April 2020. Geneva: World Health Organization; 2020. URL : <https://www.who.int/publications-detail-redirect/covid-19-strategy-update---14-april-2020> (accessed 18 November 2020)
-