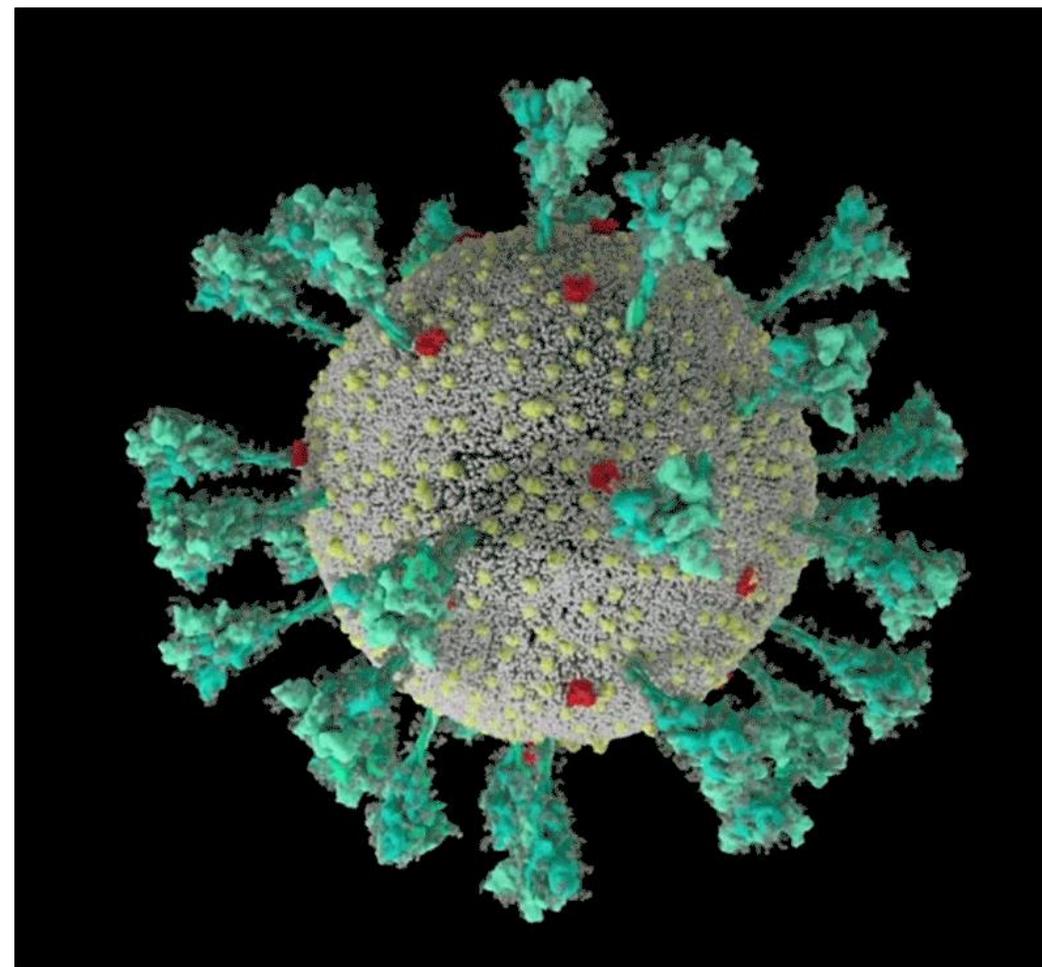




Симуляционный курс по оказанию помощи пациентам с тяжелым и критическим COVID-19

2021

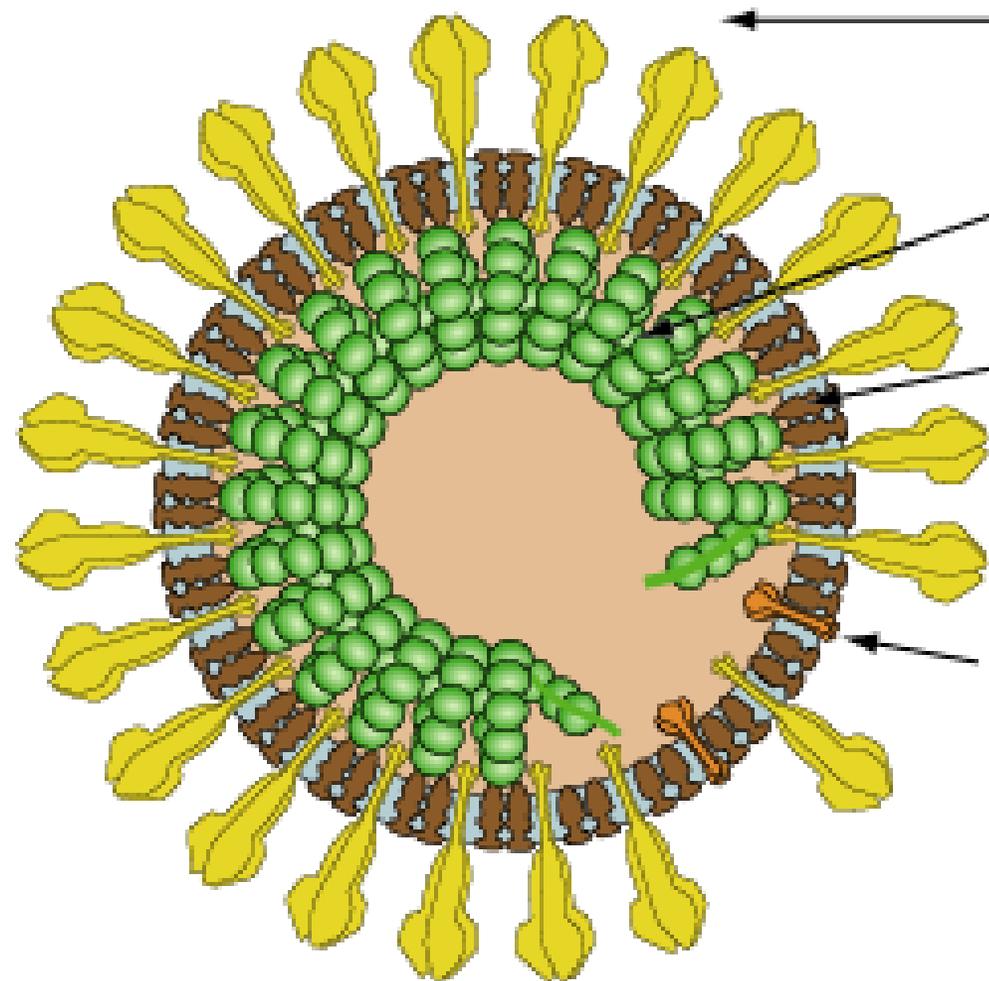
Лабораторная диагностика COVID-19



Общая информация - SARS-CoV-2

1. Относится к роду *Betacoronavirus* семейства *Coronaviridae*
2. **Оболочечный вирус**, геном – РНК
3. Геном - *неструктурные белки*, четыре *структурных белка* (спайк-белок (**S**), белок оболочки (**E**), мембранный белок (M), нуклеокапсидный белок (**N**)) и другие
4. Для входа в клетку вирус связывается с белком **АПФ2** (ангиотензин-превращающий фермент–2)

SARS-CoV-2

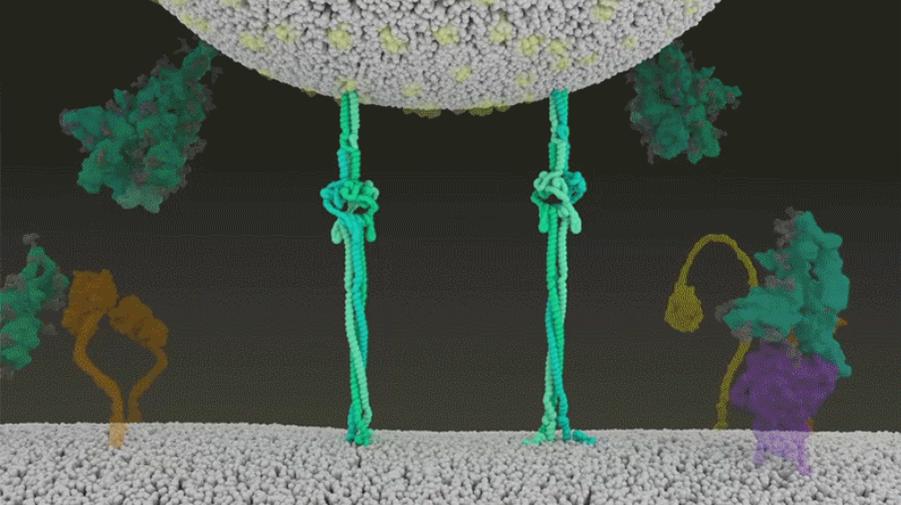


S (spike, шип) - белок

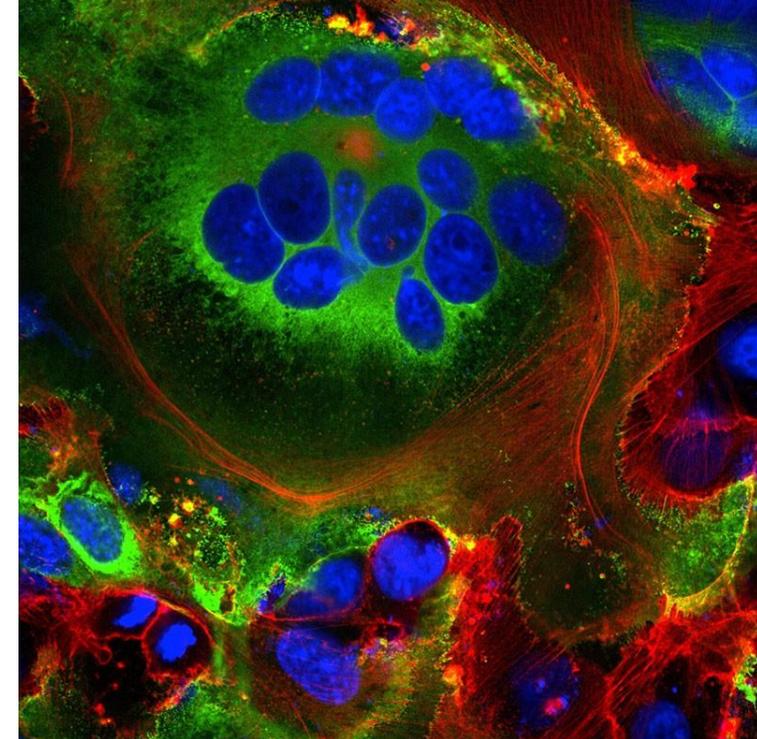
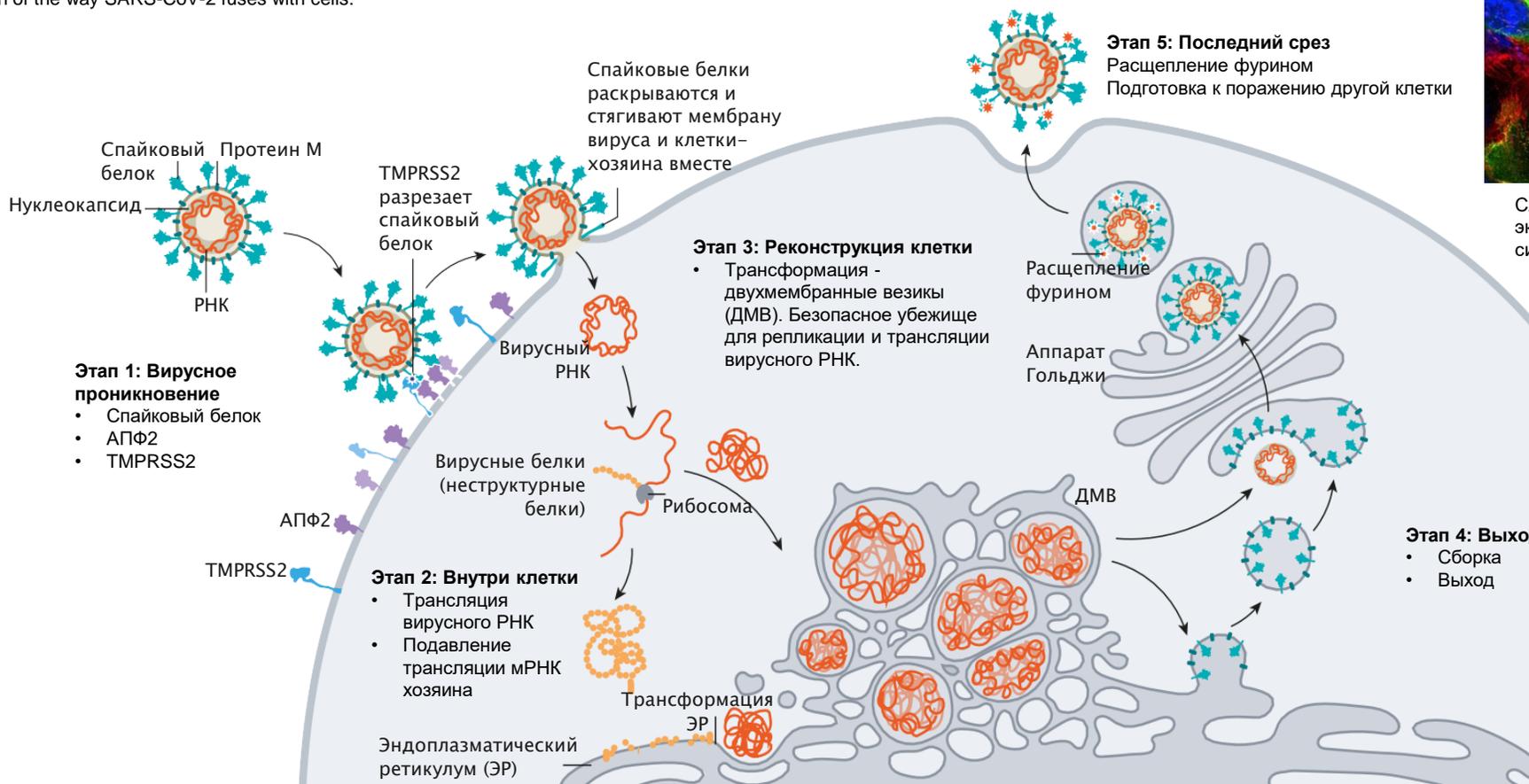
N (нуклеокапсид) - белок

M (мембрана) - белок

E (оболочка) - белок



An animation of the way SARS-CoV-2 fuses with cells.



Слитые клеточные структуры (синцитии) в клетках, экспрессирующих спайковый белок SARS-CoV-2 (зеленый). Ядра - синий, скелет клетки - красный

Adapted from Scudellari, M. (2021). How the coronavirus infects cells-and why Delta is so dangerous. Nature, 595(7869), 640-644.

Общая информация - SARS-CoV-2 и другие коронавирусы



1. Вирус SARS-CoV-2 является **седьмым** из числа известных коронавирусов, которые способны заражать человека.
2. Четыре из этих вирусов - **229E, NL63, HKU1 и OC43** - являются эндемичными **сезонными вирусами**, которые, как правило, вызывают респираторные заболевания **легкого течения**.
3. Два других вируса **более вирулентны** и являются возбудителями зоонозов – ближневосточного респираторного синдрома (**MERS-CoV**) и тяжелого острого респираторного синдрома – 1 (вирус **SARS-CoV-1**).

Общая информация

- 1. Инкубационный период** в среднем составляет 5–6 дней и находится в диапазоне **от 1 до 14 дней** от момента контакта с источником инфекции.
- Вирус может определяться в верхних дыхательных путях (**ВДП**) за **1–3 дня до появления симптомов** заболевания. **Самая высокая концентрация вируса SARS-CoV-2 в ВДП приходится практически на то же время, что и дебют симптомов**, после чего она начинает постепенно снижаться.
- 3. На второй неделе** болезни отмечается появление вирусной РНК в нижних дыхательных путях (**НДП**) и, у ряда пациентов, в **фекалиях**.

Общая информация



1. У некоторых пациентов вирусная РНК может определяться на протяжении всего нескольких дней, тогда как у других лиц она определяется в течение нескольких недель и, возможно, месяцев

2. Наличие вирусной РНК, которое наблюдается продолжительное время, не является однозначным свидетельством постоянной контагиозности.

3. Условия для выписки пациентов из изоляции (то есть для отмены дополнительных мер профилактики передачи инфекции) без необходимости повторного тестирования:

- *для пациентов с клиническими проявлениями: через **10 дней** после появления симптоматики плюс не менее **3 дней** без симптомов (в частности, без лихорадки и респираторных проявлений);*

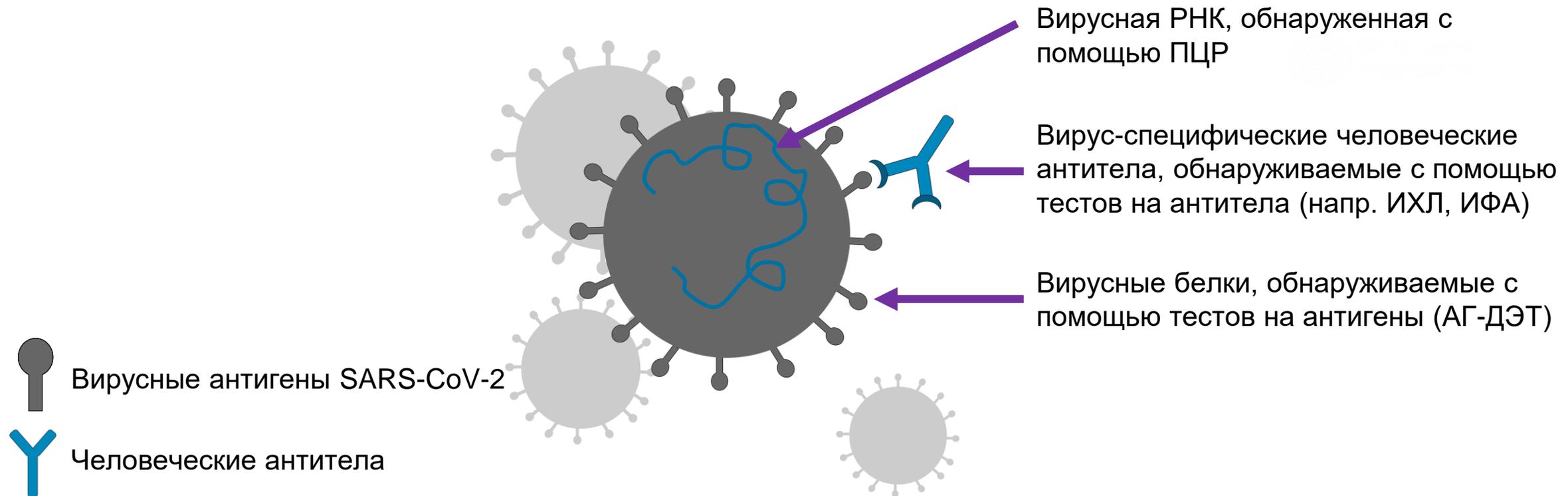
Основные тесты SARS-CoV-2

(для клиники)



Применение	Тип теста	Мишень теста	Лабораторный метод	Место тестирования
Выявление текущей инфекции SARS-CoV-2	Молекулярные тесты (ТАНК, МАНК)	Вирусный генетический материал	Амплификация небольшого количества вирусного генома (РНК) до определяемого уровня	Лаборатория или вблизи с пациентом
	Антигенные тесты	Вирусные белки	Захват антигенов на тест-полоске, вызывающий изменение цвета (например, ДЭТ при малярии)	По месту лечения
Оценка прошлой инфекции	Тесты на антитела (серология)	Не рекомендуется использовать для выявления пациентов с активной инфекцией SARS-CoV-2		

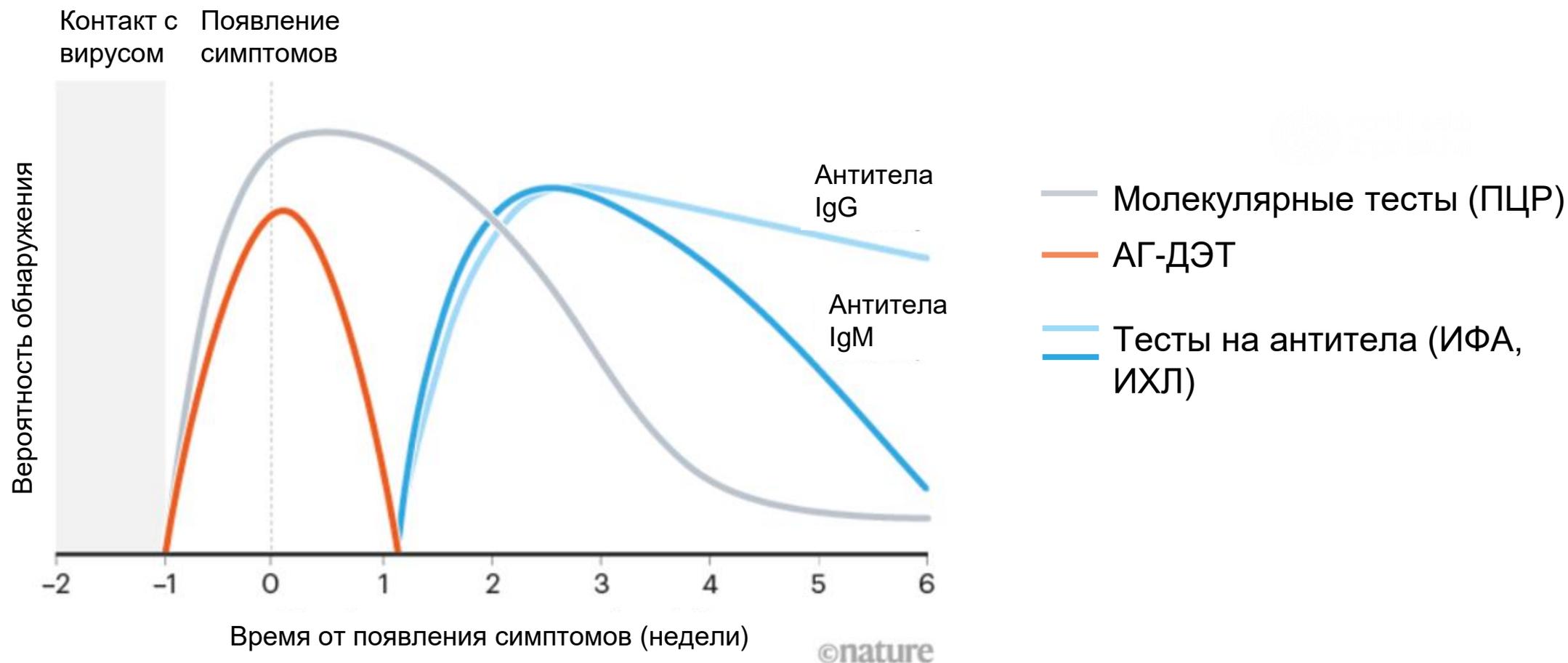
Различные тесты обнаруживают разные части вируса SARS-CoV-2



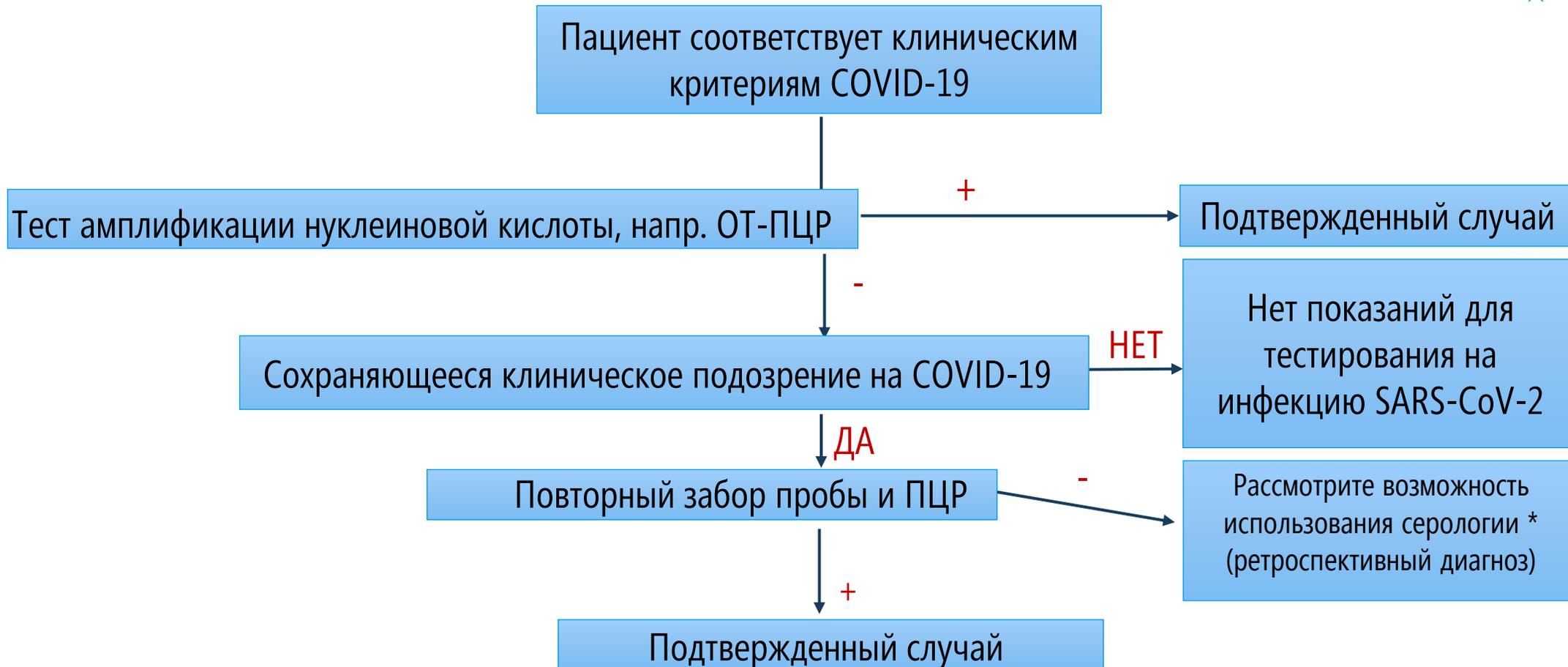
Адаптировано из учебного пакета АГ-ДЭТ SARS-CoV-2

<https://extranet.who.int/hslp/content/sars-cov-2-antigen-rapid-diagnostic-test-training-package>

Время отбора проб после начала заболевания, связанное с вероятностью обнаружения с помощью различных тестов



Какой диагностический тест следует выбрать?



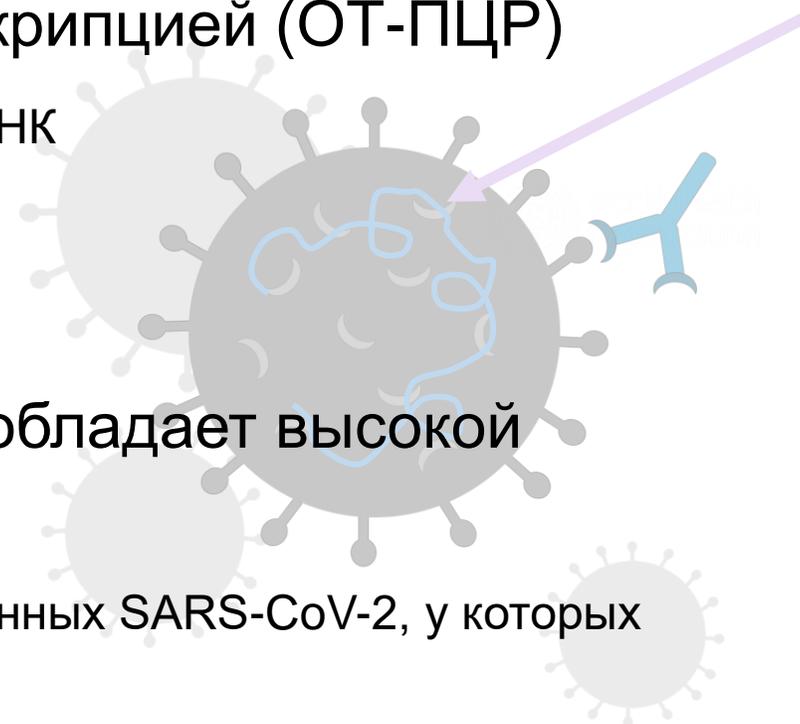
* серология: двухточечный сбор сыворотки для обнаружения антител с (полу)количественным серологическим анализом в острой фазе и через 2-4 недели.

1. Полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР)

- тип молекулярного анализа, который определяет вирусную РНК
- обратная транскрипция
- ПЦР

2. При проведении в идеальных условиях ОТ-ПЦР обладает высокой чувствительностью и высокой специфичностью

- Чувствительность относится к проценту пациентов, инфицированных SARS-CoV-2, у которых определена инфекция SARS-CoV-2
- Специфичность относится к проценту неинфицированных людей, которые определены как не инфицированные SARS-CoV-2
- **Молекулярные анализы SARS-CoV-2 могут быть положительными независимо от симптомов**



Пробы, подлежащие отбору

1. Материал из верхних дыхательных путей - на ранней стадии, особенно у пациентов с бессимптомным/пре-симптоматическим или легким течением заболевания

2. Чувствительность теста на определение респираторных вирусов возрастает, и надежность результата повышается при исследовании материала комбинированного мазка из носоглотки и ротоглотки, взятого у одного и того же пациента

Пробы, подлежащие отбору (продолжение)

3. Материал из нижних дыхательных путей - на более поздних этапах COVID-19, а также при обследовании пациентов, у которых результат исследования материала из ВДП отрицателен, однако имеются весомые основания для клинического подозрения на COVID-19

4. Стимуляция образования мокроты не рекомендуется, так как это увеличивает риск передачи инфекции по аэрозольному механизму

5. Отбор материала из НДП следует проводить **наименее инвазивным методом**

Пробы, подлежащие отбору (продолжение)

6. В случае отрицательных результатов исследования материала из ВДП и НДП и наличии клинического подозрения на инфекцию COVID-19, **начиная со второй недели** после возникновения симптомов заболевания для исследования **образцов фекалий** могут применяться МАНК

7. Метод должен быть **подтвержден лабораторией, которая проводит тестирование**

Особенности отбора биоматериала

- **Нельзя использовать зонды на деревянном стержне и тампоны из кальция альгината и хлопка/ваты**, так как они **инактивируют вирусы** и могут **ингибировать реакцию ПЦР** → синтетические материалы (стерильные дакроновые или вискозные тампоны с алюминиевым или пластиковым стержнем)
- Использовать **ножницы не рекомендуется** (риск контаминации)

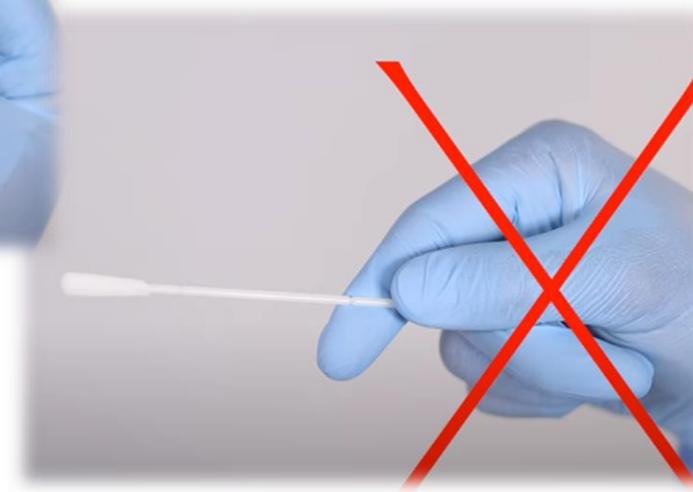
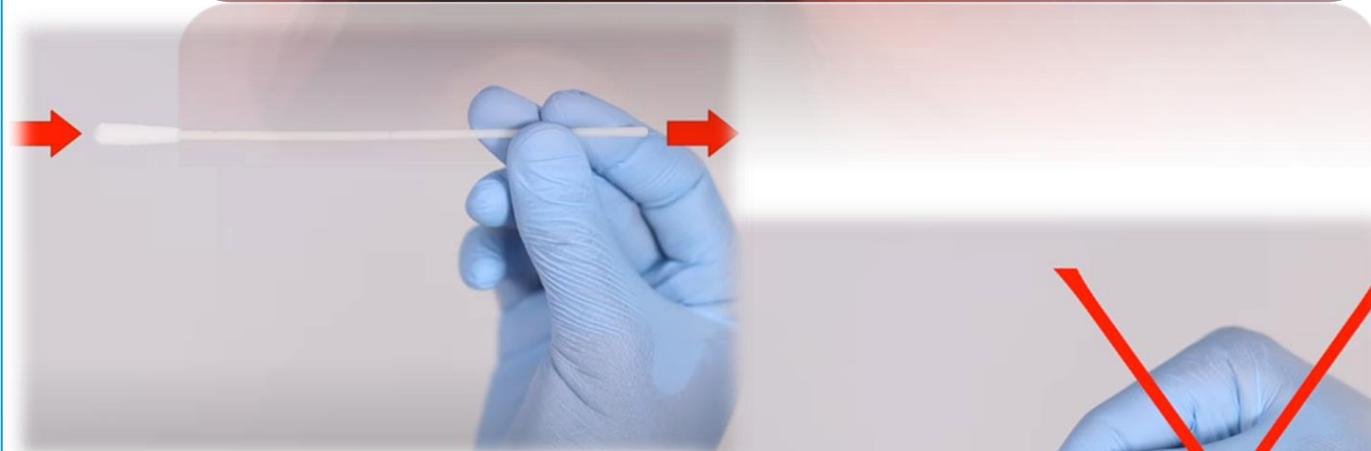


Техника взятия мазка из носоглотки

Нужно помнить, что от правильного взятия материала зависит результативность исследований

Тампон с гибким стержнем

1. Взять в руку тупфер в виде карандаша
2. Попросите пациента немного запрокинуть голову назад
3. Тупфер ввести в полость носа, следуя дну полости носа, на глубину 5-6 см до нижней раковины у взрослых
4. Оставьте тампон на несколько секунд. Поверните два-три раза, затем медленно извлеките тампон вращательными движениями по поверхности задней части носоглотки;
5. Поместить тупфер в пробирку с вирусной транспортной средой
6. Рабочий конец тампона поместить в пробирку с ВТС, обломить и закрыть крышку винтовыми движениями



Техника взятия мазка из ротоглотки

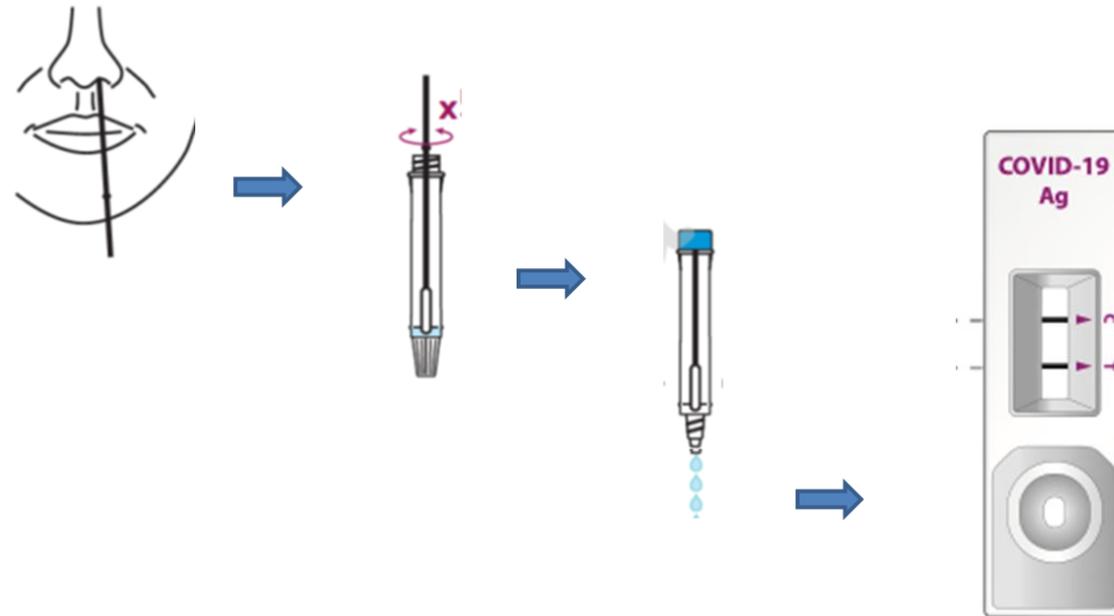
Тампон с жестким стержнем

1. Взять в руку второй тупфер в виде карандаша
2. При необходимости взять шпатель другой рукой и прижать шпателем язык
3. Попросить пациента **сказать «а-а-а»**, чтобы поднялся небный язычок
4. Мягкими вращающимися движениями собрать мазок из задней стенки глотки, а также с поверхности миндалин и задних дужек
5. Рабочий конец тампона поместить в пробирку с ВТС, обломить и закрыть крышку винтовыми движениями

При взятии мазков с ротоглотки избегать касания тампона языка, десен, зубов



Диагностические экспресс-тесты (антигенные ДЭТ) на SARS-CoV-2

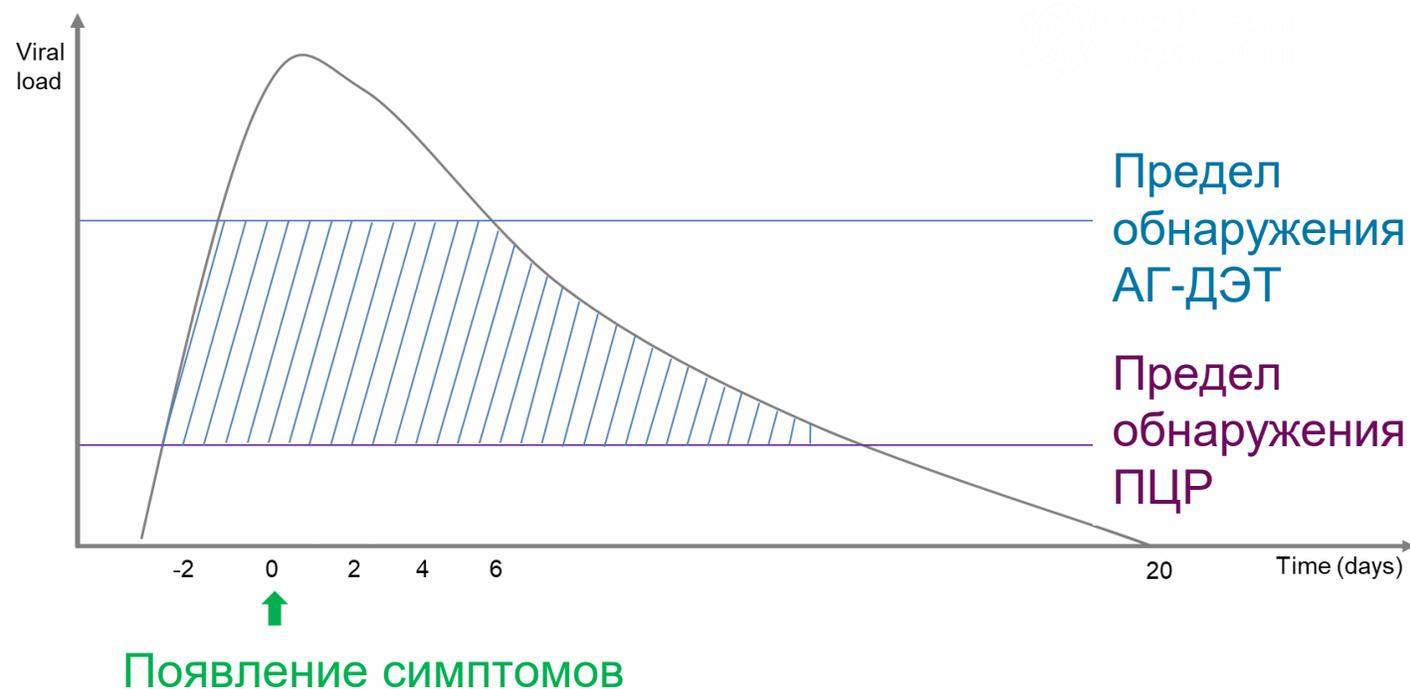


- **АГ-ДЭТ не следует рассматривать как взаимозаменяемые с ПЦР.**

Диагностические экспресс-тесты (антигенные ДЭТ)

АГ-ДЭТ обычно **менее чувствительны** по сравнению с ПЦР.

- АГ-ДЭТ лучше всего работают в фазах с высокой вирусной нагрузкой (обычно за **1-3 дня до** и в течение **5-7 дней после появления симптомов**).
- Инфекции с «низкой» вирусной нагрузкой можно пропустить.



Адаптировано из учебного пакета АГ-ДЭТ SARS-CoV-2

<https://extranet.who.int/hslp/content/sars-cov-2-antigen-rapid-diagnostic-test-training-package>

Общие рекомендации по использованию АГ-ДЭТ SARS-CoV-2¹



1. ВОЗ рекомендует рассмотреть возможность проведения АГ-ДЭТ SARS-CoV-2, если **передача COVID-19 широко распространенная в сообществе (>5% распространенность)**, система здравоохранения перегружена и / или **невозможно проверить все подозреваемые случаи с помощью ПЦР в приемлемые сроки** выполнения работ (> 48 часов).
2. Используемые тесты должны соответствовать минимальным критериям эффективности: **чувствительность $\geq 80\%$ и специфичность $\geq 97\%$.**

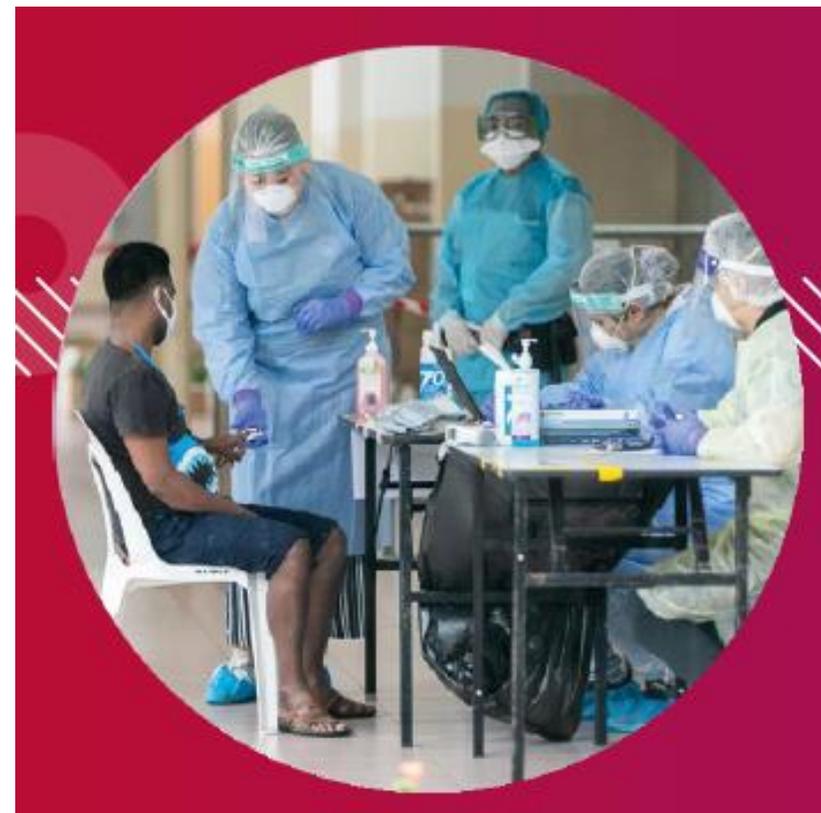
¹ Определение антигенов в диагностике инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2: Временные рекомендации, 6 октября 2021 г.
<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/347060/WHO-2019-nCoV-Antigen-Detection-2021.1-rus.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Кому нужно проводить тестирование с использованием АГ-ДЭТ?



1. Пациенты с **симптомами** инфекции (COVID-19) в течение **первых 5–7 дней** от момента возникновения симптомов заболевания
2. Лица **без симптомов** заболевания с **высоким риском инфицирования**, в том числе:
 - лиц, **контактировавших** с пациентами с **подтвержденным** диагнозом COVID19
 - медицинских работников (работающие с пациентами с **COVID-19**, работники учреждений **долговременного ухода**, другие в зависимости от группы риска)
3. Лица с **подозрением** на COVID-19 при **расследовании вспышек заболевания** (в том числе в периферийных районах, труднодоступных учреждениях и полужакрытых сообществах (например, школах, домах престарелых, круизных лайнерах, тюрьмах, на предприятиях и в общежитиях))
4. В районах с **ограниченной возможностью применения ПЦР**

Лица, имеющие **выраженные симптомы** и получившие **отрицательный результат АГ-ДЭТ**, но при этом состоящие в **группе высокого риска**, должны по возможности направляться на **повторное тестирование** с использованием **МАНК** при его наличии (результат менее чем за 24 часа), либо **АГ-ДЭТ** при отсутствии МАНК.



Тест на антитела (серология)



1. Серологический тест (анализ крови) может выявить **вирус-специфические антитела**, такие как **IgA, IgM, IgG**, или общие антитела с помощью иммуноанализа.
2. Серология **не является взаимозаменяемой и не заменяет ПЦР или АГ-ДЭТ** для обнаружения активной инфекции SARS-CoV-2.
3. Серологические исследования **не следует использовать в качестве самостоятельного диагностического теста** для выявления острого заболевания в клинической практике или для отслеживания контактов.

Тест на антитела (серология)



1. Интерпретацию результатов должен проводить эксперт.
2. **Обнаружение антител к SARS-CoV-2 не гарантирует, что они нейтрализующие или что они обеспечивают защитный иммунитет.**

В случае острой болезни собрать дополнительные образцы для дальнейшей лабораторной оценки



1. Мокрота на бактериологию:

- включая туберкулез (в стране с высокой распространенностью) или грибок (при иммунодепрессии) и т. д.

2. Образцы из других мест, которые могут быть инфицированы и могут содержать патогены в соответствии с клиническими показаниями:

- моча, спинномозговая жидкость, стул, плевральная жидкость, перитонеальная жидкость и т. д.

3. Два набора культур крови для бактериологии из двух разных мест (где это возможно) для пациентов с подозрением на сепсис.

Не забывайте о диффдиагностике и коинфекциях (напр. грипп)

Резюме

1. SARS-CoV-2

- в ВДП - 1–3 дня до появления симптомов, 5-7 дней с момента появления СИМПТОМОВ
- позднее НДП, фекалии

2. Самая высокая концентрация вируса SARS-CoV-2 в ВДП приходится практически на то же время, что и дебют симптомов

3. Не забывать про возможность ко-инфекций

4. Выявление текущей инфекции SARS-CoV-2 – ТАНК (ОТ-ПЦР) и АГ-ДЭТ

- ОТ-ПЦР – стандартный метод диагностики, высокая чувствительность и специфичность
- АГ-ДЭТ – при широкой распространенности (>5% по эпиднадзору), менее чувствительны по сравнению с ТАНК, определенные группы тестирования

Дополнительные ресурсы



- Как провести тестирование на SARS-CoV-2 с помощью экспресс-теста на антиген
<https://www.youtube.com/watch?v=hED71QH1XRo>
- Как собрать образцы из ротоглотки и носоглотки для диагностики COVID-19
<https://www.youtube.com/watch?v=jh6ls9oPyuw>
- Пакет учебных материалов «Диагностический экспресс-тест на антигены вируса SARS-CoV-2»
<https://extranet.who.int/hslp/ru/content/sars-cov-2-antigen-rapid-diagnostic-test-training-package>
- Руководство по внедрению: диагностические экспресс-тесты на антигены SARS-CoV-2 <https://we.tl/t-W3plSPAXvv>
- Определение антигенов в диагностике инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2: Временные рекомендации, 6 октября 2021 г. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/347060/WHO-2019-nCoV-Antigen-Detection-2021.1-rus.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Диагностическое тестирование для определения вируса SARS-CoV-2: Временные рекомендации, 11 сентября 2020 г. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/334254/WHO-2019-nCoV-laboratory-2020.6-rus.pdf>

Спасибо за внимание !