

25 июля 2020 г.

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19

Содержание

1. Общие понятия и определения
 2. Виды лабораторных диагностических тестов
 - 2.1. Сводная таблица по видам и методам диагностики
 - 2.2. Этиологическая диагностика вируса SARS-CoV-2
 - 2.3. Диагностика антител к SARS-CoV-2
 3. Особенности лабораторной диагностики новой коронавирусной инфекции у медицинских работников
 4. Направления научных исследований в сфере лабораторной диагностики новой коронавирусной инфекции
 - 4.1. Исследование сточных вод на РНК SARS-CoV-2
 - 4.2. Математические методы для популяционных исследований (метод «пуллинга»)
 5. Разработка национальных стратегий тестирования и сероскрининга
 6. Приложения
 - Приложение 1. Список нормативных документов по назначению и сбору материала для диагностики COVID-19
 - Приложение 2. Группы лиц по приоритету лабораторного исследования новой коронавирусной инфекции COVID-19 [Санитарно-эпидемиологические правила СП 3.1.3597-20 «Профилактика новой коронавирусной инфекции (COVID-19)»]
- Список литературы

1. Общие понятия и определения

Новая коронавирусная инфекция COVID-19 (далее – COVID-19) – это острое респираторное заболевание, вызываемое новым коронавирусом SARS-CoV-2. Среди видов лабораторной диагностики новой коронавирусной инфекции в настоящее время выделяют:

1) **этиологическую диагностику COVID-19**, то есть выявление компонентов вируса SARS-CoV-2. Данный вид тестов также называется «вирусная диагностика» или «молекулярная диагностика». Он проводится преимущественно методом, носящим название «полимеразная цепная реакция» (ПЦР). На сегодняшний день ПЦР является основным видом лабораторной диагностики COVID-19 [1–3];

2) **выявление иммуноглобулинов (антител) к SARS-CoV-2**. Данный вид тестов также называется «серологическая диагностика COVID-19» и является дополнительным видом тестирования. Выявление антител проводится следующими методами: «иммуноферментный анализ» (ИФА), в том числе его модификацией «иммунохемиллюминесцентный анализ» (ИХЛА), а также «иммунохроматографический анализ» (ИХА).

Для характеристики достоверности и точности лабораторных тестов используют такие понятия, как **чувствительность и специфичность**.

Чувствительность (sensitivity): вероятность того, что тест выявит действительно больных среди всех заболевших. Например, если чувствительность ПЦР к SARS-CoV-2 составляет 95%, это означает, что среди 100 пациентов, имеющих в организме SARS-CoV-2, данный тест будет положительным у 95 пациентов (истинно положительные результаты). А у оставшихся 5 пациентов, имеющих в организме SARS-CoV-2, данный тест покажет так называемый ложно-отрицательный результат. Чувствительность рассчитывается как отношение числа истинно положительных результатов к сумме истинно положительных и ложно-отрицательных результатов (табл. 1). Также тест может характеризоваться такими понятиями, как «аналитическая чувствительность», или «лимит распознавания» («limit of detection»), то есть своей способностью количественно определять исследуемый показатель. Например, в настоящее время чувствительность российских тест-систем ПЦР на РНК SARS-CoV-2 составляет 5×10^2 – 10^5 копий РНК на 1 мл образца, то есть тест может выявить минимально 500–500 000 частиц РНК вируса в 1 мл исследуемого образца. В зарубежных тест-системах аналитическая чувствительность выше и минимально составляет 100 копий РНК вируса в 1 мл исследуемого образца [4].

Высокая чувствительность тестов для выявления SARS-CoV-2 важна, так как при получении ложноотрицательного результата высока вероятность недовыявления отдельных случаев COVID-19, соответственно, эти люди могут распространять инфекцию в популяции (см. табл. 1).

Специфичность (specificity): вероятность того, что тест определит действительно не больных среди всех не имеющих заболевания. Например, специфичность конкретного теста, равная 97%, означает, что из 100 протестированных людей, в действительности не имеющих заболевания, в 97 случаях тест покажет отрицательный результат (истинно отрицательный), а в 3 – ложноположительный результат. Показатель рассчитывается как отношение истинно отрицательных результатов к сумме истинно отрицательных и ложно-положительных результатов. Высокая специфичность крайне важна в случае COVID-19, так как люди с ложноположительными результатами будут оценены как инфицированные и к ним будут применены методы карантина.

Табл. 1. Показатели для расчета чувствительности и специфичности тестов (при 95% чувствительности и 95% специфичности теста и распространенности заболевших 5% в популяции численностью 10 тыс. человек)

	Имеющие болезнь	Не имеющие болезнь	Всего	
Тест положительный	475 (истинно положительные)	475 (ложноположительные)	950	ППЗ = 50%
Тест отрицательный	25 (ложноотрицательные)	9025 (истинно отрицательные)	9050	ОПЗ = 99,7%
Всего результатов	500	9500	10 000	Распространенность = 5%

Точность тестов может также зависеть от распространенности заболевания в конкретной популяции. Для того, чтобы определить, с какой вероятностью при наличии положительного или отрицательного результата теста у конкретного больного будет или не будет данная болезнь, используется понятие **прогностической значимости теста (положительной и отрицательной)**.

Положительная прогностическая значимость (ППЗ, positive predictive value – PPV): доля истинно положительных результатов среди всех положительных результатов исследований. Другими словами, вероятность того, что у тех, у кого был положительный результат теста, действительно есть заболевание. Рассчитывается как отношение числа истинно положительных результатов, поделенное на сумму числа истинно положительных и ложноположительных результатов. ППЗ, равная 50%, означает, что при наличии положительного теста вероятность наличия заболевания у данного больного составляет 50%.

ППЗ неизбежно связана с отрицательной прогностической значимостью (ОПЗ, negative predictive value – NPV), то есть долей истинно отрицательных результатов среди всех отрицательных. Другими словами, это вероятность того, что среди тех людей, у кого отрицательный результат, действительно нет заболевания.

ППЗ и ОПЗ зависят от распространенности заболевания. Так, при достаточно высоких показателях чувствительности и специфичности теста (скажем, 95%) – чем ниже распространенность, тем ниже ППЗ. И наоборот – чем выше распространенность, тем выше ППЗ и ниже ОПЗ. Эта зависимость математически объясняется формулой расчета ППЗ = $(\text{чувствительность} \times \text{распространенность}) / [(\text{чувствительность} \times \text{распространенность}) + ((1 - \text{специфичность}) \times (1 - \text{распространенность}))]$.

Таким образом, для лабораторной диагностики новой коронавирусной инфекции COVID-19 необходимо не только наличие самих тестов, но также их высокая достоверность.

Лабораторная диагностика новой коронавирусной инфекции COVID-19 применяется как для индивидуальной оценки, есть ли у данного пациента заболевание, так и для оценки распространенности инфекции в популяции (на уровне медицинской организации, региона, страны, всего мира).

2. Виды лабораторных диагностических тестов

В табл. 2 представлена сводная информация по видам, типам и методам диагностики новой коронавирусной инфекции, далее более подробно описан каждый из методов.

2.1. Сводная таблица по видам и методам диагностики

Табл. 2. Виды и методы лабораторной диагностики COVID-19

Вид диагностики	Способ выявления	Метод диагностики	Тип диагностики	Применение	Чувствительность и специфичность метода	Особенности
Этиологическая диагностика вируса (чаще всего в назофарингеальном мазке)	Амплификация (увеличение количества копий) РНК-вируса	ПЦР	Стандартный (36–72 ч)	«Золотой стандарт» диагностики вируса SARS-CoV-2	Чувствительность 94–99% Специфичность 99%	Чувствительность снижается при неправильном сборе образца. Тест положительный только в острую фазу заболевания
		Изотермическая амплификация	Экспресс-диагностика (в лаборатории медучебреждения несколько часов)	Редко применяется	Чувствительность до 100% Специфичность 99%	Быстрое выполнение, однако метод малоизучен
	Выявление белков вируса	Иммунохроматография (ИХГ)	Экспресс-диагностика (в среднем 15 мин)	Редко применяется	Меньшая чувствительность и специфичность, чем у ПЦР	Быстрое выполнение
Диагностика антител к SARS-CoV-2 в сыворотке крови человека	Связывание антител	Иммуноферментный анализ (ИФА)	Стандартная серологическая диагностика у человека (48–72 ч)	Цены для диагностики случаев, если ПЦР отрицательная. Популяционное значение для оценки перенесенного заболевания и наличия иммунитета – не доказано	Чувствительность 92–99% Специфичность 97–99%	Эффективен вне острой стадии заболевания – через 1 нед после появления симптомов, максимум на 3-й неделе
		ИХГ	Экспресс-серологическая диагностика (минимально за 15 мин)	оценки перенесенного заболевания и наличия иммунитета – не доказано	Чувствительность 90–95% Специфичность до 99%	По данным Роспотребнадзора, возможна перекрестная реакция с другими коронавирусами
	Нейтрализация вируса антителами	Вирус- или псевдовирус-нейтрализационный тест	Научные исследования в лабораториях высокой биологической безопасности	В научных исследованиях, например, при оценке эффективности вакцин	Чувствительность 95–99% Специфичность до 99%	Единственный метод определения функциональной способности антител предотвращать размножение вируса. Метод очень сложен в исполнении, требует высокого уровня биологической безопасности лаборатории

2.2. Этиологическая диагностика вируса SARS-CoV-2

Для этиологической диагностики коронавируса SARS-CoV-2 используется 2 метода: ПЦР и изотермическая амплификация.

В соответствии с Временными рекомендациями Минздрава России (версия 5 от 08.04.2020) этиологическая лабораторная диагностика SARS-CoV-2 методом ПЦР является неотъемлемой частью постановки диагноза COVID-19 см. **рис. 1** [5].

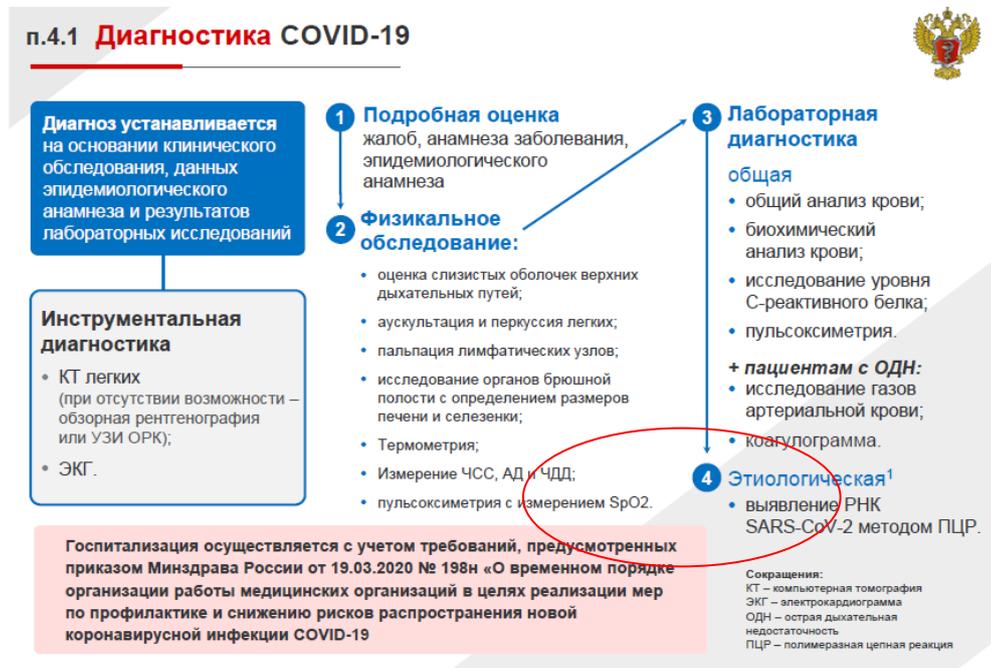


Рис. 1. Схема диагностики инфекции COVID-19

Метод ПЦР

В основе метода ПЦР лежит выявление РНК (генетического материала) вируса SARS-CoV-2 путем ее амплификации (то есть многократного копирования). Различные производители используют разные гены РНК вируса. Большинство тестов может выявлять в образце один или более генов, которые кодируют его белки: белок оболочки вируса (Envelope E), нуклеокапсида (Nucleocapsid protein N), поверхностного гликопротеина «шипа» или «короны» вируса (Spike-protein S) и др. [6]. Быстрой разработке и налаживанию производства диагностических тестов способствовали современные успехи молекулярной биологии и, в частности, тот факт, что генетический материал нового коронавируса был расшифрован уже в январе-феврале 2020 г. [7].

Метод ПЦР состоит из следующих этапов [8]:

1) преобразование вирусной РНК в ДНК (обратная транскрипция). Это делается потому, что только ДНК можно многократно копировать;

- 2) присоединение к концам полученной ДНК коротких нуклеотидных фрагментов, комплементарных конечным участкам ДНК, которые называются праймерами. Именно комплементарность праймеров к определенной последовательности ДНК обуславливает специфичность теста ПЦР;
- 3) многократное копирование ДНК в специальном приборе-амплификаторе;
- 4) визуализация результатов при помощи флуоресцентных зондов. Зонд прикрепляется к молекуле ДНК и в конце копирования возникает флуоресцентное свечение. Чем больше молекул нуклеиновых кислот в исходном образце, тем больше свечение. Сила свечения регистрируется прибором. Пороговый цикл – это количество циклов репликации, необходимых для получения флуоресцентного сигнала, чем ниже значения порогового цикла, тем выше нагрузка вирусной РНК. Значение порогового цикла менее 40 регистрируется как ПЦР-положительный результат.

В РФ на 5 июля 2020 г. по данным сайта Российского союза промышленников и предпринимателей зарегистрировано **23 теста ПЦР** для определения вируса SARS-CoV-2 [9], во Временных методических рекомендациях Минздрава России (версия 7 от 03.06.2020) упомянуто **19 тестов ПЦР** [1].

Изотермальная амплификация РНК

При данном методе используются упрощенная процедура подготовки образца и меньшее количество этапов анализа. Соответственно, он может применяться для экспресс-диагностики. В настоящее время в РФ зарегистрировано всего **4 таких теста**, среди них «Изотерм SARS-CoV-2 РНК-скрин» компании «Генериум» [10].

Иммунохроматография (выявление белков вируса)

За рубежом и в РФ в настоящее время разрабатываются экспресс-тесты на белки-антигены вируса SARS-CoV-2 на основе метода иммунохроматографии, в России в настоящее время зарегистрировано 3 таких теста [9], однако они пока не упомянуты во Временных рекомендациях Минздрава России по диагностике и лечению коронавирусной инфекции (версия 7 от 03.06.2020).

Чувствительность и специфичность ПЦР

Специфичность тестов ПЦР к коронавирусу составляет почти 100%, так как праймеры, применяющиеся в ПЦР, высокоспецифичны к последовательности нуклеотидов в вирусном материале вируса SARS-CoV-2. Тем не менее в дальнейшем могут возникнуть такие мутации в генетическом материале вируса SARS-CoV-2, которые продиктуют необходимость модификации праймеров в тестах ПЦР.

Следует отметить, что существуют определенные разночтения в оценке

чувствительности ПЦР тестов. 7 апреля 2020 г.¹ директор Клиники пульмонологии и респираторной медицины Первого МГМУ им. И.М. Сеченова С. Авдеев сказал, что чувствительность ПЦР-тестов на SARS-CoV-2 составляет только 70–80% [11]. Однако ученые-разработчики ПЦР-систем в России Р. Газиев (Гемотест) и А. Горелов (ЦНИИЭ) сообщили, что чувствительность ПЦР на SARS-CoV-2 в России составляет 94–99% [12]. Американские исследователи Lauren M. Kucirka и Stephen Lauer опубликовали 13 мая 2020 г. данные, что ПЦР положительна у 33% больных COVID-19 на 4-й день после воздействия вируса, у 62% – в день возникновения первых симптомов и у 80% – через 3 дня после возникновения симптомов [13].

Причины снижения чувствительности ПЦР-тестов по сравнению с показателями, заявленными разработчиками, могут быть следующие [14].

1. *Проблемы конструкции и проведения самого теста в конкретной лаборатории.* Например, в тесте отсутствует внутренний контрольный образец – специально сконструированная молекула РНК, которая показывает, что реакция прошла правильно. В некоторых российских тестах внутренний контрольный образец отсутствует, а имеется только положительный контрольный образец (в другой пробирке). В ситуации отсутствия внутреннего контрольного образца при высокой нагрузке на лабораторию возрастает количество ложноотрицательных результатов (до 40%).

2. *Неправильное взятие материала и транспортировка.* Из-за неправильного взятия образца в нем может оказаться недостаточное количество материала вируса. Это возникает, например, при взятии образца только из носа. Другая ошибка состоит в том, что тампон для взятия образца слишком быстро вынимается из полости носоглотки пациента (менее чем через 10 с).

3. *Проблемы, связанные с отсутствием или низким содержанием генетического материала вируса у конкретного больного* в конкретный период заболевания. Например, в инкубационный период заболевания вирус часто не выявляется.

Показания к назначению и порядок сбора материала для ПЦР

Действующие нормативные документы (Приложение 1)

В постановлении Главного государственного санитарного врача РФ от 22.05. 2020 № 15 («Об утверждении санитарно-эпидемиологических правил СП 3.1.3597-20 „Профилактика новой коронавирусной инфекции (COVID-19)“») в главе III пункта 3.1 определен круг лиц, которым необходимо проводить лабораторное исследование и противоэпидемические мероприятия [15]. Выделены группы лиц по приоритетам первого, второго и третьего уровней (**Приложение 2**). В свою очередь, во Временных рекомендациях Минздрава России (версия 7 от 03.06.2020) показания к назначению ПЦР

¹ Выступление на Конгрессе «Человек и Лекарство» (Москва).

выделены в 2 группы:

1) отдельные группы населения:

- прибывшие на территорию РФ с наличием симптомов инфекционного заболевания;
- контактировавшие с больным COVID-19;
- с диагнозом «внебольничная пневмония»;
- работники медицинских организаций, имеющие риск инфицирования при профессиональной деятельности;
- находящиеся в интернатах для престарелых и психически больных, детских домах, детских лагерях, пансионатах для пожилых и других стационарных организациях социального обслуживания, учреждениях уголовно-исполнительной системы при появлении респираторных симптомов;
- граждане в возрасте старше 65 лет, обратившиеся за медицинской помощью с респираторными симптомами;
- работники стационарных организаций социального обслуживания населения, учреждений уголовно-исполнительной системы при вахтовом методе работы до начала работы в организации с целью предупреждения заноса COVID-19;
- дети из организованных коллективов при возникновении 3 и более случаев заболеваний, не исключаяющих COVID-19 (обследуются как при вспышечной заболеваемости);

2) пациенты без признаков ОРВИ при наличии определенных данных эпидемиологического анамнеза:

- возвращение из зарубежной поездки за 14 дней до обращения;
- наличие тесных контактов за последние 14 дней с лицами, находящимися под наблюдением по инфекции, вызванной SARS-CoV-2, которые в последующем заболели;
- наличие тесных контактов за последние 14 дней с лицами, у которых лабораторно подтвержден диагноз COVID-19;
- наличие профессиональных контактов с биоматериалом от пациентов с COVID-19 и лиц с подозрением на данное заболевание [врачи, специалисты с высшим профессиональным (немедицинским) образованием, средний и младший медицинский персонал];
- ребенок, рожденный от матери, у которой за 14 дней до родов был выявлен подозрительный или подтвержденный случай COVID-19.

Основным видом биоматериала для лабораторного исследования на наличие РНК SARS-CoV-2 является материал, полученный при заборе мазка из носоглотки (из двух носовых ходов) и ротоглотки. Мазки со слизистой оболочки носоглотки и ротоглотки собираются в одну пробирку для большей концентрации вируса.

Во Временных методических рекомендациях Минздрава России (версия 7 от 03.06.2020) дана «Инструкция по проведению этиологической лабораторной диагностики коронавирусной инфекции». В том числе описаны сроки выполнения исследования (не

должны превышать 48 ч с момента поступления образца); требования к помещениям и оснащению лабораторий (с соблюдением санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)», порядок дезинфекции; обращение с отходами (все использованные одноразовые материалы и другие отходы должны подвергаться обработке дезинфицирующими средствами и последующей утилизации – СанПин 2.1.7.2527-09) [1].

Согласно Методическим рекомендациям Росздравнадзора МР 3.1.0169-20 «Лабораторная диагностика COVID-19», выписка больных COVID-19 проводится при получении 2 отрицательных результатов лабораторных исследований с промежутком не менее 1 сут [16].

Интерпретация и использование результатов ПЦР

В настоящее время ПЦР считается «золотым стандартом» лабораторной диагностики COVID-19. Однако «положительный» результат ПЦР отражает только обнаружение вирусной РНК и не обязательно указывает на наличие жизнеспособного вируса. Для обнаружения жизнеспособного вируса его нужно культивировать в культуре тканей или выявить с помощью электронного микроскопа. Однако оба эти метода используются только для научных исследований.

В публикации «Журнала Американской медицинской ассоциации» (Journal of American Medical Association) 6 мая 2020 г. исследователями N. Sethuraman и соавт. была предложена схема диагностических тестов как маркеров заболевания при COVID-19 в зависимости от развития болезни и симптомов заболевания, см. **рис. 2** [13]. У большинства пациентов с симптоматической инфекцией COVID-19 вирусная РНК в назофарингеальном мазке обнаруживается уже в первый день симптомов и достигает пика в течение первой недели их появления. Эта позитивность начинает снижаться к третьей неделе и впоследствии результат становится отрицательным. Время положительного результата ПЦР отличается в мазке из носоглотки и в других образцах. ПЦР-позитивность в слюне снижается медленнее и может быть положительной и после того, как мазки из носоглотки будут отрицательными. В данном исследовании обобщается, что позитивность ПЦР была наиболее высокой в образцах бронхоальвеолярного лаважа (93%), за ним следовали мокрота (72%), мазок из носа (63%) и мазок из глотки (32%). Позитивность в стуле наблюдалась у 55 из 96 (57%) инфицированных пациентов и оставалась положительной в стуле в среднем от 4 до 11 дней.

N. Sethuraman и соавт. при представлении схемы лабораторных маркеров SARS-CoV-2 подчеркивают, что представленные данные относятся к взрослым группам населения без нарушений иммунитета. Время обнаружения положительной реакции ПЦР и сероконверсии может быть отличным у детей, а также у других групп, включая большую популяцию бессимптомных носителей, которые остаются не диагностированными.

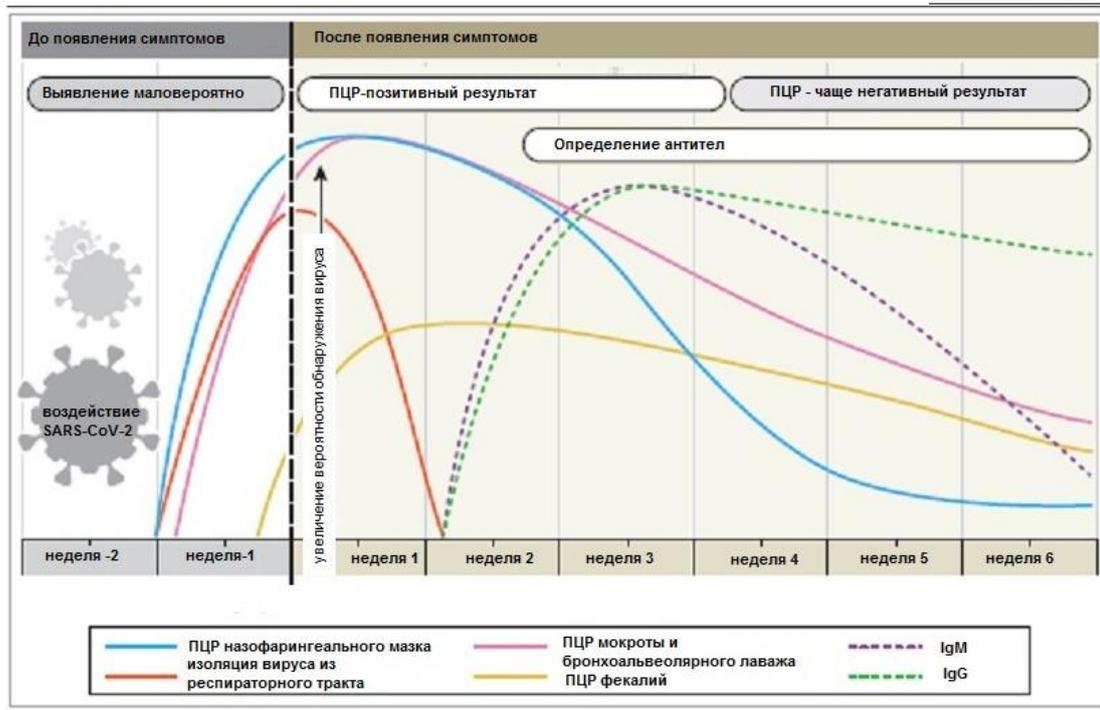


Рис. 2. Схема лабораторных маркеров инфекции COVID-19 в зависимости от времени инфицирования и появления симптомов

Цитируется по: Sethuraman N., Stanleyraj S., Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2 // JAMA. – 2020. – Vol. 323, N 22. – P. 2249–2251. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: doi:10.1001/jama.2020.8259.

2.3. Диагностика антител к SARS-CoV-2

Методы и виды исследования диагностики антител

Как и при многих других вирусных заболеваниях (таких, например, как краснуха или вирусные гепатиты), выявление антител к вирусу SARS-CoV-2 может иметь диагностическое значение для отдельного человека и популяции региона или страны в целом.

При контакте вируса с человеком его организм развивает иммунный ответ, одним из компонентов которого является специфический гуморальный ответ в виде выработки антител. Установлено, что при инфицировании вирусом SARS-CoV-2 антитела образуются к двум его важнейшим белкам: поверхностному и внутреннему. Поверхностный гликопротеин S («S» означает «spike», то есть «шип или корона вируса») является белком, с помощью которого вирус прикрепляется и проникает в клетку человеческого организма. Внутренний белок SARS-CoV-2 называется «фосфопротеин нуклеокапсида» (nucleocapsid phosphoprotein). Данный белок расположен под оболочкой, он упаковывает вирусный геном в спиральный рибонуклеокапсид (ribonucleocapsid – RNC) и помогает самосборке вируса внутри клетки [6].

Основные специфические белки SARS-CoV-2 показаны на **рис. 3**.

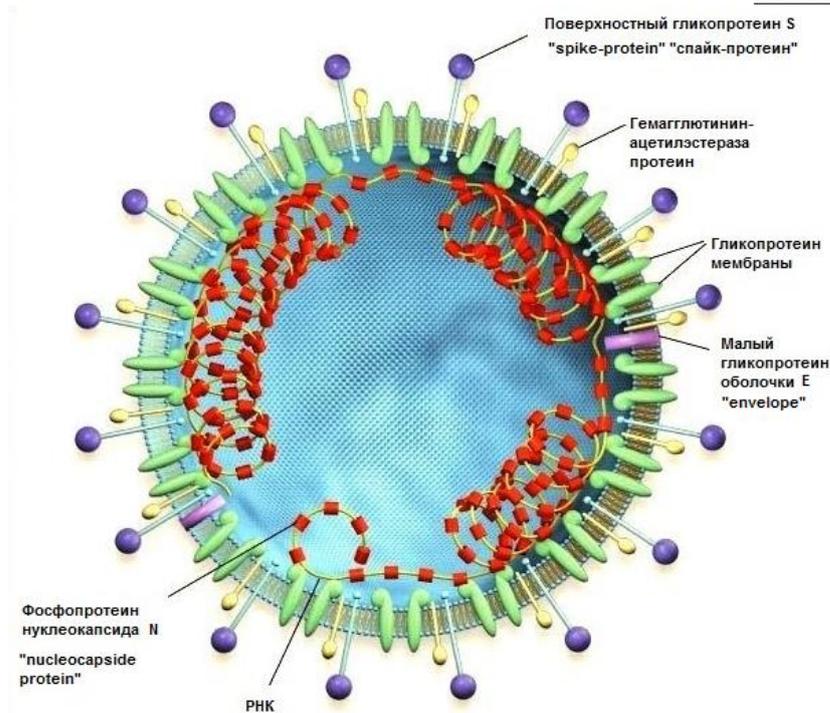


Рис. 3. Основные специфические белки вируса SARS-CoV-2

В процессе иммунного ответа организма человека на SARS-CoV-2 образуются разные классы антител (структурно различающиеся по составу тяжелых цепей иммуноглобулина), которые имеют разную функцию. Иммуноглобулины класса М (IgM) имеют очень большую молекулярную массу, появляются первыми и осуществляют первичный антительный ответ организма на любую инфекцию, в том числе на данный вирус. Антитела класса G (IgG) гораздо меньше по размеру, чем IgM, появляются несколько позже, но зато дольше сохраняются в крови. Антитела IgA представляют собой особый класс иммуноглобулинов, который отвечает за иммунный ответ на слизистых оболочках организма.

Антитела также подразделяются на связывающие (присоединяющиеся к белкам вируса) и нейтрализующие (убивающие вирус).

В настоящее время разработано два основных типа тестов на антитела к SARS-CoV-2.

1. Выявление связывающих антител. При данном виде исследований используется сыворотка крови пациента, которая может содержать антитела к вирусу SARS-CoV-2. Среди тестов на связывающие антитела различают: стандартные (используется иммуноферментный метод анализа) и экспресс-тесты (хроматография).

Стандартные лабораторные тесты для выявления связывающих антител к SARS-CoV-2 на основе иммуноферментного метода (ИФА, enzyme-linked immunosorbent assay – ELISA). В основе метода лежит реакция соединения антигена вируса с антителами в исследуемой сыворотке крови. К антигену прикрепляется

метка, которая при образовании комплекса антиген– антитело запускает ферментативную реакцию, в результате изменяется цвет, интенсивность окрашивания жидкости, которые можно измерить количественно, см. **рис. 4** [17].

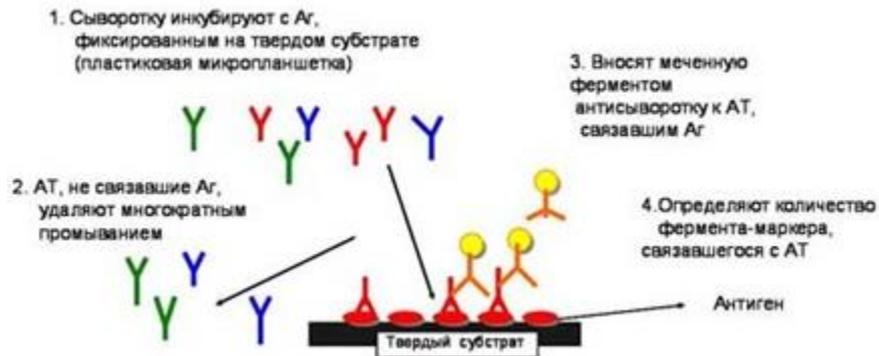


Рис. 4. Схема иммуноферментного метода (ИФА). Ag-антиген, АТ -антитела

Во Временных рекомендациях Минздрава России по профилактике, диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции (версия 7 от 03.06.2020) в Приложении 5-1 сообщается, что в РФ зарегистрировано 12 подобных тестов от разных производителей [1].

Экспресс-тесты для выявления связывающих антител. Чаще всего для проведения этого теста используются иммунохроматографические методы, в которых комплекс антиген–антитело диффундирует по капиллярному току «латеральный поток» (lateral flow) на определенную линию. Конъюгатом или связующим антитело веществом является комплекс антигена вируса с молекулой красителя. При положительном результате теста появляется две окрашенные линии (одна линия – в результате оседания комплекса антиген–антитело–краситель), вторая линия – контрольная, при отрицательном результате теста появляется только одна окрашенная контрольная линия, см **рис. 5** [18]. Согласно указанному Приложению 5-2, в России на 03.06.2020 зарегистрировано 13 экспресс-тестов для выявления антител к коронавирусу.

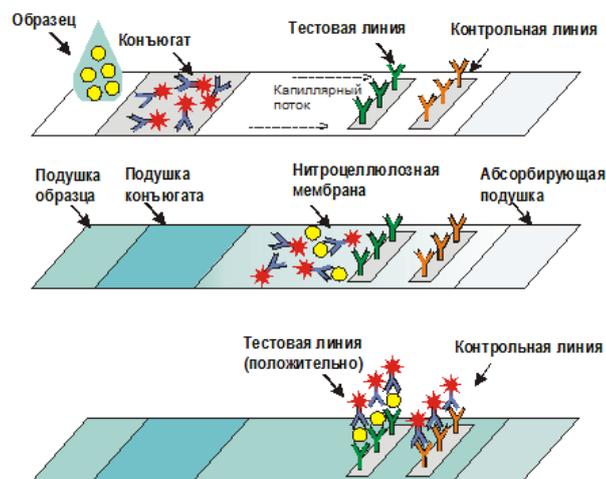


Рис. 5. Принцип действия иммунохроматографической тест-системы

2. Выявление нейтрализующих антител. В данном случае изучается способность антител вызывать нейтрализацию вируса, при этом используется SARS-CoV-2 из изолята материала от заболевших людей или рекомбинантный псевдовир (искусственно созданный вирус). При этом методе выявляется не только наличие антител, но и способность этих антител бороться с вирусом SARS-CoV-2 [19]. Так как используются не белки вируса, а живые вирусы, при данном методе необходим более высокий уровень биологической защиты помещения и персонала, он более трудоемкий, чем предыдущие методы, и требует более длительного времени. Этот метод применяется в научных исследованиях и незаменим при тестировании эффективности новых вакцин для профилактики COVID-19. Эффективность вакцин оценивается не только по способности вакцины вызывать выработку антител в организме, но и способностью этих антител нейтрализовать вирус SARS-CoV-2.

Чувствительность и специфичность тестов на антитела

В России в открытых официальных источниках не опубликована сводная информация производителей тестов об их чувствительности и специфичности. Однако, например, на сайте Европейского диагностического центра дана информация, что у теста, используемого в данной лаборатории, чувствительность на антитела IgG составляет 91,7%, а специфичность – 97,3% [20].

На сайте Администрации по контролю качества лекарства и пищевых продуктов (Food and Drug Administration – FDA) США содержится полная официальная информация о каждом зарегистрированном тесте на антитела к SARS-CoV-2: чувствительность, специфичность, ППЗ и ОПЗ при распространенности заболевания 5%, а также необходимые инструкции для врачей и пациентов. Например, чувствительность теста «Эббот Алинити» Abbott Alinity SARS-CoV-2 IgG составляет 100%, а его специфичность – 99% [21].

Показание к назначению и порядок сбора тестов на антитела

Показания к назначению анализа на антитела к коронавирусу, как и диагностика ПЦР, определены во Временных методических рекомендациях Минздрава России. Этот метод в РФ считается вспомогательным для диагностики коронавирусной инфекции: *«Результаты обнаружения IgG к SARS-CoV-2 будут иметь значение для установления факта перенесенной ранее инфекции, выявления медицинских работников и лиц из других групп населения с высоким иммунитетом, а также для отбора потенциальных доноров иммунокомпетентной плазмы. Лабораторное обследование на наличие IgG к SARS-CoV-2 с помощью зарегистрированных наборов реагентов рекомендуется проводить всем медицинским работникам, которым не проводилось такое исследование ранее, или если был получен отрицательный результат. Рекомендуется проводить тестирование всех пациентов, поступающих в медицинские организации для оказания плановой медицинской помощи, на наличие IgM и IgG к SARS-CoV-2 с помощью зарегистрированных экспресс-тестов».*

Как и в РФ, за рубежом сегодня тесты на определение антител к SARS-CoV-2 считаются вспомогательным методом исследования и применяются в случае отрицательного теста ПЦР, и в случае мультисистемного воспалительного синдрома у детей (синдром Кавасаки) Центром по контролю за заболеваниями (Center of Disease Control – CDC) в США также признается, что серологические исследования могут играть роль в понимании трансмиссии вируса в популяции и определении групп высокого риска инфекции. Считается, что, в отличие от исследований вируса методом ПЦР, исследование антител может выявить людей, контактировавших с вирусом ранее и не имевших симптомов заболевания COVID-19.

Относительно сбора и транспортировки сыворотки крови при исследовании на новую коронавирусную инфекцию COVID-19 в РФ действуют Методические рекомендации МР 3.1.0169-20 с изменениями от 30.04.2020 «Лабораторная диагностика COVID-19» [16]. Сбор клинического материала и его упаковку осуществляет работник медицинской организации, обученный требованиям и правилам биологической безопасности при работе и сборе материала, подозрительного на зараженность микроорганизмами II группы патогенности. Медицинский персонал должен строго соблюдать требования биологической безопасности, соответствующие работе с микроорганизмами II группы патогенности. Сыворотка собирается в две пробы: острая фаза заболевания (первые 7 сут заболевания) и через 2 нед после острой фазы. Транспортировка образцов осуществляется при температуре 4 °С.

Интерпретация результатов серологических тестов

Начиная с первых недель пандемии COVID-19, количество публикаций, посвященных серологическому тестированию, постоянно увеличивалось. Тестирование на антитела было быстро введено в практику в разных странах. Большие надежды возлагались на популяционное тестирование на антитела, даже предлагалось выдавать людям с положительным тестом на антитела «паспорт иммунитета к COVID-19». В Москве было проведено 4 фазы скрининговых исследований на антитела к SARS-CoV-2. В начале июля 2020 г. было объявлено что, по результатам четвертого этапа ИФА-тестирования, иммунитет к коронавирусу формируется у 21,7% москвичей [22].

В конце мая 2020 г. в библиотеке Кокрейна большим коллективом авторов были опубликованы результаты систематического обзора (Cochrane Systematic Review) о тестах на антитела для идентификации текущей и прошлой инфекции COVID-19 [23]. Систематический обзор был сделан на основании 57 публикаций, 15,9 тыс. образцов, из них в 8,5 тыс. случаев подтверждено заражение вирусом SARS-CoV-2. Исследования проводились в Азии, Европе и США. Объединенные результаты показали, что концентрация IgG, IgM, IgA в первую неделю после появления симптомов была низкой (антитела выявлены только у 30% пациентов с инфекцией). Концентрация антител постепенно увеличивалась со второй недели (антитела обнаруживались у 70% исследуемых) и достигала своего пика на третьей неделе (90%). Исследований на

антитела к вирусу SARS-CoV-2 после 35 дней от начала инфекции на данный момент недостаточно.

Выводы авторов Кокрейновского обзора: способность теста на антитела определить заболевание у тех, кто действительно его имеет, в течение первой недели после появления симптомов была низкой, соответственно, этот тест не может являться маркером заболевания в этот период. Значимость этих тестов растет в следующие недели, особенно после 15 и более дней после начала симптомов, когда ПЦР-тест становится отрицательным. Также исследование на антитела важно в случаях, когда при наличии симптомов заболевания новой коронавирусной инфекцией COVID-19 ПЦР-тест показывает отрицательный результат или вообще у данного больного не проводился. Тем не менее длительность антительного ответа организма человека в ответ на воздействие вируса SARS-CoV-2 на данный момент неизвестна (так как мало исследований по антительному ответу после 35 сут заболевания). Именно поэтому исследователи не могут точно сказать о возможности применения этих тестов для оценки распространенности инфекции в популяции. По мнению авторов данного обзора, чувствительность тестов определялась в основном у госпитализированных пациентов. В настоящее время недостаточно данных, чтобы определить, способны ли данные тесты выявлять более низкие концентрации антител, характерные для легких и асимптоматических случаев новой коронавирусной инфекции (COVID-19).

В рекомендациях Роспотребнадзора от 20 мая 2020 г. были даны пояснения по поводу применения экспресс-тестов диагностики антител к SARS-CoV-2 в связи с широкой продажей данного типа тестов в некоторых торговых сетях для домашнего применения. Там подчеркивается, что положительный результат тестов может быть связан как с текущим штаммом коронавируса, так и с другими ранее выявленными типами коронавируса, такими как HKU1, NL63, OC43, 229E, которые ранее могли вызвать нетяжелые респираторные заболевания [24]. Экспресс-тесты являются скрининговыми и не рекомендованы для лабораторной диагностики COVID-19. Как и во всех диагностических тестах, полученные результаты должны рассматриваться вместе с другой клинической информацией, доступной врачу. Экспресс-тесты не применимы в бытовых (домашних) условиях и не могут быть проданы и использованы пациентами и их семьями. Ни количественное значение, ни скорость увеличения концентрации антител IgG или IgM к COVID-19 с помощью экспресс-тестов не определяются.

Таким образом, экспресс-тесты рекомендуются для скрининговых исследований, однако на настоящий момент существуют сомнения как у ученых, так и у регуляторных органов (Роспотребнадзор) в чувствительности и специфичности экспресс-тестов. Для лабораторной диагностики содержания антител к вирусу SARS-CoV-2 рекомендуется использовать количественное определение антител методом ИФА.

В последние месяцы появляются данные, что уровень антител к SARS-CoV-2 снижается у больных в течение нескольких месяцев после заболевания. Например, 11

июля 2020 г. исследователями из Великобритании были опубликованы данные, что у пациентов с подтвержденной ПЦР инфекцией COVID-19 антитела значительно снижаются через 90 дней наблюдения [25]. В исследовании Ai-Long Huang и соавт. из Китая показано, что в раннем восстановительном периоде антитела исчезают у 40% асимптоматических пациентов, в то время как у больных с клиническими симптомами они исчезают только у 13% [26]. Это может говорить о том, что у асимптоматических пациентов иммунитет после перенесенной инфекции не долгосрочный.

Однако отсутствие антител у пациента не всегда означает отсутствие иммунного ответа. В организме сохраняются Т-клетки памяти, которые могут генерировать иммунный ответ. Например, 22 июня 2020 г. было опубликовано исследование Flogiane Gallais и соавт., в котором показано наличие таких клеток [27]. Шведские ученые также доложили, что они обнаружили активацию Т-лимфоцитов у пациентов с острой фазой COVID-19, а также формирование специфичных к SARS-CoV-2 Т-клеток памяти [28].

3. Особенности лабораторной диагностики новой коронавирусной инфекции у медицинских работников

Вопросы порядка диагностики COVID-19 у медицинских работников описаны в следующих документах.

В постановлении Главного государственного санитарного врача РФ от 30.03.2020 № 9 «О дополнительных мерах по недопущению распространения COVID-2019» в пункте 1.5 написано, что по отношению к медицинским работникам необходимо *«обеспечить обязательное проведение лабораторного обследования на COVID-2019 следующих категорий лиц: ...медицинских работников, имеющих риски инфицирования COVID-2019 на рабочих местах, – 1 раз в неделю, а при появлении симптомов, не исключаящих COVID-2019, – немедленно»* [29].

На местах данное постановление должны исполнять руководители высшего исполнительного органа государственной власти субъектов РФ и затем руководители медицинских учреждений.

Перечень медицинских работников, имеющих риски инфицирования, у которых обязательно обследование 1 раз в неделю, приводится в постановлении Главного государственного санитарного врача РФ от 22.05.2020 № 15 «Об утверждении санитарно-эпидемиологических правил СП 3.1.3597-20 „Профилактика новой коронавирусной инфекции (COVID-19)“», в пункте 5 описано: «Работники медицинских организаций, имеющие риски инфицирования (персонал скорой (неотложной) медицинской помощи, инфекционных отделений, обсерваторов и специализированных отделений) обследуются 1 раз в неделю на COVID-19 методом полимеразной цепной реакции. При выявлении среди работников медицинских организаций лиц с положительными результатами на COVID-19 они изолируются или госпитализируются (по состоянию здоровья), в отношении лиц,

контактировавших с больными COVID-19, проводятся противоэпидемические мероприятия. Обследование на COVID-19 не проводится медицинским работникам, имеющим антитела IgG, выявленные при проведении скрининговых обследований. При появлении симптомов респираторного заболевания работники медицинских организаций подлежат изоляции или госпитализации в медицинскую организацию инфекционного профиля (по состоянию здоровья) и обследованию» [15].

Кроме того, согласно Временным рекомендациям Минздрава России (версия 7 от 03.06.2020), при обращении в медицинские организации лабораторному обследованию на наличие РНК SARS-CoV-2 подлежат пациенты без признаков ОРВИ «при наличии профессиональных контактов с биоматериалом от пациентов с COVID-19 и лиц с подозрением на данное заболевание (врачи, специалисты с высшим профессиональным (немедицинским) образованием, средний и младший медицинский персонал)» [1]. Медицинский работник, переболевший COVID-19, может выйти на работу после 2 отрицательных тестов на РНК SARS-CoV-2, взятых с промежутком не менее 1 сут.

Тестирование медицинских работников в США проводится в следующих ситуациях, согласно рекомендациям Центра по контролю за заболеваниями в США [30]:

- обязательное и срочное тестирование в случае симптомов COVID-19 у медицинского работника;
- тестирование сотрудников без симптомов в случае подтвержденного или возможного воздействия SARS-CoV-2;
- тестирование сотрудников без симптомов, если даже не установлено воздействие SARS-CoV-2 в особых условиях, например в домах престарелых;
- тестирование для определения, когда зараженный сотрудник может вернуться к работе.

Для определения времени возвращения сотрудника на работу предлагается несколько вариантов в зависимости от сроков появления симптомов или результатов тестов:

- медицинский работник может приступить к работе через 3 дня после нормализации температуры тела и исчезновения других симптомов, но не ранее чем через 10 дней после появления первых симптомов;
- при двух отрицательных тестах на РНК SARS-CoV-2, проведенных с разницей не менее 24ч.

Таким образом, за рубежом медицинский работник может выйти на работу после исчезновения симптомов заболевания (без проведения повторной ПЦР), в то время как в России необходимо лабораторно подтвердить отсутствие вируса методом ПЦР.

4. Направления научных исследований лабораторной диагностики COVID-19

Если основные тесты для диагностики COVID-19 (этиологические тесты и серологические тесты) в настоящее время уже разработаны и широко применяются, в

последние месяцы в научной литературе обсуждаются новые направления, связанные с тестированием.

4.1. Исследование сточных вод на РНК SARS-CoV-2

Вирус SARS-CoV-2 обнаруживается в фекалиях зараженных людей. Для вируса атипичной пневмонии SARS-CoV-1 в 2002 г. фекально-оральный путь заражения рассматривался как один из возможных. В частности, в 2002 г. в одном жилом комплексе в Гонконге 300 человек заразились атипичной пневмонией и 24 умерли вследствие неисправности системы канализации [31]. В последние 2 мес появляются данные об обнаружении нового коронавируса SARS-CoV-2 в сточных водах населенных пунктов. Так, 22 мая 2020 г. исследователь из США Jordan Peccia и соавт. доложили, что они обнаружили РНК вируса SARS-CoV-2 в осадке сточных вод северо-восточных регионов США [32]. При этом концентрация вируса коррелировала с распространенностью эпидемии в конкретном городе и количеством госпитализаций в больницы пациентов с COVID-19. При этом было четко отмечено, что концентрация вируса в сточных водах возрастает за 7 дней до подъема заболеваемости. За прошедшие полтора месяца в разных странах (США, Финляндия, Австралия, Нидерланды и др.) были организованы программы с исследованием сточных вод на содержание РНК вируса SARS-CoV-2. В настоящее время в США предлагается национальная стратегия тестирования сточных вод для исследования эпидемиологии распространения вируса SARS-CoV-2 [33]. Хотя РНК нового коронавируса SARS-CoV-2 обнаруживается в фекалиях заболевших людей, до последнего времени живой вирус из них не выделен, поэтому фекально-оральный путь заражения в настоящий момент для SARS-CoV-2 считается недоказанным.

4.2. Математические методы для популяционных исследований (метод «пуллинга»)

10 июля в Nature вышла публикация «Математические стратегии, которые могут изменить подходы к тестированию на коронавирус» («The mathematical strategy that could transform coronavirus testing») [34]. В ней подробно описан метод тестирования новой коронавирусной инфекции, который экономит средства индивидуальной защиты (СИЗ), время и ресурсы. Он получил название «пуллинга» (объединение, группировка). Существует 4 разновидности данного метода (рис. 6).

Метод 1

Все образцы распределяются в три равные группы. В группе с положительным результатом тестируется каждый образец.

первый раунд:
3 группы по 9 образцов



второй раунд: тестирование каждого образца из группы



Метод 2

Добавляется еще один раунд к Методу 1 для уменьшения общего количества тестов.

первый раунд 3 теста



второй раунд 3 теста



третий раунд 3 теста



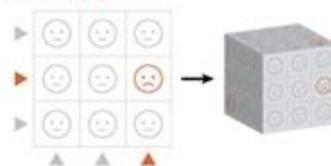
Метод 3

Во втором раунде образцы тестируются в множественных перекрывающихся группах, представляющих собой ряды и колонки квадрата.

первый раунд 3 теста



второй раунд 6 тестов



Метод 4

Метод использует один раунд тестирования. Образцы распределены в матрице перекрывающихся групп.



©nature

Рис. 6. Четыре разновидности метода тестирования «пуллинга»

Методы 1 и 2: метод Роберта Дорфмана (Robert Dorfman)

Формируются одинаковые по числу индивидуальных образцов группы на SARS-CoV-2, собранные из носоглотки, **смешиваются и тестируются одновременно**. Отрицательные группы далее исключаются. Положительные – исследуются индивидуально. Размер группы определяется, исходя из распространенности вируса в популяции. Можно еще перед тестированием индивидуально сделать второй и даже третий раунд группировки и смешивания образцов.

Например, в Ухани (Китай) в мае 2020 г. при проведении массового тестирования (10 млн человек за 2 недели!) образцы от 2,3 млн человек тестировались путем группировки по 5 человек, таким образом были выявлены 56 инфицированных. Этот метод наиболее эффективен при низкой распространенности инфекции – около 1%. Считается, что максимальный размер группы не должен превышать 30 человек.

Метод 3: многомерный (Multi-dimensions)

Представьте себе квадрат с 9 ячейками на каждой стороне, при этом каждая ячейка представляет индивидуальный образец теста. Вместе группируются и тестируются образцы из каждого ряда и также из каждой колонки. Таким образом, каждый образец попадает и в группу из колонки, и в группу ряда. Если появляется положительный тест, то его легче идентифицировать.

Метод 4: одноступенчатый (One-step solution)

При этом методе экономится время на ожидание результатов после первого раунда тестирования, правда, необходимо проводить больше тестов одновременно. Этот метод базируется на модели распределения, которая известна как триплеты Киркмана (Kirkman triples). Для смешивания образцов требуется специальная компьютерная программа для лаборантов. Должно получиться так, чтобы каждый групповой тест содержал одинаковое число образцов, а каждый индивидуальный образец попадал в группу одинаковое число раз, то есть тестировался равное число раз.

21 июля в США Администрацией по лекарствам и пищевым продуктам метод «пуллинга» был рекомендован к применению для сокращения расходов на тестирование [36].

5. Разработка национальных стратегий тестирования и сероскрининга

В настоящее время в разных странах мира разрабатываются общенациональные стратегии тестирования на SARS-CoV-2. Нами исследованы следующие страны: Россия, США, Великобритания, Швеция, Южная Корея. Сводная информация данных по этим странам представлена в табл. 3.

Табл. 3. Национальные рекомендации по проведению лабораторного тестирования новой коронавирусной инфекции COVID-19 в России, США, Великобритании, Швеции и Южной Корее

Показатель	Россия [1, 24]	США [37–40]	Великобритания [41, 42]	Швеция [43, 44]	Южная Корея [45]
Показания к обязательному проведению ПЦР	<ul style="list-style-type: none"> - Возвращение из-за границы; - медицинские работники с риском инфицирования; - контактировавшие с больным COVID-19; - ОРВИ и пневмония; - работники социального обслуживания, детских домов, ФСИН; - рождение от матери с COVID-19; - при вспышке в детских учреждениях 	<p>Определяются на уровне <u>штата и муниципального образования</u></p> <p>В Калифорнии:</p> <ul style="list-style-type: none"> - госпитализированные пациенты; - медицинские работники; - работники отраслей, обеспечивающих жизнедеятельность (essential workers); - контактировавшие с больными; - больные с симптомами ОРВИ; - пациенты домов престарелых и других социальных учреждений 	<ul style="list-style-type: none"> - Пациенты с симптомами COVID-19; - контактировавшие в семье с больными COVID-19; - пациенты перед госпитализацией; - проживающие в отдельных районах, где высокое количество зараженных; - медицинские и социальные работники; - работники отраслей, обеспечивающих жизнедеятельность, и работники закрытых учреждений (тюрьмы и др.). <p>Есть специальный список профессий <u>essential workers</u>, например:</p> <ul style="list-style-type: none"> • <u>работники железных дорог</u>; • священнослужители; • журналисты 	<ul style="list-style-type: none"> - Пациенты с симптомами COVID-19; - контактировавшие с COVID-19; - работники отраслей, обеспечивающих жизнедеятельность 	<ul style="list-style-type: none"> - Пациенты с симптомами COVID-19; - контактировавшие с больными COVID-19; - работники отраслей, обеспечивающих жизнедеятельность. <p>Действуют передвижные скрининговые станции по всей стране, включая забор тестов из машин и на улице</p>
Показания к тестированию на антитела и наличие национальных рекомендаций по	<ul style="list-style-type: none"> - Факт перенесенной инфекции; - выявление медицинских работников и лиц из других групп населения с IgG; 	<p>Применяется только для диагностики прошедшей инфекции и для донорства плазмы.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Медицинские работники; - госпитализированные пациенты; 	<p>Существует национальное руководство по оценке популяционного иммунитета</p>	<p>Официальных рекомендаций нет, но проводится много научных исследований, в том числе скрининг исследования на</p>

проведению серологических тестов	- отбор доноров плазмы. Нет национальной стратегии серотестирования. Тестирование на уровне регионов, например в Москве	Национальная программа серотестирования под руководством CDC «Serology Surveillance»	- клиенты домов престарелых		наличие нейтрализующих антител
Наличие единого центра по обработке результатов диагностических исследований	Результаты ПЦР – Роспотребнадзор. Результаты тестирования на антитела: на уровне регионов, например в Москве	Центр по контролю над заболеваниями (Center of Diseases Control)	Министерство здравоохранения	Агенство по общественному здоровью в структуре Министерства здравоохранения (The Public Health Agency)	Корейский центр по контролю за заболеваниями в структуре Министерства здравоохранения. Центральная штаб-квартира по противодействию эпидемии на уровне правительства страны
Эпидемиологические данные на 21.07.2020					
Общее количество ПЦР-тестов, млн	25,4	49,4	13,6	0,68	1,5
Количество ПЦР-тестов на 1000 населения	173	149	135	67	28
Общее число выявленных случаев новой коронавирусной инфекции	783 328	3 986 603	295 817	78 166	13 879
Число выявленных случаев новой коронавирусной инфекции на 1 млн населения	5336	12 203	4 451	7682	269
Смертность от новой коронавирусной инфекции на 100 тыс. населения	8,6	44,2	68,4	55,5	0,6

Во всех рассмотренных странах (Россия, США, Великобритания, Швеция, Южная Корея) разработаны национальные рекомендации по ПЦР-диагностике и чаще всего выделены группы людей, для которых это исследование обязательно. В США, в отличие от других стран, показания к тестированию определяются не на национальном уровне, а на уровне регионов и муниципальных образований. В Южной Корее дополнительно организована широкая сеть «скрининговых станций», где любой желающий может сдать тест на SARS-CoV-2, и действует активная система оповещения о возможности проведения тестирования. В Великобритании существует список «essential workers», то есть список работников отраслей, обеспечивающих жизнедеятельность, которые должны регулярно проходить тестирование (например, работники транспорта, журналисты, священнослужители).

Серологическая диагностика в большинстве стран применяется только для обнаружения прошедшей инфекции и целей донорства. Сегодня этот метод не применяется для оценки индивидуального или популяционного иммунитета. Исключение составляет Швеция, где существует специальное государственное «Руководство по оценке иммунитета».

Во всех рассматриваемых странах создан единый центр по обработке результатов диагностических тестов.

Таким образом, в России и за рубежом прилагаются активные усилия по консолидации лабораторной диагностики SARS-CoV-2 на уровне страны и развития новых, более оптимальных методик тестирования.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Список нормативных документов по назначению и сбору материала для диагностики COVID-19

1. Приказ Минздрава России от 19.03.2020 № 198н (в ред. от 27.03.2020 и от 02.04.2020) «О временном порядке организации работы медицинских организаций в целях реализации мер по профилактике и снижению рисков распространения новой коронавирусной инфекции COVID-19».
2. Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 22.05.2020 № 15 «Об утверждении санитарно-эпидемиологических правил СП 3.1.3597-20 „Профилактика новой коронавирусной инфекции (COVID-19)“» .
3. Временные методические рекомендации Минздрава России «Профилактика, диагностика и лечение коронавирусной инфекции (COVID-19)». Версия 7 от 03.06.2020.
4. Методические рекомендации МР 3.1.0169-20 «Лабораторная диагностика COVID-19».

5. Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 30.03.2020 № 9 «О дополнительных мерах по недопущению распространения COVID-2019».

ПРИЛОЖЕНИЕ 2

Группы лиц по приоритету лабораторного исследования новой коронавирусной инфекции COVID-19 [Санитарно-эпидемиологические правила СП 3.1.3597-20 «Профилактика новой коронавирусной инфекции (COVID-19)»]

3.1. В целях оперативной организации проведения исследований и противоэпидемических мероприятий лабораторное обследование лиц в условиях распространения COVID-19 проводится исходя из следующих приоритетов:

3.1.1. К приоритету 1-го уровня относится проведение лабораторных исследований и противоэпидемических мероприятий в отношении:

- лиц, прибывших на территорию Российской Федерации с наличием симптомов инфекционного заболевания (или при появлении симптомов в течение периода медицинского наблюдения);
- лиц, контактировавших с больным COVID-19, при появлении симптомов, не исключающих COVID-19, в ходе медицинского наблюдения и при отсутствии клинических проявлений на 8–10-й календарный день медицинского наблюдения со дня контакта с больным COVID-19;
- лиц с диагнозом «внебольничная пневмония»;
- работников медицинских организаций, имеющих риск инфицирования при профессиональной деятельности при появлении симптомов, не исключающих COVID-19;
- лиц, при появлении респираторных симптомов находящихся в интернатах, детских домах, детских лагерях, пансионатах для пожилых и других стационарных организациях социального обслуживания, учреждениях уголовно-исполнительной системы.

3.1.2. К приоритету 2-го уровня относится проведение лабораторных исследований и противоэпидемических мероприятий в отношении:

- лиц старше 65 лет, обратившихся за медицинской помощью с респираторными симптомами;
- работников медицинских организаций, имеющих риск инфицирования при профессиональной деятельности (лабораторные исследования проводятся 1 раз в неделю до появления иммуноглобулина G (далее – IgG);

– работников стационарных организаций социального обслуживания населения, учреждений уголовно-исполнительной системы при вахтовом методе работы до начала работы в организации с целью предупреждения заноса COVID-19.

3.1.3. К приоритету 3-го уровня относится проведение лабораторных исследований и противоэпидемических мероприятий в отношении детей из организованных коллективов при возникновении 3 и более случаев заболеваний, не исключаящих COVID-19 (обследуются как при вспышечной заболеваемости).

Список литературы

1. Временные методические рекомендации Минздрава России «Профилактика, диагностика и лечение коронавирусной инфекции (COVID-19)». Версия 7 от 03.06.2020. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://static-0.rosminzdrav.ru/system/attachments/attaches/000/050/584/original/03062020_%D0%9CR_COVID-19_v7.pdf.
2. Информация Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека от 8.06.2020 «О видах исследований на новую коронавирусную инфекцию COVID-19». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.rospotrebnadzor.ru/about/info/news/news_details.php?ELEMENT_ID=14612.
3. Testing for COVID-19 // Center of Disease Control. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/symptoms-testing/testing.html>.
4. Summary of Types of Molecular and Antigen Tests Being Developed for SARS-CoV-2. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.centerforhealthsecurity.org/resources/COVID-19/molecular-based-tests/>.
5. Презентация. Временные методические рекомендации Минздрава России «Профилактика, диагностика и лечение коронавирусной инфекции (COVID-19)». Версия 5 от 08.04.2020. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://static-1.rosminzdrav.ru/system/attachments/attaches/000/050/143/original/COVID-19-V6.pdf>.
6. Sethuraman N., Stanleyraj S., Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2 // JAMA. – 2020. – Vol. 323, N 22. – P. 2249–2251. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [doi:10.1001/jama.2020.8259](https://doi.org/10.1001/jama.2020.8259).
7. Аннотация генома нового коронавируса. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://pcr.news/novosti/annotatsiya-genoma-novogo-koronavirusa/>.
8. Полимеразная цепная реакция. Описание. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://biomolecula.ru/articles/metody-v-kartinkakh-polimeraznaia-tsepnaiia-reaktsiia>.

9. Перечень зарегистрированных тест-систем для выявления коронавирусной инфекции. Российский союз промышленников и предпринимателей. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://xn--o1aabe.xn--p1ai/events/news/perechen-test-sistem-dlya-vyyavleniya-koronavirusnoy-infektsii/>.
10. Изотерм SARS-CoV-2 РНК-скрин. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.generium.ru/products/izoterm-sars-cov-2-rnk-skrin/>.
11. Эксперт Минздрава России оценил частоту ложноотрицательных тестов на SARS-CoV-2 в 2–30%. Медвестник. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://medvestnik.ru/content/news/Chastota-lojnotricatelnyh-rezultatov-testov-na-SARS-CoV-2-20-30.html>.
12. Чувствительность тест-систем на COVID-19 достигает 99%. Ремедиум. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://remedium.ru/news/chuvstvitelnost-test-sistem-na-covid-19-dostigaet/>.
13. Kucirka L.M., Lauer S.A., Laeyendecker O. et al. Variation in false-negative rate of reverse transcriptase polymerase chain reaction-based SARS-CoV-2 tests by time since exposure. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: Published online May 13, 2020. doi:10.7326/M20-1495.
14. Специфические методы диагностики коронавирусной инфекции в России. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://pcr.news/webinars/metody_laboratornoy_diagnostiki_COVID19/.
15. Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 22.05.2020 № 15 «Об утверждении санитарно-эпидемиологических правил СП 3.1.3597-20 “Профилактика новой коронавирусной инфекции (COVID-19)”». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/74077903/>.
16. Методические рекомендации МР 3.1.0169-20 «Лабораторная диагностика COVID-19». Роспотребнадзор. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.rospotrebnadzor.ru/upload/iblock/884/metod_recomed_3.1.0169_20_v_1.pdf.
17. Методы лабораторной диагностики вирусных инфекций. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://cgon.rospotrebnadzor.ru/content/65/1993/>.
18. Принцип действия иммунохроматографической тест-системы. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://biotst.ru/ru/technology/lateral-flow>.
19. Interim Guidelines for COVID-19 Antibody Testing. Center of Diseases Control. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/antibody-tests-guidelines.html>.
20. Чувствительность и специфичность тестов на антитела к COVID-19. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://edc.ru/ru/pages/test-na-antitela-igm-i-igg-k-koronavirusu.html>.

21. EUA Authorized Serology Test Performance. FDA. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.fda.gov/medical-devices/emergency-situations-medical-devices/eua-authorized-serology-test-performance>.
22. Иммунитет к коронавирусу обнаружили у почти 22% москвичей. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.interfax.ru/moscow/716866>.
23. Deek J. et al. Antibody tests for identification of current and past infection with SARS-CoV-2 (Review). Cochrane Systematic Review. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: Diagnostic Version published: 25 June 2020.
<https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD013652/full>.
24. Информационное письмо Роспотребнадзора по поводу применения экспресс-тестов на антитела к SARS-CoV-2 от 20.05.2020. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.roszdravnadzor.ru/i/upload/images/2020/5/25/1590402036.36755-1-111183.pdf>.
25. Doores K.J. et al. Longitudinal evaluation and decline of antibody responses in 1 SARS-CoV-2 infection. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: medRxiv preprint doi: <https://doi.org/10.1101/2020.07.09.20148429>.
26. Ai-Long Huang et al. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. Nature Medicine. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0965-6>
<https://doi.org/10.1038/s41591-020-0965-6>.
27. Gallais F. et al. Intrafamilial Exposure to SARS-CoV-2 Induces Cellular Immune Response without Seroconversion. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.06.21.20132449v1.full.pdf>.
28. Buggert M. et al. Robust T cell immunity in convalescent individuals with asymptomatic or mild COVID-19. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1101/2020.06.29.174888>.
29. Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 30.03.2020 № 9 «О дополнительных мерах по недопущению распространения COVID-2019». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/73724082/>.
30. Interim Guidance on Testing Healthcare Personnel for SARS-CoV-2. Center of Disease Control. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/testing-healthcare-personnel.html>.
31. Jack J. Drainage design: factors contributing to Sars transmission // Proc. Inst. Civ. Eng.: Municip. Eng. – 2006. – Vol. 159, N 1. – P. 43–48.
32. SARS-CoV-2 RNA concentrations in primary municipal sewage sludge as a leading indicator of COVID-19 outbreak dynamics. Jordan Peccia. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: medRxiv preprint doi: <https://doi.org/10.1101/2020.05.19.20105999>.

33. It's time to begin a national wastewater testing program for Covid-19. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.statnews.com/2020/07/09/wastewater-testing-early-warning-covid-19-infection-communities/>.
34. The mathematical strategy that could transform coronavirus testing. Smriti Mallapaty. Nature. 10.07.2020. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.nature.com/articles/d41586-020-02053-6>.
36. Coronavirus (COVID-19) Update: FDA Issues First Emergency Authorization for Sample Pooling in Diagnostic Testing. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/coronavirus-covid-19-update-fda-issues-first-emergency-authorization-sample-pooling-diagnostic>.
37. Testing for COVID-19. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/symptoms-testing/testing.html>.
38. Testing and treatment. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://covid19.ca.gov/testing-and-treatment/#top>.
39. COVID-19 Serology Surveillance Strategy. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/covid-data/serology-surveillance/index.html>.
40. Testing Data in the U.S. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/cases-updates/testing-in-us.html>.
41. Coronavirus (COVID-19): getting tested. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.gov.uk/guidance/coronavirus-covid-19-getting-tested>.
42. Largest testing programme for coronavirus publishes its initial findings. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.gov.uk/government/news/largest-testing-programme-for-coronavirus-publishes-its-initial-findings>.
43. FAQ about COVID-19. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.folkhalsomyndigheten.se/the-public-health-agency-of-sweden/communicable-disease-control/covid-19/>.
44. Руководство по оценке иммунитета после заражения COVID-19 (на шведском языке). <https://www.folkhalsomyndigheten.se/publicerat-material/publikationsarkiv/v/vagledning-for-bedomning-av-immunitet-efter-infektion-med-covid-19/>.
45. COVID-19 Response. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://ncov.mohw.go.kr/en/baroView.do?brdId=11&brdGubun=111&dataGubun=&ncvContSeq=&contSeq=&board_id=.