



ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА КОРОНАВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ

*Навчальний посібник
з дисципліни «Мікробіологія, вірусологія
та імунологія»
для студентів II–III курсів
медичного та стоматологічного факультетів*

За редакцією М. М. Мішиної

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
Харківський національний медичний університет

ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА КОРОНАВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ

*Навчальний посібник
з дисципліни «Мікробіологія, вірусологія
та імунологія»
для студентів II–III курсів
медичного та стоматологічного факультетів*

За редакцією М. М. Мішиної

**Харків
ХНМУ
2023**

УДК 616.98:578.834.1COVID-19]-074/-078(075.8)

Л12

Затверджено Вченою радою ХНМУ.

Протокол № 7 від 30.06.2023.

Авторський колектив

М. М. Мішина, О. В. Кочнева,

О. В. Коцар, Ю. М. Калашник-Вакуленко

Рецензенти

Н. І. Філімонова – д-р мед. наук (НФаУ).

С. Г. Маланчук – канд. біол. наук (ХНУ ім. В.Н. Каразіна)

Л12 Лабораторна діагностика коронавірусної інфекції : навч. посіб. з дисципліни «Мікробіологія, вірусологія та імунологія» для студентів II–III курсів мед. та стомат. фак-тів / М. М. Мішина, О. В. Коцар, О. В. Кочнева, Ю. М. Калашник-Вакуленко ; за ред. М. М. Мішиної. Харків : ХНМУ, 2023. 44 с.

У навчальному посібнику міститься інформація про морфологію та ультраструктуру збудників, що спричиняють коронавірусну інфекцію, наведена сучасна таксономія і класифікація, розглянуті питання патогенезу, епідеміології, клініки, імунної відповіді, описані методи лабораторної діагностики та профілактики інфекційних захворювань, зумовлених коронавірусами.

Навчальний посібник відповідає програмі, затвердженій МОЗ України, призначений для студентів медичних та стоматологічних факультетів ЗВО III–IV рівня акредитації.

УДК 616.98:578.834.1COVID-19]-074/-078(075.8)

© Харківський національний
медичний університет, 2023

© М. М. Мішина, О. В. Коцар, О. В. Кочнева,
Ю. М. Калашник-Вакуленко, 2023

ЗМІСТ

Вступ	4
Таксономія коронавірусів.....	4
Історія відкриття коронавірусів	5
Біологічні властивості вірусу SARS-CoV-2	6
Патогенез COVID-19.....	8
Епідеміологія COVID-19	9
Клінічні прояви COVID-19.....	10
Синдром цитокинового шторму	12
Постковідний синдром (Post-COVID long-haule)	12
Особливості клінічних проявів COVID-19 у пацієнтів похилого віку	13
Особливості клінічних проявів COVID-19 у дітей.....	13
Особливості ведення вагітних із COVID-19	15
Диференційна діагностика COVID-19.....	16
Лабораторна діагностика COVID-19	17
Променева діагностика при COVID-19	30
Лікування COVID-19	32
Критерії одужання пацієнтів із COVID-19	34
Специфічна профілактика	34
Неспецифічна профілактика.....	36
Теоретичні питання.....	37
Практичні завдання, які виконуються на занятті	37
Тестові завдання	37
Література	41

Вступ

Коронавірусна інфекція (COVID-19) – це гостре інфекційне захворювання, що спричиняється новим штамом вірусу сімейства коронавірусів SARS CoV-2.

Пандемія COVID-19 призвела до глобальних проблем у галузі охорони здоров'я багатьох країн. Швидке розповсюдження захворювання, високий рівень смертності та розвиток важких ускладнень поставили завдання перед фахівцями, пов'язані зі швидкою діагностикою та наданням медичної допомоги хворим. Найбільш частим клінічним проявом нового варіанта коронавірусної інфекції є двостороння пневмонія (вірусне дифузне альвеолярне ушкодження з мікроангіопатією), гостра дихальна недостатність (ГДН), у 3–4 % пацієнтів зареєстровано розвиток гострого респіраторного дистрес-синдрому (ГРДС). У деяких хворих розвивається гіперкоагуляційний синдром з тромбозами та тромбоемболіями, уражаються також інші органи та системи (центральна нервова система, міокард, нирки, печінка, шлунково-кишковий тракт, ендокринна та імунна системи).

Для запобігання подальшому розповсюдженню пандемії дослідники всіх країн продовжують інтенсивне вивчення клінічних та епідеміологічних особливостей захворювання, розробку нових засобів його профілактики та лікування.

Мета:

– *загальна*: опанувати принципи лабораторної діагностики COVID-19;

– *конкретна*:

а) *знати*: біологічні властивості, епідеміологію, патогенез, клінічні прояви, методи лікування та профілактики COVID-19;

б) *вміти*: проводити забір патологічного матеріалу від хворих, тлумачити результати лабораторних досліджень при COVID-19.

Матеріальне та методичне забезпечення теми: наочні посібники (таблиці, схеми, слайди, атлас); лабораторне обладнання (мікроскопи, імерсійне масло, дезінфікуючий розчин); технічні засоби навчання (комп'ютер, інтерактивна дошка).

Таксономія коронавірусів

Коронавіруси (Coronaviridae) – це велика родина РНК-вірусів, здатних інфікувати як тварин (їх природних хазяїв), так і людей.

За результатами серологічного та філогенетичного аналізу коронавіруси поділяються на дві підродина Letovirinae і Orthocoronavirinae, які включають чотири роди:

- Alphacoronavirus,
- Betacoronavirus,
- Gammacoronavirus,
- Deltacoronavirus.

Історія відкриття коронавірусів

До 2002 р. коронавіруси не привертали до себе особливої уваги вчених. Вірус вперше виділив у 1965 р. Джозеф Тіррелл із носоглотки пацієнта, хворого на гострий риніт. У 1975 р. коронавірус виявили Е. Каул і С. Кларк у випорожненнях дітей, які страждали на гастроентерит.

Сьогодні відомо про циркуляцію серед населення чотирьох типів коронавірусів (HCoV-229E, -OC43, -NL63 та -HKU1), які цілий рік наявні у структурі ГРВІ і, як правило, спричиняють ураження верхніх дихальних шляхів легкого та середнього ступеня тяжкості.

- HCoV-229E – Alphacoronavirus, вперше виявлений у середині 1960-х рр.

- HCoV-OC43 – Betacoronavirus, збудник виявлено у 1967 р.

- SARS-CoV – Betacoronavirus, збудник важкого гострого респіраторного синдрому, перший випадок захворювання на який був зареєстрований у 2002 р.

- HCoV-NL63 – Alphacoronavirus, збудник було виявлено в Нідерландах у 2004 р.

- HCoV-HKU1 – Betacoronavirus, збудник виявлено у Гонконгу в 2005 р.

- MERS-CoV – Betacoronavirus, збудник близькосхідного респіраторного синдрому, спалах стався у 2015 р.

- SARS-CoV-2 – Betacoronavirus, виявлений у другій половині 2019 р.

У період із 2002 по 2004 р. коронавірус SARS-CoV з роду Betacoronavirus вперше став причиною поширення епідемії, так званої атипової пневмонії – важкого гострого респіраторного синдрому (ТОРС або SARS). Захворювання стало підтвердженою причиною смерті 774 людей у 37 країнах світу. Відомо, що резервуаром цієї інфекції є кажани, а проміжні хазяї – цивети. З 2004 р. нових випадків атипової пневмонії, спричиненої SARS-CoV, не зареєстровано.

У 2012 р. на Аравійському півострові почалася чергова епідемія, спричинена коронавірусом MERS-CoV, також із роду Betacoronavirus, що викликає близькосхідний коронавірусний синдром. При цьому 82 % випадків виявлено у Саудівській Аравії. Було встановлено, що резервуаром інфекції став одногорбий верблюди. На даний момент MERS-CoV продовжує циркулювати, що призводить до нових випадків захворювання.

Наприкінці 2019 р. у Китайській Народній Республіці стався спалах нової коронавірусної інфекції з епіцентром у місті Ухань (провінція Хубей). Офіційною датою появи захворювання вважається 17 листопада 2019 р. Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ) 11 лютого 2020 р. визначила офіційну назву інфекції, викликаної новим коронавірусом, – COVID-19 (Coronavirus disease 2019). Міжнародний комітет з таксономії вірусів

11 лютого 2020 р. надав офіційну назву збуднику інфекції – SARS-CoV-2. Згодом вірус поширився на всі континенти, внаслідок чого ВООЗ оголосила про стан пандемії 11 березня 2020 року.

Біологічні властивості вірусу SARS-CoV-2

Морфологічна структура вірусу SARS-CoV-2

SARS-CoV-2 є оболонковим РНК-вірусом зі спіральним типом симетрії. Діаметр віріона становить 50–200 нм. Найчастіше віріон SARS-CoV-2 має сферичну форму, але трапляються також плеоморфні та овальні форми. На поверхні суперкапсиду є три білки: S – spike glycoprotein, що утворює пепломери і надає вірусу характерної форми корони; M – membrane glycoprotein, E – envelope. Четвертий білок – N-нуклеокапсидний фосфопротеїн, який є структурним компонентом нуклеокапсиду (рис. 1).

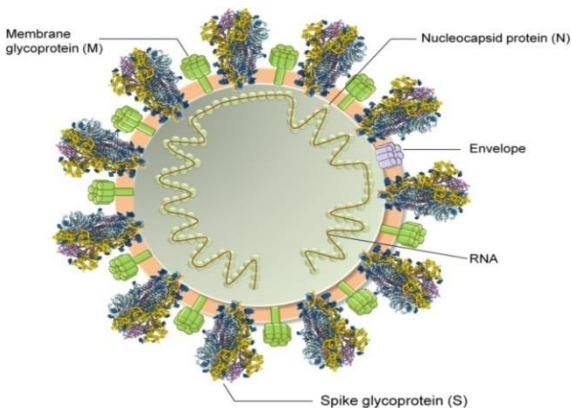


Рис. 1. Структура вірусу SARS-CoV-2

Білок S- глікопротеїн характеризується гомотримерною структурою з однією верхньою та двома нижніми конформаціями. Ідентичність амінокислотної послідовності білка S між SARS-CoV-1 та SARS-CoV-2 становить близько 75,5 %. Білок S складається з двох субодиниць (N'-кінцева S1 і C'-кінцева S2), які беруть участь у зв'язуванні з рецепторами клітини хазяїна та ендоцитозі віріона. Між ними знаходиться 4-амінокислотні ділянки, які беруть участь у розщепленні фуринового білка в процесі біосинтезу, що відрізняє SARS-CoV-2 від SARS-CoV-1. Субодиниці S1 і S2 SARS-CoV-2 мають приблизно 64 і 90 % схожості з аналогічними субодиницями SARS-CoV-1.

Структурний білок E бере участь у формуванні нових віріонів, які переважно побудовані з матеріалу клітини хазяїна. Він має у своєму складі велику кількість валіну і містить менше гуаніну та цитозину, ніж аналогічний структурний білок SARS-CoV-1.

Геном вірусу складається з одноланцюгової, лінійної, позитивно зарядженої нефрагментованої РНК, що включає від 26 до 32 тис. пар нуклеотидів. Коронавіруси мають найбільший геном серед усіх сімейств РНК-вірусів.

Реплікація вірусу SARS-CoV-2

- Проникнення вірусу в клітину за допомогою S-білка (рецептор для 2019-nCoV – ангіотензинзв’язуючий білок).
- Трансляція поліпротеїнів та процесинг реплікативного комплексу.
- Реплікація та транскрипція вірусу.
- Синтез структурних білків.
- Складання та відбрунькування вірусних частинок від ЕПР та комплексу Гольджі.
- Вихід вірусу за допомогою екзоцитозу.

Коронавіруси адсорбуються на клітині за допомогою глікопротеїну S, проникають у клітину при злитті оболонки вірусу з ЦПМ клітини або за допомогою рецепторного ендоцитозу (рис. 2).

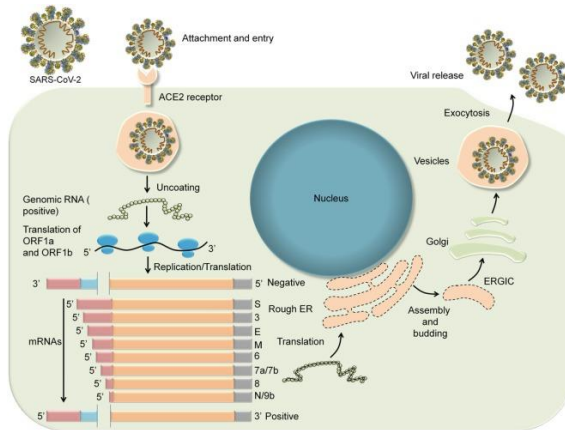


Рис. 2. Цикл реплікації SARS-CoV-2

Геномна РНК зв’язується з рибосомами і служить як іРНК при синтезі РНК-залежної РНК-полімерази, яка потім зчитує геномну РНК, синтезуючи мінус-нитку повної довжини. При зчитуванні мінус-нитки РНК синтезується нова геномна плюс-нитка РНК і набір з 5–7 субгеномних іРНК. При трансляції кожної субгеномної іРНК утворюється білок. Білок N зв’язується в цитоплазмі з геномною РНК, у результаті синтезується спіральний нуклеокапсид.

Глікопротеїни S і M, або E1, E2, переносяться в ендоплазматичну сітку і апарат Гольджі. Нуклеокапсид відбруньковується через мембрани всередину шорсткої ендоплазматичної сітки, що містить глікопротеїни S і M. Віріони транспортуються у везикулах до мембрани клітини. Далі віріони виходять із клітини шляхом екзоцитозу.

Культивування. Віруси культивують на культурі клітин: клітини HeLa, що перевиваються; первинно-трипсинізовані культури клітин нирок ембріона свині.

Резистентність. Стійкість у навколишньому середовищі низька:

- гине під впливом УФО;
- дезінфекційних засобів;
- при нагріванні до 40 °С гине протягом 1 год;
- при нагріванні до 56 °С гине протягом 30 хв;
- на поверхні предметів при 18–25 С зберігає життєздатність від 2 до 48 год.

Патогенез COVID-19

Вхідні ворота збудника – епітелій верхніх дихальних шляхів та епітеліоцити шлунка та кишечника. Початковим етапом зараження є проникнення SARS-CoV-2 у клітини-мішені, що мають рецептори ангіотензинперетворюючого ферменту II типу (ACE2). Основною та швидко досяжною мішенню є альвеолярні клітини II типу (AT2) легень, що визначає розвиток пневмонії. Також обговорюється роль CD147 в інвазії клітин SARS-CoV-2. Дисемінація SARS-CoV-2 із системного кровотоку або через пластинку решітчастої кістки (Lamina cribrosa) може призвести до ураження головного мозку.

Гіпосмія у хворого на ранній стадії захворювання може свідчити про ураження ЦНС.

Розвивається дифузне альвеолярне ушкодження. Вірус викликає підвищення проникності мембран клітин і посилений транспорт рідини, багатой на альбумін, в інтерстиціальну тканину легені і просвіт альвеол. Розвивається інтерстиціальний та альвеолярний набряк. При цьому руйнується сурфактант, що веде до колапсу альвеол, внаслідок різкого порушення газообміну розвивається гострий респіраторний дистрес-синдром (рис. 3).

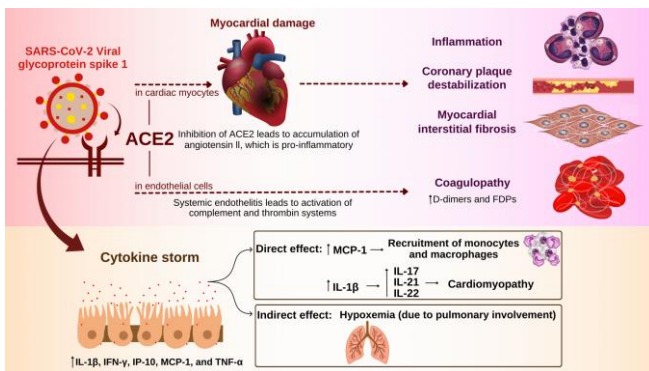


Рис. 3. Патогенез COVID-19

Ексудативна (гостра) стадія. Пошкодження альвеоцитів I типу → підвищення проникності альвеоло-капілярної мембрани клітин → інтерстиціальний та альвеолярний набряк → заповнення альвеол лейкоцитами, еритроцитами, продуктами зруйнованих клітин (затоплення альвеол, порушення функції та продукції ендogenous сурфактанту).

Проліферативна (підгостра) стадія. Пошкодження альвеоцитів II типу → міграція фібробластів в альвеолярний ексудат → проліферація альвеоцитів II типу → зменшення набряку легень.

Фібропроліферативна (хронічна) стадія. Облітерація альвеол → фіброз легеневої паренхіми.

Епідеміологія COVID-19

Природний резервуар – невідомий (ймовірно, дикі тварини).

SARS-CoV-2 є рекомбінантним вірусом між коронавірусом кажана та коронавірусом невідомого походження.

Джерело інфекції: хвора людина (в інкубаційному періоді та в розпал хвороби); не виключено безсимптомне носійство з можливістю передачі від клінічно здорової людини контактним особам.

Сприйнятливість до зараження SARS-CoV-2 залишається на високому рівні серед людей усіх вікових груп. У недавніх дослідженнях повідомляється, що більшість пацієнтів з COVID-19 інфікувалися у віці від 36 до 65 років, що вказує на більш високий рівень сприйнятливості даної групи до SARS-CoV-2.

Шляхи передачі вірусу SARS-CoV-2:

- повітряно-крапельний;
- повітряно-пиловий;
- через інфіковані предмети та поверхні (фоміти);
- фекально-оральний.

Відомо, що вірус може передаватися через кров від матері до дитини та від тварин до людини, але ці відомості на даному етапі вивчені не до кінця.

Зараження вірусом SARS-CoV-2 може відбуватися внаслідок прямого або непрямого контакту. Також при перебуванні в безпосередній близькості з інфікованим (у тісному контакті, при рукоштованні), через виділення, що містять вірус – слину і рідкий секрет з дихальних шляхів або дрібні краплі, що утворюються з цих рідин, які потрапляють у повітря при кашлі, чханні, розмові або співі. Краплі з розмірами > 5–10 мкм називаються середньодисперсними, а при розмірах < 5 мкм їх відносять до категорії ядерних крапель, які здатні утворювати аерозолі. Передача вірусу через середньодисперсні краплі можлива при знаходженні в безпосередній близькості (в межах 1 м) від інфікованої людини, якщо вона має респіраторні симптоми (наприклад, кашель або чхання). У цих умовах середньодисперсні краплі, що містять вірус, можуть потрапити на слизові оболонки ротової

порожнини, носа або очі людини, сприйнятливої до захворювання, і призвести до розвитку інфекції. Повітря може бути важливим фактором передачі вірусу SARS-CoV-2, зокрема у лікарнях, магазинах, школах та громадському транспорті. Особливу увагу слід приділяти закритим приміщенням із високою щільністю людей та недостатньою вентиляцією. Можливий також опосередкований шлях передачі, реалізований за допомогою контакту сприйнятливої до інфекції людини з контамінованими предметами чи поверхнею (передача через фоміти).

Повітряно-пиловий шлях передачі реалізується за рахунок поширення зважених у повітрі аерозолів, в яких вірус довгий час залишається життєздатним і може переноситися на великі відстані.

Зростає кількість досліджень, у яких показано, що вірус SARS-CoV-2 ідентифікується у зразках фекалій пацієнтів. Тому можна припустити, що фекально-оральний шлях має значення у передачі інфекції в домашніх умовах. Також в деяких публікаціях повідомляється про виділення вірусу зі стічних вод, що свідчить про можливість передачі інфекції через воду. Це збільшує ризик поширення COVID-19, особливо у районах із низьким рівнем гігієни. Однак, щоб визначити, чи здатний вірус поширюватися таким чином, необхідні подальші дослідження з великою кількістю пацієнтів та оцінкою життєздатності вірусу у випорожненнях інфікованих осіб.

Особи з безсимптомними формами COVID-19 також можуть бути джерелом інфекції для пацієнтів з групи підвищеного ризику сприйнятливості.

Коронавіруси можуть спричиняти захворювання як у домашніх, так і у диких тварин, але в більшості випадків інфекції залишаються безсимптомними. До таких видів тварин належать коні, верблюди, велика рогата худоба, свині, собаки, кішки, гризуни, птахи, тхори, норки, кажани, кролики, змії та інші дикі тварини. Більшість досліджень підтвердили, як і у випадку з SARS-CoV-1 та MERS, що кажани є резервуаром SARS-CoV-2.

Інкубаційний період становить від 2 до 14 діб, у середньому 5–7 діб.

Клінічні прояви COVID-19

Для нової форми COVID-19 характерна наявність клінічних симптомів ГРВІ:

- підвищення температури тіла (> 90 %);
- кашель (сухий або з мізерним мокротинням) у 80 % випадків;
- задишка (55 %);
- міалгії та стомлюваність (44 %);
- відчуття закладеності у грудній клітці (>20 %).

Крім того, можуть відзначатися біль у горлі, нежить, зниження нюху та смаку, ознаки кон'юнктивіту. Найбільш важка задишка розвивається на 6–8-й день від моменту зараження. Також встановлено, що серед перших

симптомів можуть бути міалгія (11 %), сплутаність свідомості (9 %), головний біль (8 %), кровохаркання (5 %), діарея (3 %), нудота, блювання, серцебиття. Ці симптоми інфекції можуть спостерігатися за відсутності підвищення температури тіла (рис. 4).

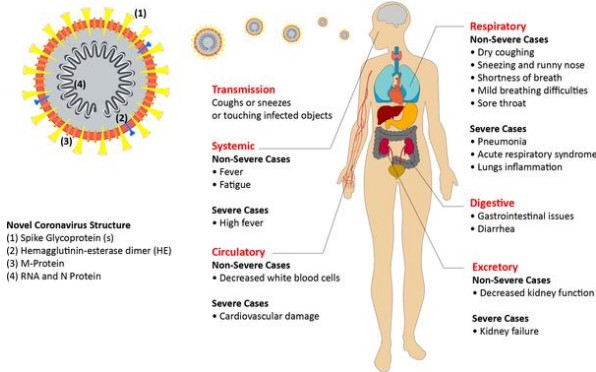


Рис. 4. Клінічні прояви SARS-CoV-2

Клінічні варіанти COVID-19:

1. Гостра респіраторна вірусна інфекція легкого перебігу.
2. Пневмонія без дихальної недостатності.
3. Пневмонія з ГДН.
4. ГРДС.
5. Сепсис.
6. Септичний (інфекційно-токсичний) шок.

Гіпоксемія (зниження SpO2 менше 88 %) розвивається більш як у 30 % пацієнтів.

Ураження легень більш ніж 50 % вважається небезпечним і вимагає госпіталізації пацієнта, особливо якщо пульсоксиметр показує сатурацію (насичення крові киснем) менше 92–93 %.

Розрізняють легкі, середні та важкі форми інфекції COVID-19.

Чинники ризику розвитку важких форм COVID-19:

- ожиріння;
- літній вік;
- хронічні бронхолегеневі захворювання;
- цукровий діабет;
- артеріальна гіпертензія;
- онкологічні захворювання.

Тяжкі форми COVID-19 становлять 25 % підтверджених випадків захворювання, з них виділяють: 16 % тяжких хворих, 5 % у критичному стані та 4 % померлих.

При важкому перебігу спостерігається швидко прогресуюче ураження нижніх дихальних шляхів, пневмонія, ГДН, ГРДС, сепсис та септичний шок. У м. Ухань практично у всіх пацієнтів із важким перебігом захворювання розвивалася прогресуюча ГДН: пневмонія діагностується у 100 % хворих, а ГРДС – більш як 90 % хворих.

У середньому у 50 % інфікованих захворювання протікає безсимптомно. У 80 % пацієнтів із наявністю клінічних симптомів захворювання має легку форму ГРВІ.

Цитокінетичний шторм є важливим фактором, що впливає на результат COVID-19.

Синдром цитокінетичного шторму

Синдром цитокінетичного шторму – це імунопатологічний стан, що характеризується різким збільшенням прозапальних цитокінетичів після стимуляції організму мікроорганізмами чи лікарськими засобами. За нормальних умов рівні прозапальних цитокінетичів та протизапальних цитокінетичів в організмі залишаються відносно збалансованими. Коли вірус проникає в організм, включається надмірна активація імунної системи, включаючи дендритні клітини, макрофаги, лімфоцити та природні клітини-кілери. Ці клітини виділяють велику кількість цитокінетичів: ІЛ1, ІЛ2, ІЛ6, ІЛ7, ІЛ8, ІЛ9, ІЛ10, ІЛ12, ІЛ17, ІЛ18, гранулоцитарний колоніестимулюючий фактор (Г-КСФ), гранулоцитарно-макрофагальний колоніестимулюючий фактор (ГМ-КСФ), фактор некрозу пухлин α , ІФН γ -індукуючий білок 10, ІФН α та ІФН β , моноцитарний хемоатрактантний білок 1 (МХБ1), макрофагальний запальний білок 1 α (МВБ1 α), а також збільшуються маркери запалення – С-реактивний білок, феритин.

Відмінність цитокінетичного шторму при COVID-19 у тому, що органом-мішенню є легені. Це пов'язано з тропізмом коронавірусу до легеневої тканини. Гіперактивація імунної відповіді при COVID-19 часто обмежується легеневою паренхімою, прилеглою до бронхіальної та альвеолярної лімфоїдної тканини, і асоціюється з розвитком ГРДС.

Цитокінетичний шторм при COVID-19 зазвичай призводить до розвитку поліорганної недостатності і може бути причиною летального результату.

Постковідний синдром (Post-COVID long-haule)

Постковідний синдром може бути у будь-якої людини, у якої діагностовано COVID-19, спричинений SARSCoV-2, і яка не повернулася до свого рівня здоров'я та функціонування через 6 міс після перенесеного захворювання. За різними даними, такі прояви відзначаються в осіб, які перенесли COVID-19, від 10 до 50 % випадків. Виділяють 2 групи таких хворих: особи, які мають незворотні ушкодження легень, серця, нирок або мозку, що впливають на їхню здатність функціонувати; ті, у кого продовжують

спостерігати виснажливі симптоми, незважаючи на відсутність помітних ушкоджень органів. Якою б не була природа змін, пов'язаних із тривалим збереженням клінічних проявів або появою нових симптомів після перенесеного гострого захворювання, їх наявність зумовлює потребу в реабілітації таких пацієнтів.

Прояви постковідного синдрому дуже різноманітні та спостерігаються протягом кількох місяців після перенесеної інфекції. Головною ознакою є підвищена стомлюваність (у 100 % випадків). У 90 % пацієнтів після одужання відзначаються інтенсивні головні болі, які не пов'язані з інтоксикацією, які можуть супроводжуватись вестибулярними розладами, порушенням слуху та зору. Офтальмологічні зміни на тлі COVID-19 пов'язані із захворюваннями очей, такими як кон'юнктивіт. У 60 % пацієнтів спостерігаються психічні розлади, у 20 % – депресія, поганий настрій, плаксивість, у 28 % – симптоми тривоги, у 28–56 % – різні проблеми із пам'яттю та кмітливістю. Протягом тривалого часу у 75 % пацієнтів може спостерігатися гіпотермія або гіпертермія, яка не контролюється парацетамолом. Крім того, трапляються біль у горлі (85 %), болючість лімфовузлів (80 %), міалгії (80 %), болі в суглобах (80 %), парестезії, порушення рухів та чутливості у різних частинах тіла організму. Також можуть з'являтися проблеми зі слухом, випадає волосся, псується зуби. У деяких чоловіків відзначається імпотенція.

Особливості клінічних проявів COVID-19 у пацієнтів похилого віку

У пацієнтів похилого віку може спостерігатися атипова картина захворювання без лихоманки та кашлю внаслідок зниженої реактивності. Симптоми COVID-19 можуть бути невираженими та не відповідати тяжкості захворювання і серйозності прогнозу. Атипові симптоми COVID-19 у пацієнтів похилого віку включають делірії та марення.

Особливості клінічних проявів COVID-19 у дітей

За наявними даними, діти хворіють рідше, з менш вираженою клінічною симптоматикою, рідше вимагають госпіталізації, захворювання у них протікає легше, що не виключає випадків тяжкого перебігу.

Наявні на сьогодні дані свідчать про те, що діти становлять до 10 % у структурі інфікованих SARS-CoV-2 та до 2 % у структурі пацієнтів із діагностованими клінічними випадками COVID-19.

У дітей істотно відрізняються чинники ризику, оскільки лише у 9 % випадків зараження вірусом SARS-CoV-2 пов'язане з подорожами в інші країни, а 91 % хворих мали місцеві контакти, переважно у сімейних осередках.

Відзначається легший перебіг хвороби порівняно з дорослими, розвиток вірусної пневмонії не характерний, симптоми менш виражені,

летальні наслідки надзвичайно рідкісні. У дітей так само як у дорослих домінують лихоманка та респіраторний синдром, проте менш виражені лімфопенія та запальні маркери.

Інкубаційний період у дітей коливається від 2 до 10 днів, частіше становить 2 дні.

Клінічні симптоми COVID-19 у дітей відповідають клінічній картині ГРВІ, зумовленій іншими вірусами: лихоманка, кашель, біль у горлі, чхання, слабкість, міалгія. Вираженість гарячкової реакції може бути різною: лихоманка до 38 °С відзначається у половини хворих дітей, у третини дітей реєструється підвищення температури тіла від 38,1 до 39,0 °С. Накопичений досвід спостереження за маніфестними випадками COVID-19 у дітей показує, що характерне поєднання лихоманки, кашлю та задишки має місце лише у 73 % (у дорослих – 93 %). Порівняння частоти окремих симптомів також вказує на переважну більшість їх у дорослих. За даними американських дослідників, лише 56 % пацієнтів дитячого віку повідомили про лихоманку, 54 % про кашель і 13 % про задишку порівняно з 71, 80 та 43 % відповідно серед пацієнтів віком 18–64 років.

За різними даними, від 5,7 до 20 % дітей з COVID-19 були госпіталізовані, інші лікувалися амбулаторно, у тому числі пацієнти з легкими, субклінічними та безсимптомними формами, у яких вірус SARS-CoV-2 був виділений під час обстеження за контактом. У дітей з COVID-19 госпіталізація знадобилася лише у 1,6–2,5 % пацієнтів, причому потреби у наданні реанімаційної допомоги не було.

Вираженість клінічних проявів коронавірусної інфекції варіює від відсутності симптомів (безсимптомний перебіг) або легких респіраторних симптомів до тяжкої форми, що має такі прояви:

- висока лихоманка;
- виражене порушення самопочуття до порушення свідомості;
- озноб, пітливість;
- головні та м'язові болі;
- сухий кашель, задишка, прискорене та утруднене дихання;
- прискорене серцебиття.

Найчастішим проявом тяжкого гострого респіраторного синдрому є двостороння вірусна пневмонія, ускладнена ГРДС або набряком легень. Можлива зупинка дихання, що потребує надання невідкладної допомоги та використання ШВЛ.

Несприятливі наслідки розвиваються при прогресуючій дихальній недостатності, приєднанні вторинної інфекції, що протікає у вигляді сепсису.

Можливі ускладнення: ГРДС; гостра серцева недостатність; абдомінальний біль; діарея. Тахікардія відзначається у половини госпіталізованих дітей, тахіпное – у третини. У дітей рідко спостерігається зниження SpO₂

< 92 %. Можливий розвиток гострої ниркової недостатності, септичного шоку, поліорганна недостатність (порушення функцій багатьох органів та систем).

Не у всіх дітей з підозрою на COVID-19, які переносили тяжкі форми захворювання, лабораторно було виділено вірус SARS-CoV-2, що не дозволяє виключити поєднані інфекції або наявність інших респіраторних захворювань у дітей з підозрілими випадками захворювань на підставі клініко-епідеміологічних даних.

Легкий ступінь тяжкості характеризується підвищенням температури тіла не вище 38,5 °С, відсутністю задишки у спокої, але можлива поява її при фізичному навантаженні, SpO₂ > 95 %.

Середній ступінь тяжкості характеризується підвищенням температури тіла вище 38,5 °С, відсутністю задишки у спокої, але її появою при фізичному навантаженні (крику/плачі), SpO₂ ≤ 95 %.

Тяжкий ступінь COVID-19 характеризується диспноє (відчуття нестачі повітря, стиснення в ділянці грудної клітки, задишка або тахіпноє), ціанозом/акроціанозом, SpO₂ ≤ 93 %.

Вкрай важкий ступінь реєструють при розвитку дихальної недостатності з необхідністю респіраторної підтримки, ГРДС, шоку, ознак поліорганної недостатності (енцефалопатії, серцево-судинної, ниркової, печінкової недостатності, ДВЗ-синдрому).

Частота тяжких та вкрай тяжких випадків захворювання не перевищує 1 %. Випадки вкрай тяжкого COVID-19 у дітей реєструють зазвичай за наявності факторів ризику: тяжкі преморбідні захворювання (діти, що мають захворювання легень, вроджені вади серця, бронхолегеневу дисплазію, хворобу Кавасакі, гідронефроз, лейкемію та ін.), імунодефіцитні стани різного генезу (у дітей старше 5 років у 1,5 рази частіше реєструють пневмонії), не можна також виключити вплив на тяжкість стану коінфекції з іншими респіраторними вірусами (респіраторно-синцитіальний вірус, риновірус, бокавірус, аденовірус), для яких характерне ураження нижніх відділів респіраторного тракту (пневмонія, бронхіоліт).

При виявленні безсимптомної форми або легкого ступеня тяжкості COVID-19 допустиме лікування в амбулаторних умовах, у тому числі вдома.

Особливості ведення вагітних із COVID-19

Акушерська тактика визначається декількома аспектами: тяжкістю стану пацієнтки, станом плода, терміном гестації. При середньому ступені тяжкості та тяжкому перебігу захворювання до 12-го тижня гестації у зв'язку з високим ризиком перинатальних ускладнень, пов'язаних як із впливом вірусної інфекції, так і ембріотоксичною дією лікарських препаратів, можливе переривання вагітності після лікування інфекційного процесу. При відмові пацієнтки від переривання вагітності необхідна біопсія ворсин хоріона

або плаценти до 12–14 тиж або амніоцентез із 16 тиж гестації для виявлення хромосомних аномалій плода, які проводяться за бажанням жінки.

Переривання вагітності або народження у розпал захворювання пов'язане зі збільшенням показника материнської летальності та великою кількістю ускладнень: обтяження основного захворювання, розвиток та прогресування дихальної недостатності, виникнення акушерських кровотеч, інтранатальна загибель плода, післяпологові гнійно-септичні ускладнення. Однак за неможливості усунення гіпоксії на фоні ШВЛ або у разі прогресування дихальної недостатності, розвитку альвеолярного набряку легень, а також при рефрактерному септичному шоку за життєвими показаннями на користь матері та плода показано екстрене абдомінальне розродження (кесарів розтин) з проведенням всіх необхідних заходів щодо профілактики гіпотонічної акушерської кровотечі. У терміні вагітності до 20 тиж екстрений кесарів розтин можна не проводити, оскільки вагітна матка в цьому терміні не впливає на серцевий викид. У терміні вагітності 20–23 тиж екстрений кесарів розтин проводиться для збереження життя матері, але не плода, а в терміні більше 24 тиж – для врятування життя матері та плода.

У разі розвитку спонтанної родової діяльності у розпал захворювання (пневмонії) пологи переважно проводять через природні родові шляхи під моніторним контролем стану матері та плода.

У другому періоді для профілактики розвитку дихальної та серцево-судинної недостатності слід послабити потуги. З метою прискорення процесу розродження при дистресі плода, слабкості пологової діяльності та/або погіршенні стану жінки можливе застосування вакуум-екстракції або акушерських щипців.

Прогноз для матері та плода залежить від триместру гестації, в якому виникло захворювання, наявності преморбідного фону (куріння, ожиріння, фоніві захворювання органів дихальної системи та ЛОР-органів, цукровий діабет, ВІЛ-інфекція), ступеня тяжкості інфекційного процесу, наявності ускладнень та своєчасності початку противірусної терапії.

Диференційна діагностика COVID-19

- Легкі прояви пневмонії 2019-nCoV необхідно диференціювати від інфекцій верхніх дихальних шляхів, спричинених іншими вірусами.
- Пневмонію, спричинену 2019-nCoV, необхідно відрізнити від інших відомих вірусних типів пневмонії, включаючи інфекцію, спричинену вірусом грипу, аденовірусом, респіраторно-синцитіальним вірусом та мікоплазмозом пневмонією. Для диференційного тестування поширених респіраторних патогенів, особливо у разі підозрілих випадків, слід максимально використовувати експрес-тестування на антигени та виявлення нуклеїнових кислот за допомогою ПЛР діагностики.

- Диференціація від неінфекційних захворювань, таких як васкуліт, дерматомиозит та організуюча пневмонія.
- Дітей з висипом та ураженням слизової оболонки слід диференціювати з хворобою Кавасакі.

Лабораторна діагностика COVID-19

Лабораторна діагностика загальна

Загальний (клінічний) аналіз крові. Включає визначення рівня еритроцитів, гематокриту, лейкоцитів, тромбоцитів, лейкоцитарної формули. Співвідношення нейтрофілів/лімфоцити – один із провідних прогностичних факторів. У пацієнтів із COVID 19 спостерігається лімфопенія.

Біохімічний аналіз крові. Визначення рівня сечовини, креатиніну, електролітів, печінкових ферментів, білірубіну, глюкози, альбуміну. Цей метод діагностики не дає будь-якої специфічної інформації, але дозволяє виявити відхилення, які можуть вказувати на наявність органної дисфункції, декомпенсацію супутніх захворювань та розвиток ускладнень, мають певне прогностичне значення, впливають на вибір лікарських засобів та режим їх дозування.

Визначення рівня С-реактивного білка (СРБ) у сироватці крові. Рівень СРБ корелює з тяжкістю перебігу, поширеністю запальної інфільтрації та прогнозом при пневмонії. СРБ є основним лабораторним маркером активності процесу у легенях. Його підвищення є основою початку проти-запальної терапії.

Гормональне дослідження: прокальцитонін, мозковий натрій-уретичний пептид – NT-proBNP/BNP. Прокальцитонін при коронавірусній інфекції з ураженням респіраторних відділів легень перебуває у межах референсних значень. Підвищення прокальцитоніну свідчить про приєднання бактеріальної інфекції та корелює з тяжкістю перебігу, поширеністю запальної інфільтрації та прогнозом при бактеріальних ускладненнях.

Коагулограма – визначення, протромбінового часу, протромбінового індексу, фібриногену, D-димеру (кількісним методом). Зростання D-димеру в 3–4 рази більше за вікову норму і подовження протромбінового часу, особливо при тяжкому перебігу (зниження % протромбіну), збільшення фібриногену має клінічне значення.

Пульсоксиметрія з вимірюванням SpO₂ для виявлення дихальної недостатності та оцінки вираженості гіпоксемії. Це простий і надійний скринінговий метод, що дозволяє виявляти пацієнтів з гіпоксемією, які потребують респіраторної підтримки, а також оцінити її ефективність. Пацієнтам із ознаками гострої дихальної недостатності (SpO₂ менше 90 % за даними пульсоксиметрії) рекомендується дослідження газів артеріальної крові з визначенням PaO₂, PaCO₂, рН, бікарбонатів, лактату.

Специфічна лабораторна діагностика

Прямі методи етіологічної діагностики.

- Виявлення РНК SARS-CoV-2 методом ПЛР має основне значення для етіологічної лабораторної діагностики COVID-19.
- Виявлення антигену SARS-CoV-2 із застосуванням імунохроматографічних методів.

Вибір методу діагностики залежить від періоду захворювання (рис. 6)

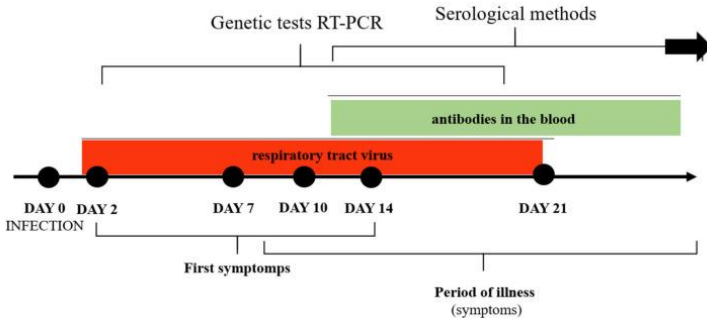


Рис. 6. Використання молекулярно-генетичних та серологічних методів залежно від стадії інфекційного процесу

Основним видом біоматеріалу для лабораторного дослідження на РНК SARS-CoV-2 є матеріал, отриманий при заборі мазка з носоглотки (з двох носових ходів) і ротоглотки. Мазки зі слизової оболонки носоглотки та ротоглотки збираються в одну пробірку для більшої концентрації вірусу.

За наявності ознак ураження нижніх дихальних шляхів у разі отримання негативного результату в мазках зі слизової носо- та ротоглотки додатково досліджуються мокротиння (за наявності) або промивні води бронхів, отримані при фібробронхоскопії (бронхоальвеолярний лаваж), ендотрахеальний, назофарингеальний аспірат. В інтубованих пацієнтів (які перебувають на ШВЛ) з метою виявлення SARS-CoV-2 рекомендується отримання та дослідження аспірату вмісту трахеї.

Як **додатковий матеріал** для дослідження можуть використовуватися біопсійний або аутопсійний матеріал легень, цільна кров, сироватка, фекалії.

Усі зразки, отримані для лабораторного дослідження, слід вважати потенційно інфікованими, і під час роботи з ними повинні враховуватися вимоги «Безпека роботи з мікроорганізмами I – II груп патогенності». Як і інші представники сімейства Coronaviridae SARS-CoV і MERS-CoV відносяться до II групи патогенності. Медичні працівники, які збирають або транспортують клінічні зразки до лабораторії, повинні бути навчені практиці безпечного поводження з біоматеріалом, суворо дотримуватися запобіжних заходів та використовувати засоби індивідуального захисту.

Правила забору матеріалу з носоглотки для дослідження на SARS-CoV-2.

Збирання матеріалу здійснюється за допомогою сухого стерильного тампона. Носоглотковий та орофарингеальні тампони повинні бути поміщені в одну пробірку для збільшення вірусного навантаження +2 мл фізіологічного розчину (рис. 7).

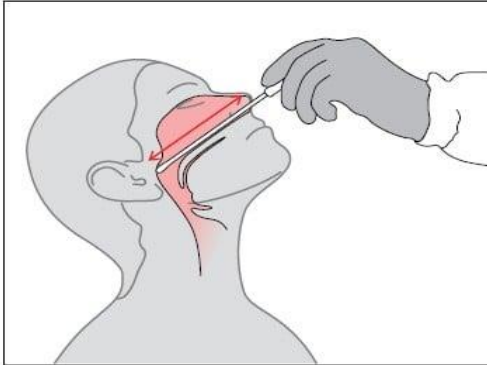


Рис. 7. Забір матеріалу з носоглотки для дослідження SARS-CoV-2

1. Пацієнт повинен сидіти з випрямленою спиною, якщо це можливо з підголівником; голова може бути розміщена вертикально або трохи нахилена назад.

2. Повідомте пацієнта про те, що процедура може бути неприємною, оскільки зонд-тампон потрібно ввести глибоко.

3. Попросіть пацієнта зняти маску (здвинути з носа) і очистити ніс одноразовою хусткою.

4. Виміряйте відстань між ніздрями та зовнішнім слуховим отвором, щоб оцінити відстань, на яку слід вести зонд-тампон (фактична глибина, на яку слід ввести зонд-тампон становить 1–2 см). Перш ніж розпакувати зонд-тампон, переконайтеся, що певна відстань відповідає відстані між кінцевою частиною зонда-тампона та заводською міткою.

Молекулярно-генетична діагностика

Молекулярна діагностика один із найважливіших напрямів сучасної медицини, в основі її технології лежить виявлення нуклеїнових кислот. Завдяки здатності виявляти конкретні патогени тестування на нуклеїнові кислоти підходить для точної діагностики коронавірусної інфекції. Наразі методи виявлення нуклеїнових кислот переважно включають секвенування генів, CRISPR технологію і тести ампліфікації нуклеїнових кислот, такі як ПЛР або ізотермічна ампліфікація нуклеїнових кислот. Для постановки ПЛР необхідно проведення етапів термоциклювання. Метод високочутливий та специфічний для виявлення вірусів. Ізотермічна ампліфікація нуклеїнових

кислот – це метод швидкого виявлення, який може працювати за постійної температури і не залежить від роботи термоциклера.

На сьогоднішній день досить повною мірою вивчений геном SARS-CoV-2, що дозволяє ефективно виявляти генетичний матеріал вірусу (рис. 8).

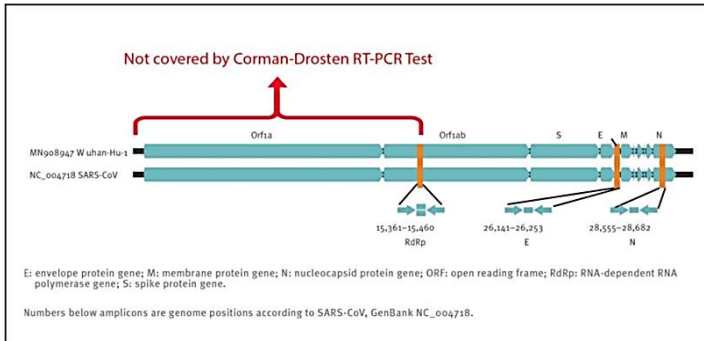


Рис. 8. Відносні положення амплікон-мішеней на коронавірусі SARS та SARS-CoV-2

Багатьма міжнародними організаціями за допомогою ПЛР із зворотною транскрипцією (ЗТ-ПЛР) за допомогою тест-систем до коронавірусу SARS-CoV-2 рекомендується виявляти за такими генетичними маркерами – RdRp gene, N-gene і E-gene.

У ПЛР діагностиці використовується технологія ампліфікації дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК), заснована на ферментативній активності ДНК-полімерази, яка специфічно розмножує необхідний фрагмент гена. Для виявлення коронавірусу потрібен перший етап зворотної транскрипції, який перетворює вірусну рибонуклеїнову кислоту (РНК) на комплементарну ДНК (кДНК), після чого починається ПЛР-ампліфікація, що дозволяє кількісно визначити флуоресцентну реакцію за допомогою спеціальних інструментів. Існує два доступні методи реалізації ПЛР зі зворотною транскрипцією:

- Одноетапний аналіз, у якому одна реакція виконує як синтез кДНК, так і ПЛР-ампліфікацію, зводячи до мінімуму експериментальні помилки. Однак одноетапний аналіз не підходить для багаторазового тестування того самого зразка, оскільки РНК, що служить матрицею, легко і швидко руйнується.
- Двоетапний аналіз, який має більшу чутливість порівняно з одноетапним, оскільки зворотна транскрипція відбувається окремо від ПЛР-ампліфікації. Однак цей метод збільшує ризик забруднення ДНК і потребує більше часу.

У сучасній лабораторній діагностиці кількісна ПЛР зі зворотною транскрипцією в режимі реального часу (rtRT-PCR) популярна для виявлення коронавірусу через її високу специфічність, простий кількісний аналіз і більшу чутливість порівняно зі звичайною RT-PCR.

На сьогоднішній день для більш ефективної діагностики використовуються безліч методів для покращання якості ЗТ-ПЛР в реальному часі.

Проведення тесту виявлення SARS-CoV-2 гібридизаційно-флуоресцентною детекцією

Виявлення РНК SARS-CoV-2 методом ЗТ-ПЛР з гібридизаційно-флуоресцентною детекцією включає три етапи: екстракцію РНК зі зразків досліджуваного матеріалу, реакцію зворотної транскрипції і ампліфікацію ділянки кДНК даного коронавірусу з гібридизаційно-флуоресцентною детекцією. Екстракція РНК із біологічного матеріалу проводиться у присутності внутрішнього контрольного зразка, який дозволяє контролювати виконання процедури дослідження для кожного зразка. Окремо використовується позитивний контроль екстракції та негативний контроль екстракції РНК. Реакція зворотної транскрипції проводиться з метою утворення комплементарної ДНК (кДНК) на матриці РНК. Потім з отриманими пробами кДНК проводиться реакція ампліфікації ділянок за допомогою специфічних до цих ділянок кДНК праймерів та ферменту Таq-полімерази. У складі реакційної суміші присутні флуоресцент-мічені олігонуклеотидні зонди, які гібридизуються з комплементарними ділянками ампліфікованих мішеней кДНК, в результаті чого відбувається наростання інтенсивності флуоресценції. Це дозволяє реєструвати накопичення специфічного продукту ампліфікації шляхом вимірювання інтенсивності флуоресцентного сигналу. Детекція флуоресцентного сигналу здійснюється безпосередньо в ході ПЛР за допомогою ампліфікатора з системою детекції флуоресцентного сигналу в режимі «реального часу».

Обмеження ПЛР

Декілька послідовних негативних результатів тестування зовсім не виключають можливості наявності інфекції. До появи хибнонегативних результатів призводить ряд факторів:

- низька якість зразків;
- зразок було взято надто рано чи надто пізно протягом захворювання;
- при роботі зі зразком або під час його транспортування не було дотримано необхідних вимог;
- технічні фактори, пов'язані з виконанням тесту, наприклад, мутація вірусу або інгібування ПЛР.

Методи з урахуванням мікрочіпів

Метод виявлення коронавірусу на основі мікрочіпів є швидким аналізом, з високою пропускнуою здатністю. Принцип методу полягає у тому, що за допомогою зворотної транскриптази РНК коронавірусу продукує кДНК, мічену специфічними зондами. Потім ці мічені кДНК поміщаються в лунки і гібридизуються з твердофазними олігонуклеотидами, закріпленими на мікрочіпі з подальшим промиванням для видалення вільних ДНК. В результаті РНК коронавірусу може бути визначена шляхом дослідження специфічних зондів.

Методи, що ґрунтуються на ізотермічній ампліфікації нуклеїнових кислот

Методи ізотермічної ампліфікації нуклеїнових кислот досі перебувають у стадії розробки. Задіяна реакція може бути виконана за фіксованої температури без спеціальних приладів, таких як термоциклери, і має чутливість, порівняну з чутливістю ПЛР. Методи ізотермічної ампліфікації нуклеїнових кислот включають рекомбінантну полімеразну ампліфікацію (RPA), петльову ізотермічну ампліфікацію (LAMP), геліказозалежну ампліфікацію (HDA) та багато інших.

Петльова ізотермічна ампліфікація нуклеїнових кислот (LAMP) є новим методом ампліфікації нуклеїнових кислот. Сутність даного методу полягає у подвоєнні ділянки ДНК з високою специфічністю, ефективністю та швидкістю в умовах постійної температури. При поєднанні зі зворотною транскрипцією LAMP може з високою ефективністю ампліфікувати РНК послідовності. Даний метод заснований на автоматичному циклі синтезу ДНК ланцюга зі зміщенням при використанні ДНК-полімераз із високою активністю усунення та чотирьох (шести) спеціально створених праймерів. Чотири праймери сконструйовані таким чином, щоб націлюватися на шість певних ділянок гена-мішені. LAMP-аналіз є швидким, не вимагає дорогого обладнання та реагентів, що може знизити вартість виявлення коронавірусу.

Ампліфікація рекомбінантної полімерази (RPA) – це ще один метод ізотермічної ампліфікації нуклеїнових кислот, який можна використовувати для виявлення SARS-CoV-2. До переваг можна віднести таке:

- це найшвидший метод ампліфікації нуклеїнових кислот, для завершення якого потрібно лише 15 хв;
- потрібно помірне нагрівання лише до 37–42 °С, що робить модуль контролю температури обладнання набагато простіше і економічніше.

Даний метод виявлення SARS-CoV-2 включає:

- використання екзонуклеазних зондів із внутрішньо зв'язаним гасником (Ехо-IQ) для швидкого виявлення SARS-CoV-2 за допомогою ампліфікації рекомбінантної полімерази зі зворотною транскрипцією в режимі реального часу в малому обсязі в одній пробірці;
- швидке та пряме візуальне виявлення SARS-CoV-2 за допомогою полімеразної ампліфікації зі зворотною транскрипцією;
- чутливість методу за наявності однієї копії та одночасне виявлення подвійного гена РНК SARS-CoV-2 за допомогою модифікованої RT-RPA.

Методи діагностики на основі технології CRISPR

Тести на основі CRISPR технології дозволяють виявити вірусні геноми, використовуючи меншу кількість етапів порівняно з ПЛР-діагностикою. Вони мають високу чутливість і специфічність, проте не можуть бути, проведені в короткі терміни, якщо концентрація вірусу нижче 10 нМ. З використанням CRISPR/Cas технології нещодавно розроблено високо-специфічну та чутливу CRISPR-nCoV систему детекції нового коронаві-

рису SARS-CoV-2. В її основі лежить RPA ампліфікація, що супроводжується транскрипцією отриманих ампліконів, які несуть у складі одного з праймерів на 5'-кінці екстрапоследовність нуклеотидів, що відповідає фаговому промотору T7, за допомогою якого T7 РНК полімераза напрацьовує безліч копій молекул РНК. Після цього включається РНК Cas13a нуклеаза, що формує зі спеціальної sgРНК рибонуклеопротейдний комплекс, причому дана sgРНК несе гідову последовність, яка впізнає обрану мету на бета-коронавірусній РНК. При цьому в розчині є ще спеціальний репортерний рибоолігонуклеотид. Нуклеаза Cas13a розщеплює всі наявні в реакційній суміші молекули РНК, після активації ферменту специфічної РНК, що відповідає ділянці-мішені SARS-CoV, за рахунок своєї колатеральної активності. Оскільки спеціально додані репортерні молекули РНК несуть флуорохром і гасник, то після фізичного роз'єднання останніх, внаслідок руйнування всіх молекул РНК підряд, флуоресцентний барвник починає світитися, що і реєструється за допомогою відповідних пристроїв. Чутливість даного тесту знаходиться на рівні одиничних молекул вірусу, а час, що витрачається на всю детекцію, становить 40 хв, з яких 30 хв йде на ампліфікацію RPA, а 10 хв – на CRISPR детекцію.

Секвенування генів

Секвенування геному – це складна технологія, що вимагає спеціального обладнання для ідентифікації повних последовностей геному у досліджуваному зразку. Цей метод використовується для визначення коронавірусів, виділених від пацієнтів, інфікованих SARS-CoV-2. Як правило, вірусна РНК SARS-CoV-2 вилучається із клінічних зразків, а потім піддається процесу мультиплексного секвенування ампліконів. Попередні дослідження показали, що замість вивчення всього геному коронавірусу, що є складним завданням для аналізу клінічних зразків, дослідники можуть зосередитися на важливих елементах геномної последовності. Секвенування генів допомогло вченим виявити, що білок S SARS-CoV-2 має схожість із білком S коронавірусу панголіну, що передбачає можливість відстеження еволюційних змін даного вірусу.

Хоча тести на основі ампліфікації нуклеїнових кислот нині є золотим стандартом для діагностики COVID-19, їх цінність для виявлення основних способів передачі та локалізації вогнищ інфекції обмежена. Вчені розробили комбінований підхід, що поєднує повногеномне секвенування вірусу SARS-CoV-2 та епідеміологічні дані для відстеження епідемічного процесу поширення вірусу. При цьому були використані технології секвенування третього покоління, що ґрунтуються на нанопорах. Ці технології можуть сприяти розробці ефективніших заходів боротьби з COVID-19.

Визначення антигенів вірусу SARS-CoV-2

Пряме виявлення антигенів SARS-CoV-2 використовують для підтвердження наявності вірусу. Антигени являють собою молекули, які специфічно розпізнаються і зв'язуються антигенними рецепторами на поверхні Т- і

В-лімфоцитів, можуть запускати вироблення антитіл та індукувати клітинно-опосередковані імунні відповіді. Експрес-тести для виявлення антигенів SARS-CoV-2 розроблено за принципом імунохроматографічного аналізу з візуальним обліком результатів тестування. Як правило, антигени виявляють у мазках із носоглотки у хворих з підозрою на коронавірусну інфекцію протягом перших 5–7 діб проявів гострого респіраторного захворювання. Чутливість та специфічність тестів визначені у численних клінічних дослідженнях і становлять 90,4 та 99,5 % відповідно. У процесі тестування зразок біологічного матеріалу наноситься одноразовою піпеткою на нітроцелюлозну мембрану тест-касети в зоні "S" (зразок), далі зразок мігрує по капілярах мембрани в зону "C" (контролю) в кінці тест-касети. У зоні тестової лінії (T) 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», внаслідок чого з'являється кольорова лінія у зоні «Т», що свідчить про позитивний результат дослідження. У тих випадках, коли в матеріалі від хворого 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 у контрольній зоні «С», свідчить про якісне виконання тестування. Вона є контролем правильного виконання процедури тестування, тим самим вказуючи, що було використано достатню кількість зразка та заповнення капілярів мембрани відбулося.

Важливо підкреслити, що за позитивного результату на мембрані тест-касети завжди з'являються дві кольорові лінії. Одна кольорова лінія – у контрольній зоні «С», а друга – у зоні «Т». Інтенсивність фарбування ліній у зоні «Т» може змінюватись залежно від концентрації антигенів у зразку. Тому поява кольорової лінії будь-якої інтенсивності у тестовій зоні має розглядатися як позитивний результат. За негативного результату з'являється лише одна кольорова лінія в контрольній зоні «С». Лінія у тестовій зоні «Т» – відсутня.

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

Експрес-тести є якісними методами та можуть бути використані лише 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 у досліджуваному матеріалі. Позитивний результат вказує лише на наявність антигенів SARS-CoV-2 у зразку і не може бути єдиним критерієм для встановлення діагнозу коронавірусної інфекції. Як і у всіх випадках

діагностики, результат тесту повинен братися до уваги в сукупності з клінічною інформацією, яка доступна лікарю. У випадку, коли результат тесту негативний, а симптоми COVID-19 присутні, рекомендується повторити тестування через кілька днів або провести тестування методом ЗТ-ПЛР або будь-яким іншим методом ампліфікації нуклеїнових кислот.

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

У цілому експрес-тести для виявлення антигенів відповідають критеріям ефективності та можуть бути застосовані для використання в тих умовах, коли молекулярно-генетичні методи дослідження недоступні для практичного лікаря або лабораторії, перевантажені роботою, що призводить до подовження часу постановки ЗТ-ПЛР у «реальному часі» або інших методів ампліфікації на 48–72 год.

Непрямі методи етіологічної діагностики

Виявлення імуноглобулінів класів А, М, G (IgA, IgM та IgG) до SARS-CoV-2 (у тому числі до рецептор-зв'язуючого домену поверхневого глікопротеїну S) методом ІФА.

Виявлення антитіл до SARS-CoV-2 має допоміжне значення для діагностики поточної інфекції та основне для оцінки імунної відповіді на поточну або перенесену інфекцію. Виявлення антитіл SARS-CoV-2 проводиться з використанням імунохімічних методів. Рішення про тестування на антитіла до SARS-CoV-2 приймається лікарем індивідуально, виходячи з клінічної доцільності.

Антитіла класу А (IgA) починають формуватися та доступні для детекції приблизно з 2-го дня від початку захворювання, досягають піку через 2 тиж та зберігаються тривалий час.

Антитіла класу М (IgM) починають виявлятися приблизно на 7-му добу від початку зараження, досягають піку через тиждень і можуть зберігатися протягом 2 міс і більше.

Антитіла класу G (IgG) з'являються приблизно з 3-го тижня або раніше визначаються до SARS-CoV-2. Особливістю гуморальної відповіді на інфекцію є невеликий часовий проміжок між появою антитіл IgM та IgG, а іноді й одночасне їх формування.

З метою діагностики COVID-19 непрямим методом рекомендується проведення роздільного тестування на антитіла класу IgM/IgA та IgG, а також моніторинг появи антитіл у динаміці (детекція сероконверсії) – повторне тестування у неясних випадках через 5–7 днів.

Для визначення наявності IgG рекомендується використовувати набори реагентів з кількісним визначенням антитіл титру, що дозволить оцінювати напруженість імунітету в динаміці і проводити відбір потенційних донорів імунної плазми.

Для мінімізації хибнопозитивних результатів рекомендується ввести алгоритм послідовного тестування пацієнтів, у яких отримано початкові позитивні результати на антитіла класів IgM/IgA або IgG, з використанням іншого тесту. З цією метою необхідно використовувати тест-систему з максимальними чутливістю та специфічністю, а також з одночасним виявленням антитіл класів A, M, G, яка відіграватиме роль референтної (верифікуючої) тест-системи. Як така тест-система може використовуватися тест-система для виявлення рецептор-зв'язуючого домену поверхневого глікопротеїну S SARS-CoV-2. Використання такого алгоритму дозволить виконувати надійну діагностику.

Тестування на антитіла до вірусу SARS-Cov-2 рекомендується використовувати у таких випадках:

- як додатковий метод діагностики гострої інфекції (з урахуванням серонегативного періоду) або за неможливості дослідження мазків методом ампліфікації нуклеїнових кислот, у тому числі при госпіталізації до стаціонару з приводу соматичної патології;

- для виявлення осіб із безсимптомною формою інфекції;

- для встановлення факту перенесеної раніше інфекції під час обстеження груп ризику та проведення масового обстеження населення для оцінки рівня популяційного імунітету;

- для відбору потенційних донорів імунної плазми.

Тестування на сумарні антитіла (IgA, IgM та IgG) або IgG до SARS-CoV-2 рекомендується проводити щотижня всім медпрацівникам, яким не проводилося таке дослідження раніше або якщо було отримано негативний результат. При появі IgG до SARS-CoV-2 внаслідок перенесеної інфекції або вакцинації подальше тестування антитіла до вірусу не проводиться.

При оцінці напруженості поствакцинального протективного імунітету методом імуоферментного аналізу доцільно визначення антитіл до рецептор-зв'язуючого домену (анти-RBD антитіл).

Як матеріал для проведення лабораторних досліджень на наявність IgA, IgM та/або IgG (в окремих дослідженнях або сумарно) до SARS-CoV-2 використовується кров або інші види біоматеріалу відповідно до інструкції до набору реагентів.

Визначення специфічних антитіл SARS-CoV-2

Останнім часом широке застосування для визначення точної величини титру антитіл до SARS-CoV-2 знаходить імуоферментний аналіз (ІФА). Метод заснований на взаємодії іммобілізованого в лунках планшету антигену коронавірусу зі специфічними антитілами з досліджуваної проби сироватки та подальшим виявленням отриманого комплексу кон'югатом (міченими

пероксидазою хрому специфічними антитілами до IgG). Зв'язана пероксидаза викликає розкладання перекису водню, що знаходиться в хромоген-субстратному розчині, і окислення хромогену. У лунках з'являється забарвлення, інтенсивність якого прямо пропорційна кількості антитіл у пробі, що визначається. Для уточнення діагнозу проводять повторні дослідження клінічного матеріалу з інтервалом 2–4 тиж. Зниження чи збільшення титру антитіл безпосередньо пов'язані з перебігом інфекційного процесу.

Латеральний проточний імуноаналіз (Lateral flow test)

Виявлення специфічних антитіл при діагностиці вірусних інфекцій здійснюється через 7–14 днів після початку захворювання. Імуноаналіз із використанням тест-смужок може забезпечити швидке та якісне виявлення антитіл для скринінгу з подальшим проведенням підтверджуючих тестів. Використання тест-смужок як експрес-діагностика може займати від 15 до 20 хв, що значно менше порівняно з використанням ЗТ-ПЛР. Латеральний проточний імуноаналіз дозволяє одночасно виявити антитіла IgM та IgG проти SARS-CoV-2. В основі методу лежить імунохроматографічний аналіз. Наявність противірусних IgM характеризує гострий період інфекції, а наявність противірусних IgG вказує на тривалу інфекцію. Отже, швидке виявлення противірусних антитіл IgM та IgG використовується для контролю захворювання. Це може допомогти диференціювати осіб на ранній стадії інфекції з низьким вірусним навантаженням, яких слід ізолювати для запобігання поширенню вірусу від осіб, які одужують.

Для проведення аналізу використовують експрес-касети IgG/IgM 2019-nCoV. Матеріал для дослідження – кров, сироватка, плазма. У тесті використовуються антитіла проти IgM (тестова лінія IgM) та IgG людини (тестова лінія IgG) й антикролячі IgG (контрольна лінія C), іммобілізовані на нітроцелюлозній мембрані. Тест-смужки містять колоїдне золото, кон'юговане з рекомбінантними антигенами COVID-19. Коли зразок додають у лунку, антитіла IgM та/або IgG (якщо вони наявні) будуть зв'язуватися з кон'югатами COVID-19, утворюючи комплекс антиген-антитіло. Цей комплекс мігрує через нітроцелюлозну мембрану під впливом капілярної сили. Комплекс зустрічається з лінією відповідного іммобілізованого антитіла (людського IgM та/або людського IgG), відбувається його захоплення. З'являється смужка червоного або фіолетового кольору, що підтверджує позитивний результат тесту. Відсутність кольорової смуги у тестовій ділянці свідчить про негативний результат. Тест містить внутрішній контроль (C-смуга), який повинен мати пофарбовану лінію незалежно від появи кольору на будь-якій смугі, що тестується. В іншому випадку результат тесту є недійсним і зразок повинен повторно протестуватися за допомогою інших тест-систем (рис. 9).

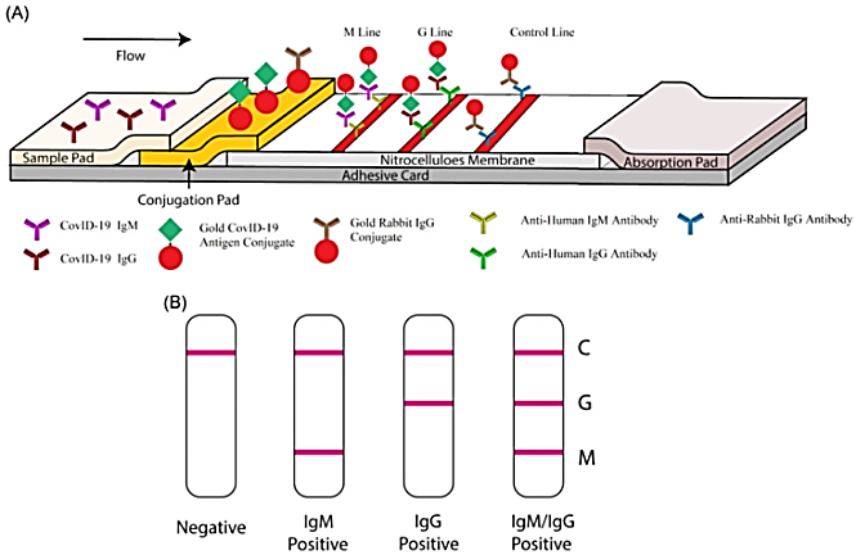


Рис.9. Схематичне зображення комбінованого експрес-тесту на антитіла SARS-CoV-2 IgM-IgG. Ілюстрація різних результатів тестування

Схема проведення експрес-тесту визначення специфічних антитіл до SARS-CoV-2 представлена на *рис. 10.*

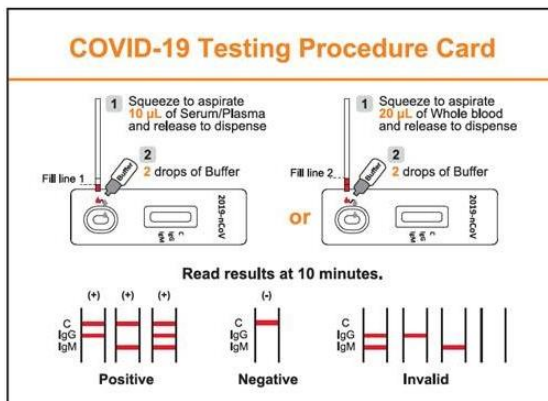


Рис. 10. Процедура проведення тесту визначення специфічних антитіл до SARS-CoV-2

Репрезентативне фото для різних результатів аналізу крові пацієнтів із COVID-19 – *рис. 11.*

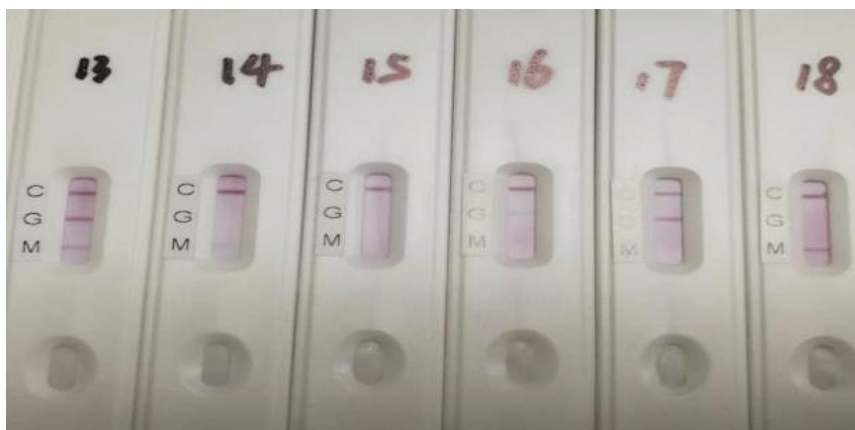


Рис. 11. Результати аналізу крові пацієнта з COVID-19 на визначення антитіл (№ 13 – IgM та IgG позитивний, № 14 – IgM слабопозитивний, № 15 – IgM та IgG негативні, № 16 – IgG слабопозитивний, № 17 – IgG позитивний, № 18 – IgM позитивний)

Переваги методу

Цей новий метод швидкого тестування комбінованих антитіл SARS-CoV-2 IgG-IgM має кілька переваг. Порівняно з методом ЗТ-ПЛР він заощаджує час і не потребує спеціального обладнання, простий у виконанні та вимагає лише мінімального навчання. Цей аналіз може бути виконаний біля ліжка хворого, у будь-якій клініці чи лабораторії, в аеропорту чи на вокзалі. Для позаклінічного скринінгу буде зручніше використовувати кров із пальця або п'яти замість крові з вени. Іншим потенційним застосуванням цього тесту є скринінг безсимптомних носіїв SARS-CoV-2, які можуть поширювати цей вірус. Оскільки цей тест може одночасно визначати IgM та IgG, його можна використовувати як для ранньої діагностики (IgM), так і для моніторингу під час лікування.

Обмеження методу

Причинами помилково-негативних результатів може бути наступне:

- низькі концентрації антитіл, коли рівні IgM та IgG нижче за межу виявлення, результати тесту будуть негативними;
- різниця у синтезу антитіл індивідуальної імунної відповіді пацієнтів із COVID-19;
- антитіла IgM знижуються та зникають через 2 тиж; у деяких випадках важко точно знати, коли пацієнт був інфікований або як довго він був інфікований; таким чином, коли пацієнт проходить тестування, рівень IgM може бути значно нижчим від його піку і не виявлятися даним тестом (рис. 12).

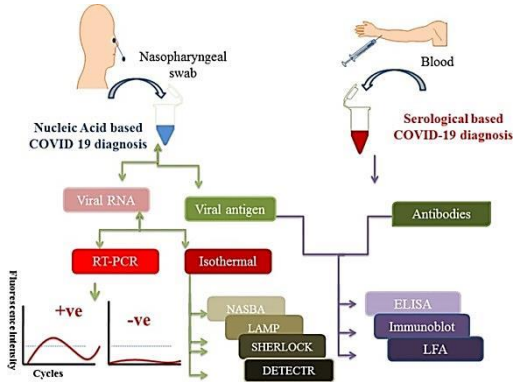


Рис. 12. Схема лабораторної діагностики SARS-CoV-2

Для проведення диференційної діагностики у всіх хворих проводять дослідження методом ПЛР на збудники респіраторних інфекцій: віруси грипу типу А та В, респіраторно-синцитіальний вірус (РСВ), віруси парагрипу, риновіруси, аденовіруси, людські метапневмовіруси, MERS-CoV.

Обов'язкове проведення мікробіологічної діагностики (культурне дослідження) та/або ПЛР діагностики на *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae type B*, *Legionella pneumophila*, а також інші збудники бактеріальних респіраторних інфекцій нижніх дихальних шляхів.

Променева діагностика при COVID-19

Методи променевої діагностики застосовують для виявлення COVID-19 пневмоній, їх ускладнень, диференційної діагностики з іншими захворюваннями легень, а також для визначення ступеня вираженості та динаміки змін, оцінки ефективності терапії.

Променеві методи також необхідні для виявлення та оцінки характеру патологічних змін в інших анатомічних ділянках і як засоби контролю для інвазивних (інтвенційних) медичних втручань.

До методів променевої діагностики патології органів грудної клітки пацієнтів із передбачуваною/встановленою COVID-19 пневмонією відносять:

- оглядову рентгенографію легень (РГ);
- комп'ютерну томографію легень (КТ);
- ультразвукове дослідження легень та плевральних порожнин (УЗД).

Стандартна рентгенографія легень має низьку чутливість у виявленні початкових змін в перші дні захворювання і не може застосовуватися для ранньої діагностики. Інформативність РГ підвищується зі збільшенням тривалості перебігу пневмонії.

Метод дозволяє впевнено виявляти важкі форми пневмоній та набряк легень різної природи, які потребують госпіталізації. На РГ легень визна-

часться симптом «білі легені» – знімок виглядає майже повністю білим. Це може вказувати на те, що легені наповнені рідиною, бактеріями, а також мають ушкодження та щільні рубці (рис. 13).

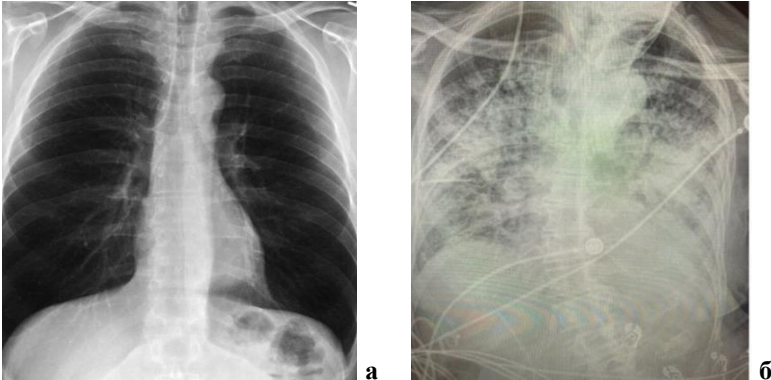


Рис. 13. Рентгенологічне дослідження легень:
а – легені здорової людини, **б** – легені пацієнта з COVID-19

Комп'ютерна томографія легень має високу чутливість при виявленні змін у легенях, характерних для COVID-19. Застосування КТ є доцільним для первинної оцінки стану органів грудної клітки у пацієнтів з тяжкими прогресуючими формами захворювання, а також для диференційної діагностики виявлених змін та оцінки динаміки процесу. КТ дозволяє виявити характерні зміни у легенях у пацієнтів із COVID-19 ще до появи позитивних лабораторних тестів на інфекцію за допомогою ПЛР. Тим часом КТ виявляє зміни легень у значній кількості пацієнтів із безсимптомною та легкою формами захворювання, яким не потрібна госпіталізація. Результати КТ у цих випадках не впливають на тактику лікування та прогноз захворювання за наявності лабораторного підтвердження COVID-19. Тому масове застосування КТ для скринінгу асимптомних та легких форм хвороби не рекомендується.

Обмеженнями КТ порівняно з РГ є менша доступність технології в окремих медичних організаціях, містах та регіонах; недоступність дослідження для частини пацієнтів, які перебувають на ШВЛ; висока потреба у КТ-дослідженнях для діагностики інших захворювань.

Разом з тим комплексна оцінка анамнестичних, клінічних та рентгенологічних даних дозволяє визначити клінічно підтверджений випадок COVID-19, маршрутизувати пацієнта та розпочати противірусну терапію.

У зв'язку з цим КТ може бути дослідженням «першої лінії» у тих медичних організаціях/територіях, у яких є достатня кількість апаратів та кадрове забезпечення для виконання необхідного обсягу досліджень без шкоди для своєчасної діагностики інших хвороб (онкологічних, неврологічних тощо) у пацієнтів, які найбільше потребують цього дослідження.

Ультразвукове дослідження легень у пацієнтів з передбачуваною/відомою COVID-19 пневмонією є додатковим методом візуалізації, який не замінює та не виключає проведення РГ та КТ. При дотриманні правильної методики, виборі правильних показань та наявності підготовленого лікарського персоналу це дослідження відрізняється високою чутливістю у виявленні інтерстиціальних змін та консолидацій у легеневій тканині, але тільки при субплевральному їх розташуванні. Дані УЗД не дозволяють однозначно визначити причину виникнення та/або дійсну поширеність змін у легеневій тканині.

Слід враховувати, що УЗД не є стандартною процедурою в діагностиці пневмоній, воно не включено до клінічних рекомендацій та стандартів надання медичної допомоги з діагностики та лікування позалікарняної пневмонії. У зв'язку з цим результативність досліджень значною мірою залежить від наявного досвіду та кваліфікації лікаря, який проводить дослідження.

Електрокардіографія (ЕКГ) у стандартних відведеннях рекомендується всім пацієнтам, оскільки відомо, що вірусна інфекція збільшує ризик розвитку порушень ритму та гострого коронарного синдрому.

Лікування COVID-19

Основні принципи терапії COVID-19

Лікарську терапію COVID-19 можна розділити на етіотропну, з якої починають лікування у спробі мінімізувати кількість інфікованих клітин та вільного вірусу, а також терапію ускладнень, насамперед купірування так званого цитокінового шторму. Засоби терапії залежно від етапу захворювання повинні значною мірою відрізнятися: якщо стимуляція імунної системи на початку терапії виправдана, то з розвитком цитокінового шторму вона може бути шкідливою.

Противірусна терапія: фавіпіравір, ремдесивір, уміфеновір, озельтамівір, гідроксихлорохін, інтерферон-альфа.

Препарат фавіпіравір – синтетичний противірусний препарат, селективний інгібітор РНК-полімерази, активний щодо РНК-вірусів. Використовується для пацієнтів при середньому чи критичному перебігу захворювання коронавірусної інфекції.

Хлорохін (гідроксихлорохін) є препаратом для лікування малярії та деяких інших протозойних інфекцій. Механізм дії хлорохіну проти деяких вірусних інфекцій вивчений не до кінця, в опублікованих даних відзначаються кілька варіантів його впливу на COVID-19, які перешкоджають проникненню вірусу в клітину та його реплікації. Препарат знайшов своє застосування у лікуванні малярії та деяких системних захворювань сполучної тканини, а також сприймається як терапія інфекції COVID-19. Порівняно з хлорохіном гідроксихлорохін, ймовірно, менш цитотоксичний і має більш виражений противірусний ефект. Використовують для лікування пацієнтів із середнім ступенем тяжкості захворювання.

Озельтамівір – протівірусний препарат, який призначають дітям при коінфекції вірусу грипу.

Ремдесивір призначають при тяжкому чи критичному перебігу захворювання.

Рекомбінантний інтерферон альфа (ІФН- α) для інтраназального введення має імуномодуючу, протизапальну та протівірусну дію. Механізм дії ґрунтується на запобіганні реплікації вірусів, що потрапляють в організм через дихальні шляхи. Вагітним призначають лише рекомбінантний ІФН- $\alpha 2b$.

Глюкокортикостероїди (дексаметазон) є препаратами вибору для лікування хворих із коронавірусною інфекцією. Вони пригнічують усі фази запалення, синтез широкого спектра прозапальних медіаторів, збільшення концентрації яких у рамках цитокинового шторму асоціюється з несприятливим прогнозом при COVID-19 та ризиком розвитку ГРДС та сепсису.

Інгібітори рецепторів ІЛ6 (тоцилізумаб, сарилумаб) або інгібітори ІЛ1 β (канакінумабу) призначають за наявності патологічних змін у легенях, пневмонії середньотяжкого/важкого ступеня за даними рентгенологічного обстеження та КТ (зливні затемнення за типом інфільтрації – симптом «білих легень»).

Антикоагулянти (ривароксабан) призначають з метою профілактики тромбоемболії глибоких вен та легеневої артерії.

Оксигенотерапію використовують у разі розвитку гострої дихальної недостатності.

Антибактеріальну терапію призначають лише за таких умов:

- наявність переконливих ознак приєднання бактеріальної інфекції,
- поява гнійного мокротиння, лейкоцитоз $> 12 \times 10^9 / \text{л}$ (за відсутності попереднього застосування глюкокортикоїдів), підвищення кількості паличкоядерних нейтрофілів більше 10 %).

Переважає більшість пацієнтів із COVID-19, особливо при середньотяжкому перебігу, не потребують антибактеріальної терапії.

Імунотерапія: антиковідна плазма; КОВІД-глобулін; моноклональні антитіла.

Препарат КОВІД-глобулін являє собою високоочищений препарат імуноглобуліну G, що має активність антитіл до SARS-CoV-2.

В 1 мл препарату міститься – діюча речовина – білки плазми людини, у тому числі імуноглобулін G щонайменше 95 % – 100 мг.

Специфічна активність антитіл до SARS-CoV-2 в ІФА – не менше 160 АКЕ.

Антиковідна одиниця (АКЕ) – одиниця активності специфічного імуноглобуліну проти SARS-CoV-2.

Дозування: препарат вводиться внутрішньовенно краплинно без розведення одноразово у дозі 4 мл/кг маси тіла.

Рекомендується для призначення пацієнтам з високим ризиком тяжкого перебігу захворювання:

- вік старше 65 років,
- наявність супутніх захворювань (цукровий діабет, ожиріння, хронічні захворювання серцево-судинної системи).

Моноклональні антитіла до S-білка SARS-CoV2. Сьогодні використовуються однокомпонентні (сотровімаб, регданвімаб), а також комбіновані (бамланівімаб + етесевімаб; касиривімаб + імдевімаб) препарати.

Застосування моноклональних антитіл рекомендується в стаціонарних умовах, а також в умовах денного стаціонару в строк не пізніше ніж 7 днів від початку хвороби.

Критерії одужання пацієнтів із COVID-19

Пацієнта можна вважати офіційно таким, що одужав, якщо:

- пройшло 10 днів від першого дня симптомів, протягом яких три дні були відсутні симптоми;
- пройшло 10 днів від отримання позитивного результату ПЛР-тесту, протягом яких три дні були відсутні симптоми;
- отримано негативний результат тесту-ПЛР.

Специфічна профілактика

На сьогоднішній день існує декілька видів вакцин для профілактики SARS-CoV-2:

1. Векторні вакцини (рекомбінантні). Для приготування використовують модифікований вірус (вектор – аденовірус), в який вбудована «інструкція» для виготовлення шипоподібного білка SARS-CoV-2. Вектор доставляє його в клітину, імунна система розпізнає антиген, у відповідь виробляє антитіла та Т-клітини. (Oxford AstraZeneca, Janssen (Johnson & Johnson), Cansino).

2. Інактивовані вакцини містять у своєму складі вбитий вірус. Організм реагує на нього та виробляє антитіла (CoronaVac Sinovac, SinoPharm, Bharat Biotech (Covaxin), Valneva).

3. РНК-вакцини містять молекули мРНК, які кодують шипоподібний білок коронавірусу, тим самим сприяють синтезу антитіл (Pfizer BioNTech, Moderna).

4. Субодиничні вакцини містять компоненти (антигени) вірусу, які найкраще стимулюють імунну відповідь. Наприклад, вакцина на основі білкових субодиниць, що містить спайковий білок молекули SARS-CoV-2 (Novavax, Sanofi).

Всесвітня організація охорони здоров'я схвалила для екстреного використання вакцини, які доступні в Україні:

AstraZeneca – це векторна вакцина, розроблена шведсько-британською компанією AstraZeneca разом із Оксфордським університетом. Вакцини

виробляються у Європейському Союзі, Великій Британії, Республіці Корея. Вакцина, вироблена за ліцензією в Індії, називається Covishield. Для повної імунізації необхідно отримати дві дози вакцини з інтервалом 12 тиж. Першу та другу дозу можна отримати вакциною AstraZeneca, яка виробляється на різних майданчиках, включаючи субліцензійне виробництво в Індії, адже склад та технологія виготовлення вакцини ідентичні.

Comirnaty/Pfizer-BioNTech – це мРНК-вакцина проти COVID-19, розроблена німецькою біотехнологічною компанією BioNTech спільно з американським фармакологічним концерном Pfizer. Для повної імунізації необхідно отримати 2 дози з інтервалом 21–28 днів. Схвалено Всесвітньою організацією охорони здоров'я для екстреного використання.

Moderna – вакцина мРНК, розроблена американською фармацевтичною компанією Moderna. Препарат внесено до списку вакцин для екстреного використання ВООЗ, а також дозволено для екстреного використання у США, Великій Британії, Канаді, ЄС та інших країнах. Вакцина зберігається у вигляді замороженої суспензії при температурі від –25 °С до –15 °С у багатодозному флаконі. Флакони можна зберігати у холодильнику при 2–8 °С протягом 30 днів. Вакцину Moderna від COVID-19 вводять внутрішньом'язово. Для повноцінної імунізації необхідно отримати дві дози вакцини з інтервалом 28 днів.

CoronaVac/Sinovac Biotech – інактивована вакцина, розроблена китайською біофармацевтичною компанією, що займається дослідженням, розробкою, виробництвом та продажем вакцин для захисту людей від інфекційних захворювань. Для повноцінної імунізації необхідно отримати дві дози з інтервалом 14–28 днів. Вакцину схвалено ВООЗ для екстреного застосування.

Протипоказання для вакцин проти COVID-19:

- тяжка алергічна реакція після попередньої дози будь-якої вакцини;
- тяжкі алергічні реакції на компоненти вакцини.

Застереження при застосуванні вакцин проти COVID-19:

- гостра анафілактична реакція відразу після введення дози;
- імунодефіцит, у тому числі внаслідок імуносупресивної терапії.

У разі виникнення гострої анафілактичної реакції після введення будь-якої вакцини проти COVID-19 має бути негайно доступна відповідна медична допомога для лікування алергічних реакцій негайного типу. Реципієнти вакцини проти COVID-19 повинні бути перевірені на наявність негайних побічних реакцій.

В осіб з ослабленим імунітетом, у тому числі тих, хто проходить імуносупресивну терапію, реакція на ці вакцини може бути знижена.

Побічні ефекти вакцин проти COVID-19

Повідомлялося про рідкісні важкі алергічні реакції, включаючи анафілаксію.

Інші поширені побічні реакції:

- біль у місці ін'єкції, набряк та почервоніння;
- втома;
- головний біль;
- болі в м'язах та суглобах;
- лихоманка та озноб;
- нудота;
- нездужання;
- лімфаденопатія.

Побічні ефекти зазвичай спостерігаються кілька днів.

Після вакцинації проти COVID-19 може виникати реактивна лімфаденопатія.

Неспецифічна профілактика

Заходи щодо джерела (хворого) інфекції:

- ізоляція хворих у боксовані приміщення/палати інфекційного стаціонару;
- використання масок у хворих, які повинні змінюватися кожні 2 год;
- транспортування хворих на спеціальному транспорті;
- дотримання хворими кашльової гігієни;
- використання одноразового медичного інструментарію.

Заходи, спрямовані на механізм передачі збудника інфекції:

- миття рук;
- використання медичних масок;
- використання спецодягу для медпрацівників;
- проведення дезінфекційних заходів;
- забезпечення знезараження повітря;
- утилізація відходів класу В.

Заходи, спрямовані на сприйнятливий контингент:

– елімінаційна терапія, що включає обробку слизової оболонки порожнини носа ізотонічним розчином хлориду натрію, забезпечує зниження числа як вірусних, так і бактеріальних збудників інфекційних захворювань;

– використання лікарських засобів для місцевого застосування, які мають бар'єрні функції;

– своєчасне звернення до лікувальних закладів за медичною допомогою у разі появи симптомів ГРВІ є одним із ключових факторів профілактики ускладнень.

Теоретичні питання

1. Характеристика збудників коронавірусної інфекції.
2. Морфологія та антигенна структура вірусу SARS-CoV-2.
3. Особливості реплікації вірусу SARS-CoV-2.
4. Епідеміологія, патогенез та основні клінічні форми COVID-19.
5. Особливості клінічних проявів COVID-19 у літніх людей, дітей та вагітних.
6. Методи лабораторної діагностики COVID-19.
7. Методи лікування COVID-19.
8. Специфічна та неспецифічна профілактики COVID-19.

Практичні завдання, які виконуються на занятті

1. Вивчення демонстраційних препаратів.
2. Розбір схеми лабораторної діагностики COVID-19.
3. Замальовка морфологічної структури вірусу SARS-CoV-2 до протоколу.
4. Оформлення протоколу.

Тестові завдання

1. Збудники коронавірусної інфекції відносяться до великої групи РНК-вірусів, які за результатами серологічного аналізу включають чотири роди. Які представники з наведених нижче не відносяться до родини *Coronaviridae*?
A. Alphacoronavirus. *D. Deltacoronavirus.*
B. Betacoronavirus. *E. Gammacoronavirus.*
C. Omegacoronavirus.
2. Пандемія COVID-19 призвела до розповсюдження збудника на всіх континентах. Яку офіційну назву призначив Міжнародний комітет з таксономії вірусів новому штаму коронавірусу?
A. SARS-CoV. *D. SARS-CoV-2.*
B. MERS-CoV. *E. 2019-H CoV.*
C. SARS-CoV-19.
3. Збудник коронавірусної інфекції SARS-CoV-2 відноситься до оболонкових РНК-вірусів зі спіральним типом симетрії. У структурі вірусу наявні декілька антигенів, які виконують різні функції. Який білок бере участь у процесах адгезії вірусу до клітин хазяїна?
A. Білок M. *D. Білок E.*
B. Біло S. *E. Білок N.*
C. Білок P.
4. Хворий 54 років звернувся до лікаря зі скаргами на підвищення температури тіла до 38,2 °С, загальну слабкість, сухий кашель та втрату смаку. За 7 днів до початку захворювання був у контакті з родичем, у якого на другий день

після звернення до лікарні виявлено коронавірусну інфекцію. Який біоматеріал необхідно взяти у хворого для виявлення вірусу SARS-COV-2?

A. Кров.

D. Випорожнення.

B. Сеча.

E. Слина.

C. Мазок з носоглотки.

5. Усі зразки біоматеріалу, отримані від хворих з COVID-19 для лабораторного дослідження, слід вважати потенційно інфікованими, і під час роботи з ними повинні враховуватися вимоги «Безпека роботи з мікроорганізмами I–II груп патогенності». До якої групи патогенності відноситься новий штам коронавірусу SARS-COV-2?

A. I.

B. II.

C. III.

D. IV.

E. V.

6. У патогенезі коронавірусної хвороби важлива роль належить S-протеїну, який необхідний для проникнення SARS-CoV-2. Як називаються специфічні рецептори, розташовані на клітинах-мішенях, з якими відбувається зв'язування вірусу?

A. Легеневі J-рецептори.

D. ACE2.

B. CD4+.

E. CD8+.

C. Хеморецептори.

7. Пацієнт 62 років протягом тижня мав симптоми ГРПІ з невеликим підвищенням температури тіла і рідким кашлем. До лікаря не звертався. У цей час стан здоров'я погіршився. Хворий відзначає задишку та відчуття закладеності у грудній клітці. Лікар запідозрив COVID-19, у зв'язку з чим проведено дослідження мазків з ротоглотки та носоглотки. Результат виявився негативним. Які види досліджуваного матеріалу необхідно взяти у хворого у такій ситуації з метою виявлення вірусу?

A. Кров.

D. Випорожнення

B. Сеча.

E. Мокротиння.

C. Слина.

8. Виявлення РНК SARS-CoV-2 має основне значення для етіологічної лабораторної діагностики COVID-19. Назвіть основний метод, який дозволяє підтвердити діагноз коронавірусної інфекції.

A. ІФА.

D. РЗК.

B. РІФ.

E. Культивування вірусу у культурі клітин.

C. ПЛР.

9. До лікаря звернулася жінка 35 років зі скаргами на високу температуру, сухий кашель та виражену слабкість. Після проведення клініко-лабораторних досліджень встановлено діагноз COVID-19. Який інкубаційний період характерний для цього захворювання?

A. 3–4 дні.

D. 5–7 днів.

B. 4–9 днів.

E. 2–14 днів.

C. 7–10 днів.

10. При важкому перебігу COVID-19 можуть спостерігатися швидко прогресуюче ураження нижніх дихальних шляхів, пневмонія, гостра дихальна недостатність, сепсис та септичний шок. Назвіть основний фактор, який має вплив на перебіг коронавірусної інфекції:

- A. Хронічні бронхолегеневі захворювання.*
- B. Цукровий діабет.*
- C. Артеріальна гіпертензія.*
- D. Ожиріння.*
- E. Онкологічні захворювання.*

11. Після поїздки до Італії в родині із трьох осіб двоє перенесли коронавірусну інфекцію у легкій формі. Третій член сім'ї не мав жодних ознак інфекції. За допомогою якого методу діагностики можна визначити, чи перенесла ця людина безсимптомну інфекцію?

- A. Визначення антитіл за допомогою ІФА.*
- B. Визначення РНК збудника методом ПЛР.*
- C. Визначення антигенів за допомогою РІФ.*
- D. Рентгенологічне дослідження.*
- E. Коагулограма.*

12. Клінічні прояви COVID-19 можуть зберігатися тривалий час та характеризуються підвищеною втомлюваністю, психічними розладами, міалгіями, болями в суглобах та розладами слуху. Як називається така клінічна форма, яка розвивається впродовж 6 міс після перенесеного захворювання?

- A. Синдром хронічної втомлюваності.*
- B. Субкомпенсована енцефалопатія.*
- C. Постковідний синдром.*
- D. Полінейропатія.*
- E. Синдром токсичного шоку.*

13. Вираженість клінічних проявів коронавірусної інфекції варіює від відсутності симптомів (безсимптомний перебіг) або легких респіраторних симптомів до тяжкої форми. Назвіть найчастіший прояв тяжкого гострого респіраторного синдрому:

- A. Гостра серцева недостатність.*
- B. Гострої ниркової недостатності.*
- C. Дистрес-синдром.*
- D. ДВЗ-синдром.*
- E. Вірусна пневмонія.*

14. Ефективним заходом від інфікування COVID-19 є вакцинопрофілактика. Які вакцини не використовують в даному випадку?

- A. Векторні (рекомбінантні).*
- B. Інактивовані.*
- C. РНК-вакцини.*
- D. Хімічні.*
- E. Субодиничні.*

15. Для профілактики розповсюдження коронавірусної інфекції використовують специфічні та неспецифічні методи. Назвіть заходи, які спрямовані на механізм передачі збудника інфекції:

- A. Використання медичних масок.*
- B. Ізоляція хворих у боксовані приміщення.*
- C. Транспортування хворих на спеціальному транспорті.*
- D. Обробка слизової порожнини носа антисептиками.*
- E. Своєчасне звернення до лікаря.*

Правильні відповіді:

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
<i>C</i>	<i>D</i>	<i>B</i>	<i>C</i>	<i>B</i>	<i>D</i>	<i>E</i>	<i>C</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>A</i>	<i>C</i>	<i>E</i>	<i>D</i>	<i>A</i>

Література

1. Внутрішня медицина : підруч. для студентів закладів вищ. мед. освіти III–IV рівня акредитації та лікарів післядипл. освіти на основі рекомендацій доказової медицини / укл.: Н. М. Шуба, О. Г. Несукай, О. П. Борткевич ; за ред. В. М. Коваленка. 3-тє вид., переробл. і доповн. Київ : МОРІОН, 2019. 960 с.

2. Голубовська О. А. Постковідний синдром: патогенез та основні напрями реабілітації // Медична газета «Здоров'я України 21 сторіччя». 2021. № 3 (496). С. 24–26.

3. Про затвердження Протоколу надання реабілітаційної допомоги пацієнтам з коронавірусною хворобою (COVID-19) та реконвалесцентам : наказ МОЗ України від 20.04.2021 № 771.

4. Надання медичної допомоги для лікування коронавірусної хвороби (COVID-19) : протокол № 2948 від 30 грудня 2021 року.

5. Abd-Elsalam S, Salama M, Soliman S, Naguib AM, Ibrahim IS, Torky M, El Ghafar MSA, Abdul-Baki EAM, Elhendawy M. RETRACTED: Remdesivir Efficacy in COVID-19 Treatment: A Randomized Controlled Trial. *Am J Trop Med Hyg.* 2021 Sep 10;106(3):886-890. doi: 10.4269/ajtmh.21-0606.

6. Chan JF, Li KS, To KK, Cheng VC, Chen H, Yuen KY. Is the discovery of the novel human betacoronavirus 2c EMC/2012 (HCoV-EMC) the beginning of another SARS-like pandemic? *J. Infect.* 2012;65:477–489. doi: 10.1016/j.jinf.2012.10.002.

7. Chen N., Zhou M., Dong X., Qu J., Gong F., Han Y., Qiu Y., Wang I., Liu Y., Wei Y., et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: A descriptive study. *Lancet.* 2020;395:507–513. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.

8. COVID-19 rapid guideline: managing the long-term effects of COVID-19. NICE guideline. 18 December 2020. <https://www.nice.org.uk/guidance/ng188>.

9. Gorbalenya AE, Baker SC, Baric RS, Groot RJD, Gulyaeva AA, Haagmans BL. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: Classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat. Microbiol.* 2020;5:536–544. doi: 10.1038/s41564-020-0695-z.

10. Grudlewska-Buda K, Wiktorczyk-Kapischke N, Walecka-Zacharska E, Kwiecińska-Piróg J, Buszko K, Leis K, Juszczyk K, Gospodarek-Komkowska E, Skowron K. SARS-CoV-2-Morphology, Transmission and Diagnosis during Pandemic, Review with Element of Meta-Analysis. *J Clin Med.* 2021 May 3;10(9):1962. doi: 10.3390/jcm10091962.

11. Gussow AB, Auslander N, Faure G, Wolf YI, Zhang F, Koonin EV. Genomic determinants of pathogenicity in SARS-CoV-2 and other human coronaviruses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2020;117:15193–15199. doi: 10.1073/pnas.2008176117.
12. Horby P, Lim WS, Emberson JR, Mafham M, et al. Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19. *N Engl J Med*. 2021 Feb 25;384(8):693-704. doi: 10.1056/NEJMoa2021436.
13. Islam KU and Iqbal J (2020) An Update on Molecular Diagnostics for COVID-19. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 10:560616. doi: 10.3389/fcimb.2020.560616.
14. Jan H, Faisal S, Khan A, Khan S, Usman H, Liaqat R, Shah SA. COVID-19: Review of epidemiology and potential treatments against 2019 Novel Coronavirus. *Discoveries (Craiova)*. 2020 Apr-Jun; 8(2): e108.
15. Laboratory testing strategy recommendations for COVID-19: interim guidance. https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/331509/WHO-COVID-19-lab_testing-2020.1-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y
16. Meo SA, Klonoff DC, Akram J. Efficacy of chloroquine and hydroxychloroquine in the treatment of COVID-19. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2020 Apr;24(8):4539-4547. doi: 10.26355/eurrev_202004_21038. PMID: 32373993.
17. Naeem A, Tabassum S, Gill S, et al. (March 01, 2023) COVID-19 and Cardiovascular Diseases: A Literature Review From Pathogenesis to Diagnosis. *Cureus*. 15(3): e35658. doi:10.7759/cureus.35658.
18. 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
19. Wang Q, Zhang Y, Wu L, Niu S, Song C, Zhang Z, Lu G, Qiao C, Hu Y, Yuen YK, et al. Structural and functional basis of SARS-CoV-2 entry by using human ACE2. *Cell*. 2020 May 14;181(4):894-904.e9. doi: 10.1016/j.cell.2020.03.045.
20. Wang Y, Kang H, Liu X, Tong Z. Combination of RT-qPCR testing and clinical features for diagnosis of COVID-19 facilitates management of SARS-CoV-2 outbreak. *J. Med. Virol*. 2020;92:538–539. doi: 10.1002/jmv.25721.

21. World Health Organization (WHO) Off-label use of medicines for COVID-19, 31.03.2020.

<https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/off-label-use-of-medicines-for-covid19>.

22. World Health Organization (WHO). Clinical management of COVID-19, 27.05.2020.

<https://www.who.int/publications-detail/clinical-management-of-covid-19>.

23. Wu C, Liu Y, Yang Y, Zhang P, Zhong W, Wang Y, Wang O, Xu Y, Li M, Li X, et al. Analysis of therapeutic targets for SARS-CoV-2 and discovery of potential drugs by computational methods. *Acta Pharm. Sin. B.* 2020;10:766–788. doi: 10.1016/j.apsb.2020.02.008.

24. Yamamoto, K. Adverse effects of COVID-19 vaccines and measures to prevent them. *Virology*, 19, 100 (2022). <https://doi.org/10.1186/s12985-022-01831-0>.

25. Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, Si HR, Zhu Y, Li B, Huang CL, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020 Mar;579(7798):270-273. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7.

Навчальне видання

Мішина Марина Митрофанівна
Коцар Олена Василівна
Кочнева Олена Володимирівна
Калашник-Вакуленко Юлія Михайлівна

ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА КОРОНАВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ

***Навчальний посібник
з дисципліни «Мікробіологія, вірусологія та імунологія»
для студентів II–III курсів
медичного та стоматологічного факультетів***

За редакцією М. М. Мішиної

Відповідальний за випуск О. В. Кочнева



Редактор М. В. Тарасенко
Комп'ютерна верстка О. Ю. Лавриненко
Комп'ютерний набір О. В. Кочнева

Формат А5. Ум. друк. арк. 2,8. Зам. № 23-34323.

**Редакційно-видавничий відділ
ХНМУ, пр. Науки, 4, м. Харків, 61022
izdatknmurio@gmail.com**

Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи до Державного реєстру видавництв, виготівників і розповсюджувачів видавничої продукції серії ДК № 3242 від 18.07.2008 р.