

## ОГЛЯДОВІ ПРАЦІ

DOI: [http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2021.1\(51\).226901](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2021.1(51).226901)

УДК 578.834:616-071:616-078

**К.М. Гуменюк, Д.О. Дубина, О.О. Юрченко**

ДУ «Український науково-дослідний протичумний інститут  
імені І. І. Мечнікова МОЗ України»,  
вул. Церковна, 2/4, Одеса, 65003, Україна  
тел.: +38(095) 844 66 12, e-mail: oksyurch@ukr.net

### **КОРОНАВІРУСНА ХВОРОБА (COVID-19). ВИКЛИКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ СПЕЦИФІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ**

*Пандемія коронавірусної хвороби (COVID-19), яка стартувала наприкінці 2019 року в Китаї, стала непередбаченим викликом для системи охорони здоров'я абсолютно усіх країн світу. Серед проблем, які потребували негайного вирішення, стало налагодження масової специфічної діагностики емерджентної інфекції, спричиненої коронавірусом SARS-CoV-2. У даному огляді представлені технології, які застосовуються для специфічної діагностики COVID-19. Обговорено переваги та обмеження найбільш поширених методологій, спрямованих на виявлення збудника або специфічних до нього антигел. Виявлення фрагментів геному вірусу за допомогою полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією в реальному часі (рЗТ-ПЛР) дозволило досягти високої точності діагностики. З самого початку пандемії та дотепер цей метод вважається «золотим» стандартом, незважаючи на обмеження, пов'язані з його високою вартістю, трудомісткістю та необхідністю проведення досліджень в спеціалізованих лабораторіях. Більш дешеві імунологічні методи мають недостатню діагностичну ефективність і можуть використовуватися лише як додаткові до молекулярного тестування. В огляді також представлені перспективні методи специфічної діагностики COVID-19, які засновані на молекулярно-генетичних технологіях, характеризуються простотою та швидкістю виконання, не потребують дорогого обладнання і можуть виконуватись в пунктах надання медичної допомоги.*

*Ключові слова: вірус SARS-CoV-2, специфічна діагностика, полімеразна ланцюгова реакція зі зворотною транскрипцією в реальному часі (рЗТ-ПЛР), імуноферментний аналіз (ІФА), швидкі діагностичні тести.*

У грудні 2019 року в Ухані, Китай, почали реєструватися випадки пневмонії невідомого походження [111]. Китайський центр з контролю та профілактики захворювань 7 січня 2020 року офіційно повідомив про спалах атипової пневмонії, викликаної новим патогенним коронавірусом [91], який пізніше отримав назву SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus

© К.М. Гуменюк, Д.О. Дубина, О.О. Юрченко, 2021



2 – коронавірус 2 важкого гострого респіраторного синдрому) [45], а респіраторне захворювання, спричинене ним, – коронавірусна хвороба COVID-19 (COronaVIrus Disease) [110]. Здатність вірусу SARS-CoV-2 до ефективної передачі від людини до людини призвела до його планетарного поширення. У березні 2020 року Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ) охарактеризувала захворюваність, спричинену новим коронавірусом, як пандемію [112]. Станом на 11 березня 2021 року в світі зареєстровано більше 118 млн. випадків захворювання, серед яких більше 2,6 млн. (2,22%) летальних [117].

Статистична інформація щодо кількості випадків COVID-19 у світі базується, переважно, на даних діагностичного тестування [113]. Розробка стратегії ефективної специфічної діагностики напряму залежить від рівня вивчення вірусу SARS-CoV-2, його геномного складу та антигенних властивостей, розуміння динаміки вірусної репродукції та кінетики імунної відповіді, спрямованої проти вірусу. Дослідження цих аспектів коронавірусної хвороби COVID-19 розпочалося з перших днів виявлення емерджентної інфекції. Так, перша генетична послідовність вірусу SARS-CoV-2 була завантажена до бази геномних даних GISAID вже 10 січня 2020 року [30].

Основною складністю при налагодженні тестування для діагностики COVID-19 стала необхідність проведення масового обстеження з використанням найнадійніших методів та з урахуванням наявних технологічних та економічних можливостей. У цій ситуації доречною стала розробка тестів на основі вже існуючих молекулярно-генетичних та імунологічних технологій, які широко застосовуються для специфічної діагностики інших інфекційних захворювань. Разом з цим, продовжується пошук нових підходів, які дозволять підвищити ефективність діагностики за рахунок використання високочутливих і високоспецифічних тестів, простих і швидких у виконанні, з високою пропускну здатністю та можливістю застосування за межами спеціалізованих лабораторій.

Тому, **метою** роботи є узагальнення поточного стану розробки методів специфічної діагностики коронавірусної хвороби COVID-19, визначення основних проблем, пов'язаних з тестуванням, та ідентифікація перспективних технологій, спрямованих на виявлення інфікування вірусом SARS-CoV-2.

### **Характеристика вірусу SARS-CoV-2**

Збудником нової коронавірусної хвороби COVID-19 є споріднений з коронавірусами кажанів вірус SARS-CoV-2, який відноситься до роду *Betacoronavirus* підродини *Orthocoronavirinae* родини *Coronaviridae* [45].

Вірус SARS-CoV-2 є оболонковим РНК-вірусом сферичної форми діаметром близько 120 нм. Геном вірусу представляє собою лінійну однопіткову РНК позитивної полярності та є одним з найбільших серед РНК-вірусів (29903 нуклеотиди) [118]. У вірусній РНК довга відкрита рамка зчитування (Open Reading Frame, ORF) та невеликі ділянки, що кодують структурні та додаткові білки, фланковані з обох сторін регіонами, що не транскрибуються (UnTranslated Regions, UTRs) [22]. ORF займає майже 2/3 довжини геному та має 2 рамки зчитування, що перекриваються (ORF1a та ORF1b) [28, 70] та кодують 16 неструктурних протеїнів, в тому числі, РНК-залежну РНК-полімеразу (RNA-dependent RNA polymerase, RdRp) та геліказу (helicase, Hel)



– ферменти реплікативно-транскрипційного комплексу (replicase-transcriptase complex, RTC), який забезпечує синтез субгеномних РНК (sgRNAs), що кодують 4 структурні (E, M, N, S) та 9 додаткових протеїнів [2, 22,26, 91] (рис. 1).

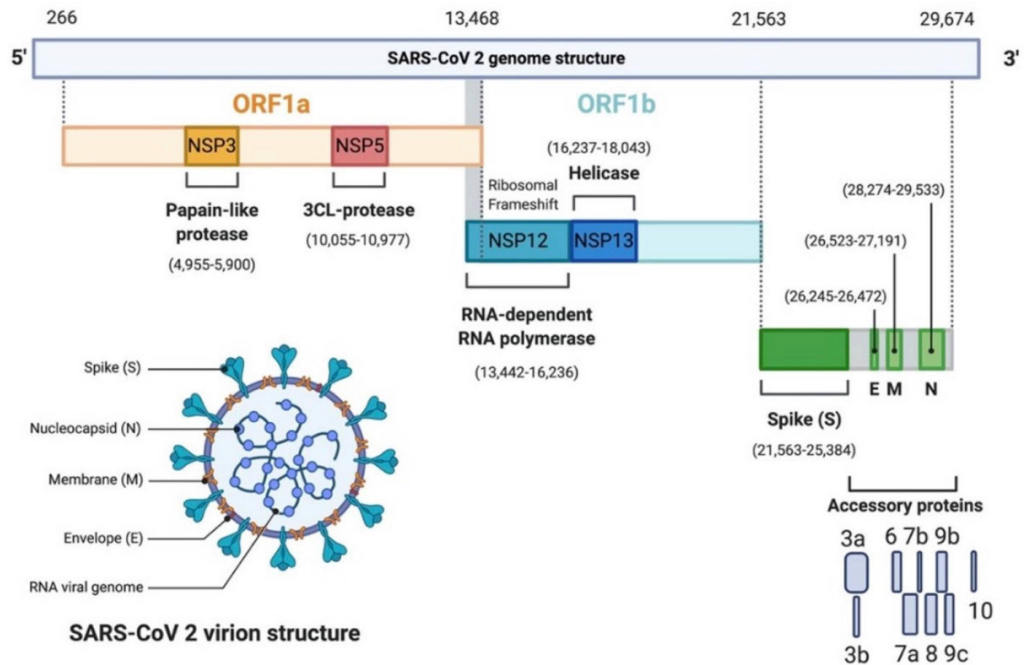


Рис. 1. Структура та геном вірусу SARS-CoV-2 [2]

Fig. 1. SARS-CoV-2 genome and structure [2]

### Динаміка вірусної репродукції

Після проникнення вірусу SARS-CoV-2 в організм людини інкубаційний період триває від 1-го до 14-ти днів (в середньому – 3–7 днів), а за деякими даними більше трьох тижнів [57, 89]. Концентрація вірусу SARS-CoV-2 на різних стадіях захворювання, в різних органах та рідинах відрізняється, що являється важливим критерієм для визначення того, який біологічний матеріал та в які строки необхідно відбирати з метою специфічної діагностики [38]. Для більшості пацієнтів середня тривалість від появи симптомів до ранньої, прогресувальної та реконвалесцентної стадій становить 4 (2–6), 12 (7–19) та 20 (10–33) днів відповідно [131]. Вірус швидко реплікується в організмі людини в перші декілька днів захворювання, досягаючи піку ( $10^4$ – $10^7$  копій/мл) в ранній та прогресувальній стадіях, після чого на стадії реконвалесценції вірусне навантаження зменшується до рівня нижче ніж  $10^4$  копій/мл. У середньому вірус виділяється протягом близько 20 днів, але його концентрація поступово знижується [91]. Концентрація вірусу в зразках, які визначені ВООЗ як клінічний матеріал для діагностики COVID-19, розрізняється: вірусне навантаження значно вище в біологічних матеріалах із респіраторного тракту – бронхоальвеолярний лаваж, ендотрахеальний аспірат, мокротиння, назо- та



орофарингеальні мазки (матеріал перелічений в порядку зниження вірусного навантаження) [100], ніж в інших біологічних зразках (фекалії, плазма і сироватка крові, сеча) [39, 60, 103]. Концентрація вірусу в клінічному матеріалі з нижніх дихальних шляхів вища, ніж з верхніх [60, 103]. Нещодавно слина була запропонована як надійний зразок для виявлення вірусу SARS-CoV-2 [7, 12, 99].

### **Кінетика гуморальної імунної відповіді**

Вірус SARS-CoV-2 містить чотири основні структурні білки, до яких можуть синтезуватися антитіла: поверхневий глікопротеїн шипа S, який складається з N-кінцевої субодиниці S1 та C-кінцевої субодиниці S2, білки оболонки E, мембрани M та нуклеокапсиду N [52].

Багато залишається невідомим стосовно рівня та тривалості гуморальної відповіді після інфікування вірусом SARS-CoV-2. Вважається, що специфічні імуноглобуліни ізотипів IgA, IgM та IgG синтезуються одночасно та починають виявлятися вже в перший тиждень захворювання [65, 69]. Інші дослідники спостерігали сероконверсію пізніше: приблизно через 7–14 днів після появи симптомів [34, 75, 128, 137], на 11–24 день захворювання [11], через 3 тижні після інфікування або появи симптомів [15, 93, 134, 136]. За різними оцінками титри антитіл до вірусу SARS-CoV-2 досягають максимуму через 6 днів (IgM, IgG) після сероконверсії [65] або через 3–4 тижня від початку захворювання, після чого поступово знижуються до рівня, що не детектується [53].

Динаміка титрів IgM протягом інфекції ще недостатньо вивчена, проте відомо, що 70% хворих мають IgM на 8–14 день захворювання [11]. Схожі результати отримані при дослідженні серійних зразків плазми госпіталізованих пацієнтів з COVID-19 – в середньому сероконверсія IgM відбувалася на 12 день хвороби [137]. В іншому дослідженні з використанням ІФА повідомляється про набагато раніше виявлення IgM – через 3–6 днів після появи симптомів [48].

Слід зазначити, що IgA також з'являються рано, одночасно з IgM, а їх рівень досягає максимуму через 18–21 день [79]. У 92,7% обстежених IgA починали виявлятися через 3–6 днів (медіана – 5 днів) після появи симптомів [48]. Можливо, що титри IgA вище, а їх присутність є більш тривалою, ніж IgM. IgA секретуються на поверхні слизових оболонок тіла, і їх виявлення та титр у сироватці або плазмі крові можуть відображати імунну функцію слизових оболонок [79].

IgG починають виявлятися через 3 дні з моменту появи симптомів або принаймні через 7–10 днів після зараження [65]. При дослідженні методом ІФА серійних зразків плазми госпіталізованих пацієнтів з COVID-19 продемонстровано, що в середньому сероконверсія IgG відбувається на 14 день захворювання [137], що співпадає з даними про виявлення IgG через 10–18 днів (медіана – 14 днів) після розвитку симптомів у 77,9% пацієнтів [48]. За іншими даними IgG можуть виявлятися через 20 днів після інфікування та присутні в крові тривалий час [134].

Досі залишаються мало вивченими тривалість гуморальної імунної відповіді, рівень захисного титру антитіл та швидкість його зниження в залежно-



сті від важкості перебігу інфекції [53]. Останні дані свідчать про те, що хворі з важким перебігом COVID-19 мають вищі титри IgM та IgG у порівнянні з пацієнтами з легкими захворюваннями або безсимптомними особами [66, 68]. У деяких легких та безсимптомних випадках антитіла не виявлялися протягом усього періоду досліджень (до 46 днів) [18, 64, 65, 66, 128]. Можливо, це пов'язано з елімінацією вірусу із організму ще до розвитку імунної відповіді завдяки чинникам вродженого імунітету. Сероконверсія також може бути відсутньою у хворих на хронічний лімфолейкоз (ХЛЛ) [42].

У пацієнтів, які одужують, виявляються нейтралізуючі антитіла через два–три місяці після зараження [61, 65]. Але зараз ще недостатньо даних щоб визначити, чи формується протективний імунітет та яка його тривалість.

### **Загальна характеристика методів специфічної діагностики COVID-19**

Точні лабораторні технології, застосовані в певні терміни від моменту інфікування, відіграють життєво важливу роль у специфічній діагностиці COVID-19. На початку інфекції, коли імунна відповідь ще не сформована, доцільно використовувати методи, спрямовані на виявлення вірусу SARS-CoV-2, його РНК або антигенів у біологічних субстратах, де відбувається репродукція збудника [13]. Починаючи з другого тижня після появи симптомів у діагностиці COVID-19 можуть застосовуватися імунологічні методи, спрямовані на детекцію специфічних противірусних антитіл – імуноглобулінів класів М, А та G, в сироватці крові [32].

Узагальнена інформація про основні технології, які здатні виявляти інфікування вірусом SARS-CoV-2, представлена в таблиці 1.

### **Методи детекції вірусу SARS-CoV-2**

**Ізоляція вірусу** на культурі клітин є найнадійнішим методом підтвердження етіології при діагностиці вірусних інфекцій. Для ізоляції вірусу SARS-CoV-2 можуть використовуватися культури клітин Caco-2, Vero, Vero E6, Vero E6/TMPRSS2 та VeroCCL81 [16, 49, 56, 92, 122]. Проте, даний метод не рекомендується для рутинної діагностики, в першу чергу, з огляду на високу небезпеку збудника, наслідком чого є необхідність проведення досліджень в умовах лабораторій рівня біологічного захисту 3 (BSL-3). Іншими недоліками методу є його тривалість, низка пропускна здатність в умовах обмежених ресурсів [97], а також менша чутливість у порівнянні з молекулярно-генетичними методами. Наприклад, ізолювати вірус SARS-CoV-2 в культурі клітин Caco-2 вдалося лише із 51,6% зразків, позитивних в рЗТ-ПЛР [56]. Проте, даний метод має вирішальне значення для оцінювання динаміки виділення вірусу хворими, вивчення ефективності вакцин та терапевтичних засобів, дослідження патогенезу та стабільності вірусу [21].

Іншим методом прямого виявлення вірусу SARS-CoV-2 є **електронна мікроскопія**, за допомогою якої вдалося ідентифікувати вірус у зразках внутрішніх органів – легень, серця, нірок та плаценти [17, 37, 84]. Але дослідження мазків із дихальних шляхів не дозволило виявити вірусні частинки навіть у зразках з низьким значенням порогового циклу (cycle threshold, Ct) в рЗТ-ПЛР, що відповідає великому числу копій РНК в біологічному мате-



Таблиця 1  
Характеристика деяких технологій, які дозволяють виявляти маркери коронавірусної хвороби COVID-19

Table 1  
Characteristics of some technologies which allow to detect coronavirus disease COVID-19 markers

Технологія	Маркер інфекції	Біологічний матеріал	Умови дослідження	Кількість зразків, яку можна тестувати одночасно	Тривалість дослідження
Ізоляція вірусу	Вірус	Зразки з дихальних шляхів	Лабораторія рівня біологічної безпеки 3 (BSL-3)	одиничні	до 2 тижнів
Полімеразна ланцюгова реакція зі зворотною транскрипцією в реальному часі (рЗГ-ПЦР)	Вірусна РНК	Зразки з дихальних шляхів	Спеціалізована лабораторія	до 384	3–8 годин
Петлева ізотермічна ампліфікація зі зворотною транскрипцією (RT-LAMP)	Вірусна РНК	Зразки з дихальних шляхів	Пункт надання допомоги	1–4	2–3 години
Імунохроматографія (ІХ)	Антиген або антитіла	Зразки з дихальних шляхів або кров	Пункт надання допомоги	1	15–20 хвилин
Імуноферментний аналіз (ІФА)	Антитіла	Сироватка крові	Спеціалізована лабораторія	до 96	2–3 години
Імунохемилюмінесцентний аналіз (ІХЛА)	Антитіла	Сироватка крові	Спеціалізована лабораторія	до 96	2–3 години
Реакція нейтралізації (РН)	Антитіла	Сироватка крові	Лабораторія рівня біологічної безпеки 3 (BSL-3)	одиничні	2–3 дні

ріалі [Michael Laue і Lars Möller, Інститут Роберта Коха, персональне повідомлення]. Відсутність відповідного обладнання в клінічних лабораторіях та низька пропускна здатність методу не дозволяють застосовувати електронну мікроскопію для рутинної діагностики, але безперечним залишається її значення для вивчення патогенезу та шляхів передачі інфекції [17, 37, 84].

Починаючи з першої публікації послідовності геному нового коронавірусу, почалася розробка діагностичних тестів для виявлення РНК вірусу SARS-CoV-2 на основі технологій *ампліфікації нуклеїнових кислот* (nucleic acid amplification tests, NAAT). Більшість наявних протоколів засновані на *полімеразній ланцюговій реакції зі зворотною транскрипцією в реальному часі* (рЗТ-ПЛР) (real-time reverse transcription polymerase chain reaction, rRT-PCR) та спрямовані на детекцію загально визначених генів-мішеней в різних комбінаціях [62, 91, 127]. Теоретичний поріг виявлення вірусу SARS-CoV-2 методом рЗТ-ПЛР становить < 10 копій/тест, що дозволяє здійснювати ранню діагностику навіть при низьких титрах вірусу [29].

Ген E (мішень *spE*) є найбільш консервативним регіоном в геномі вірусу SARS-CoV-2, через що його детекцію рекомендують використовувати як скринінговий інструмент першої лінії [67]. Наступними за рівнем консервативності є гени M та N [88]. Послідовність ORF1a та ген S є більш консервативними, ніж ділянка ORF1b [67]. Використання гену N як мішені дозволило підвищити чутливість рЗТ-ПЛР на порядок та в середньому в 4 рази в порівнянні з використанням послідовності ORF1b [29] та гену S відповідно [88]. Використання як мішені генів RdRp/He1 забезпечило підвищення чутливості та специфічності реакції за рахунок виключення перехресної реактивності з іншими поширеними респіраторними вірусами та дозволило виявляти інфікування вірусом SARS-CoV-2 у хворих на COVID-19 навіть при низькому вірусному навантаженні [100].

Для підвищення чутливості молекулярно-генетичних методів використовують як мінімум дві специфічні вірусні мішені. Проте, слід враховувати, що недостатня специфічність праймерів у мультиплексній системі рЗТ-ПЛР може призвести до їх перешкоджання один одному, тим самим знижуючи ефективність ампліфікації та чутливість системи [12, 31]. Вірус SARS-CoV-2 як представник РНК-вірусів з позитивною полярністю має високий рівень мутацій, що пояснюється недоліком коректувальної активності полімерази [91]. Така властивість ускладнює дизайн праймерів та зондів для рЗТ-ПЛР [127].

Виходячи з високої чутливості рЗТ-ПЛР, в умовах масового обстеження в певних регіонах або в групах осіб з низьким рівнем інфікування, потенційно ефективною стратегією використання ресурсів є тестування до п'яти зразків, об'єднаних в пули [12, 86]. Розроблено високочутливий та специфічний метод виявлення РНК вірусу SARS-CoV-2 на основі гніздової (nested) рЗТ-ПЛР в одній реакційній суміші. Підвищена чутливість даної реакції дозволяє використовувати її для скринінгового тестування слини та аналізу зразків об'єднаних в пули, що є актуальним під час масового тестування [124].

У діагностиці COVID-19 за допомогою рЗТ-ПЛР є вірогідність отримати хибні результати, що пов'язані з багатьма чинниками як преаналітичного, так і аналітичного етапів дослідження [12, 62, 91] (табл. 2).



Таблиця 2

### Ймовірні причини отримання хибних результатів на різних етапах рЗТ-ПЛР

Table 2

#### Probable reasons for getting incorrect results at different stages of rRT-PCR

Препаралітичний	Аналітичний
<ul style="list-style-type: none"> <li>— Тестування за межами діагностичного вікна</li> <li>— Низьке вірусне навантаження</li> <li>— Прийом пацієнтами антивірусних препаратів</li> <li>— Присутність у зразках інгібіторів ПЛР</li> <li>— Помилки на етапі відбору зразків (біологічний матеріал невідповідного типу, неадекватний за якістю та об'ємом) (20-30% помилок)</li> <li>— Помилки на етапі зберігання, та транспортування зразків (недотримання холодового ланцюга, тривалість транспортування)</li> <li>— Контамінація зразків</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>— Високе генетичне різноманіття вірусу SARS-CoV-2 (мутації в цільових послідовностях)</li> <li>— Неадекватна валідація тестів</li> <li>— Недостатня оптимізація праймерів та зондів</li> <li>— Неспецифічний відпал праймерів</li> <li>— Хибна інтерпретація результатів</li> <li>— Контамінація зразків</li> <li>— Інші специфічні технічні проблеми</li> </ul>

Крім того, слід враховувати вплив на чутливість процедур інактивації вірусу SARS-CoV-2 (термічної та хімічної), які можуть застосовуватися перед тестуванням з метою зниження ризику інфікування персоналу під час аналізу. Виділена з лізованих вірусів РНК може деградувати через розрив хімічних зв'язків, спричинений високою температурою при тепловій інактивації [81].

Хибнопозитивні результати також можуть бути отримані в результаті перехресної реактивності праймерів з нуклеїновими кислотами інших мікроорганізмів. Ще однією причиною хибнопозитивних результатів являється контамінація, яка пов'язана з великою завантаженістю лабораторій і одночасною обробкою великої кількості зразків [31].

Для виключення хибнонегативних результатів при діагностиці COVID-19 дослідження кожного зразка супроводжує внутрішній контроль, який підтверджує якість відбору та пробопідготовки РНК та відсутність інгібування ампліфікації. Внутрішній контроль може бути ендogenous, коли генетична мішень міститься в самому біологічному матеріалі, або екзогенним, який додається в процесі аналізу. Найчастіше при діагностиці COVID-19 методом рЗТ-ПЛР як ендogenous контроль використовують ген рибонуклеази Р (RNase P) людини [7, 62].





Слід підкреслити, що результат дослідження може залежати від типу та терміну відбору біологічного матеріалу. Так, у 93% пацієнтів, які спочатку отримали негативний результат рЗТ-ПЛР, РНК вірусу SARS-CoV-2 була виявлена в середньому протягом наступних  $5,1 \pm 1,5$  днів, що, можливо, пов'язане зі зміною рівня вірусного навантаження [62]. Описані випадки, коли при негативному результаті дослідження зразків з верхніх дихальних шляхів на наявність РНК коронавірусу, було отримано позитивний результат для зразків фекалій [97]. Концентрація вірусу SARS-CoV-2 в зразках з нижніх дихальних шляхів є вищою, ніж в інших біологічних матеріалах [100], але через інвазивність процедури відбору та підвищену небезпеку для медичного персоналу внаслідок утворення аерозолі тестування зразків з нижнього респіраторного тракту застосовується лише в випадках отримання негативних результатів при дослідженні біологічного матеріалу з верхніх дихальних шляхів у пацієнтів з високою ймовірністю захворювання на COVID-19 [12]. Разом з цим, виявлення РНК вірусу не обов'язково корелює з активною реплікацією життєздатного вірусу. Виходячи з вище викладеного, необхідно усвідомлювати, що негативний результат не виключає захворювання на COVID-19, однак позитивний результат тесту може бути використаний для постановки діагнозу, якщо він підтверджується клінічними та / або епідеміологічними даними [62].

Незважаючи на те, що наявні в даний час діагностичні тести на основі рЗТ-ПЛР не забезпечують достатньої надійності, оскільки виявляють не всі випадки інфекції [62, 96, 139], цей метод досі залишається «золотим» стандартом етіологічної діагностики COVID-19 [116].

Наявність багатьох обмежень рЗТ-ПЛР, що особливо помітно в умовах пандемії, сприяє пошуку альтернативних методів діагностики, які були б більш швидкими, дешевшими та могли б виконуватися в лабораторіях з обмеженими ресурсами [6]. Тому, на сьогоднішній день зростає інтерес до діагностичних тестів на основі NAAT, наприклад, таких, які не потребують екстракції та очищення РНК і можуть бути використані безпосередньо в пунктах надання медичної допомоги (point of care, POC) та дозволяють отримати результат через 30–90 хвилин [7, 12], що особливо важливо, коли потрібно терміново встановити етіологію захворювання.

Перспективними вважаються розробки на основі технологій ізотермічної ампліфікації нуклеїнових кислот, найбільш поширеною з яких є *петлева ізотермічна ампліфікація зі зворотною транскрипцією* (reverse transcription and loop-mediated isothermal amplification, RT-LAMP) [127].

На відміну від рЗТ-ПЛР, яка здійснюється в умовах циклічної зміни температури, RT-LAMP проводиться при постійній температурі (60–65 °C), а тривалість ампліфікації становить лише 30 хвилин. Інша перевага RT-LAMP перед рЗТ-ПЛР полягає в тому, що завдяки набагато більшій кількості ампліфікованої ДНК (до  $10^9$  копій специфічних таргетних послідовностей [94]) результат тесту може обліковуватися візуально [7, 24, 31, 74].

У LAMP-технології використовується ДНК-полімераза *Bacillus stearothermophilus* (Bst), що має активність полімерази та зворотної транскриптази [24], та, зазвичай, три пари праймерів, два з яких – прямий та зворотній, утворюють петлі при відпалі на внутрішній ділянці таргетної послі-



довності [6, 74]. Вважається, що RT-LAMP є надзвичайно специфічним методом, оскільки в реакції використовується 4–6 пар праймерів для ідентифікації шести-восьми різних ділянок цільової ДНК [123, 135].

Незважаючи на те, що дизайн праймерів для RT-LAMP складніший, ніж для рЗТ-ПЛР, цей метод більш толерантний до присутності інгібіторів і придатний для тестування необроблених зразків [94].

Метод RT-LAMP успішно використовується для детекції вірусу SARS-CoV-2 у сечі, мазках з рото- та носоглотки [129]. Зручність та швидкість цього методу також зумовлені можливістю використовувати як біоматеріал слину, що дозволяє пацієнтам самостійно відбирати зразки, дослідження яких можуть виконуватися без етапу екстракції РНК та за межами оснащеної лабораторії (пряма RT-LAMP) [7, 72]. Проте, при відсутності етапу екстракції РНК відмічається зниження чутливості RT-LAMP в порівнянні з рЗТ-ПЛР, тоді як тестування виділеної РНК показало чудові результати [35]. Дослідження клінічних зразків методом RT-LAMP показали високі рівні специфічності (80%–100%) та чутливості (83%–100%) при застосуванні методики рЗТ-ПЛР як підтверджувальної [24, 77]. У порівнянні з рЗТ-ПЛР метод RT-LAMP для детекції гену ORF1ab характеризується чутливістю більше 97% [132]. Іншими дослідниками показано, що RT-LAMP та рЗТ-ПЛР мають однакову чутливість (1000 копій/мл) і можуть виявляти РНК вірусу SARS-CoV-2 в зразках, розведених у 20 разів [123]. За іншими даними чутливість RT-LAMP є на порядок нижчою, ніж рЗТ-ПЛР [7, 35]. Склад біологічного матеріалу може впливати на ефективність ампліфікації, про що свідчить необхідність подовження тривалості ампліфікації у прямій RT-LAMP, в якій відсутня стадія екстракції РНК [129].

Для детекції продуктів ампліфікації RT-LAMP використовуються різні методи: агарозний гель-електрофорез, колориметричні системи з візуальною детекцією, флуориметрія в режимі реального часу (SYBR Green I), турбидиметрія або візуальна оцінка помутніння [6, 24].

Вважається, що поєднання методу RT-LAMP з іншими інноваційними технологіями здатне підвищити його ефективність [24]. Розроблено інкубаційну камеру, сконструйовану за допомогою 3D-принтера, для проведення реакції RT-LAMP, що дозволяє виявляти вірус SARS-CoV-2, у найпоширенішій формі комерційно доступних мікропробірок – пробірках типу Eppendorf [43].

Сконструйована система повної автоматизації LAMP – Simprova, яка складається з центрального блоку, що контролює всю систему, блоку попередньої обробки, де відбувається виділення нуклеїнової кислоти із зразків, а також компоненту LAMP для ампліфікації та детекції [126]. Є дані про розробку на основі технології LAMP методу з використанням штучного інтелекту (artificial intelligence-assisted loop mediated isothermal amplification, AI-LAMP) [90].

Запропоновано заснований на LAMP метод, який поєднується з процесом швидкого аналізу послідовності в режимі реального часу з використанням нанопори Flongle. Цей метод може застосовуватися як в лабораторії, так і в польових умовах, та дозволяє ідентифікувати РНК вірусу SARS-CoV-2 за 30 хвилин [24].



Для спрощення процедур RT-LAMP застосовуються різні підходи: проведення всіх етапів реакції в одній пробірці, використання для детекції продуктів ампліфікації біосенсорів на основі наночастинок, включення етапу обробки сухих мазків магнітними часточками для збільшення виходу вірусної РНК [6, 127].

Інтеграція методу RT-LAMP з оптичними системами, системами, основаними на наноматеріалах, та передовими інформаційними технологіями сприяє розробці швидких, чутливих, специфічних та економічно ефективних методів специфічної діагностики COVID-19 [6].

Розробляються методи на основі *полімеразної рекомбіназної ампліфікації* (recombinase polymerase amplification, RPA) – ізотермічної реакції, яка відбувається при температурі (37–42 °С), та зарекомендувала себе як високо чутлива для виявлення вірусів [55].

Інші методи специфічної діагностики COVID-19, що стрімко розвиваються, основані на технології *CRISPR-Cas* (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats – короткі паліндромні повтори, регулярно розташовані групами) [62]. Дана технологія використовує різні Cas-ензими, які розпізнають та зв'язуються зі специфічними послідовностями цільових РНК з наступним неспецифічним розщепленням ендонуклеазою нецільової РНК та репортерних зондів, що призводить до підсилення сигналу флуоресценції [31]. Технологія CRISPR-Cas разом з рЗТ-ПЛР та секвенуванням нового покоління використовувалася для підтвердження першого завізного випадку COVID-19 в Шанхаї [1].

Перевагами технології CRISPR-Cas в порівнянні з рЗТ-ПЛР є більша чутливість, специфічність, швидкість та простота виконання [44, 104]. Розроблено тест, який може виявляти 10 копій вірусу SARS-CoV-2 за 45 хвилин без спеціального обладнання, та демонструє добру узгодженість з рЗТ-ПЛР. В аналізі використовуються розроблені авторами білок Cas12a, специфічний до вірусу SARS-CoV-2, CRISPR-РНК та одноланцюговий ДНК-репортер, мічений молекулою зеленого флуоресцентного гасителя. При наявності в системі РНК вірусу SARS-CoV-2 протеїн Cas12a розщепляє молекулу ДНК-репортеру, в результаті чого випромінюється зелений флуоресцентний сигнал, який можна побачити неозброєним оком в промені з довжиною хвилі 485 нм. Дана технологія забезпечує надійний та зрозумілий метод діагностики на місці надання медичної допомоги [104].

Методика SHERLOCK (Specific High Enzymatic Reporter unLOCKing – розблокування специфічного високочутливого ферментативного репортера), в якій технологія CRISPR-Cas13a поєднана з LAMP [31], дозволяє отримувати результат через 40–70 хвилин [7].

Розроблено швидкий, простий та точний аналіз, який об'єднує технології CRISPR-Cas12 та RT-LAMP, для виявлення вірусу SARS-CoV-2 в екстрактах РНК з мазків з дихальних шляхів. Даний метод, який отримав назву DETECTR (DNA endonuclease-targeted CRISPR transreporter – *ДНК-ендонуклеазно-орієнтований CRISPR-трансрепортер*), продемонстрував 95% позитивну прогностичну узгодженість та 100% негативну прогностичну узгодженість з рЗТ-ПЛР [14, 24]. Аналіз проводиться шляхом занурення



тест-смужки в розчин виділеної РНК, а результат обліковується візуально через 30–40 хвилин. Разом з цим, слід зазначити, що тести на основі CRISPR-Cas не враховують мутації в вірусному геномі та процес редагування РНК у клітинах людини [76].

За допомогою іншої інноваційної технології – DNHCR (DNA nanoscaffold hybrid chain reaction – *ланцюгова реакція з гібридними ДНК-наночастками*), результати дослідження зразків слини можливо отримати протягом 10 хвилин. Проведені дослідження дозволяють припускати, що цей підхід характеризується високою чутливістю при виявленні вірусів [7].

*Поверхнево-посилена раманівська спектроскопія* (Surface-Enhanced Raman Scattering, SERS) виникла як потужна аналітична методика для молекулярного аналізу (секвенування ДНК та детекції вірусних антигенів), яка може бути особливо вигідною для діагностичних цілей у поєднанні з невід’ємними оптичними та хімічними властивостями наночастинок плазмонів [46, 85]. SERS кидає виклик сучасним флуоресцентним методам детекції як з погляду чутливості, так і, що ще важливіше, можливості одночасного виявлення різних компонентів у суміші, що стає все більш бажаним для клінічної діагностики [46, 105]. Окрім того, цей метод можна пристосувати для використання в місцях надання медичної допомоги [47, 85, 121]. Перша розробка на основі технології SERS показала 92,5% чутливість та 88,8% специфічність для виявлення РНК вірусу SARS-CoV-2 в слині, що дозволило авторам запропонувати її використання в польових умовах з наступним підтвердженням позитивних результатів в лабораторії молекулярно-генетичними методами, такими як рЗТ-ПЛР [33].

Крім молекулярно-генетичних методів, для виявлення гострої інфекції COVID-19 застосовуються імунологічні методи, які детектують антигени вірусу SARS-CoV-2 (найчастіше нуклеокапсид) в респіраторних зразках. Серед них найпоширенішими є *швидкі діагностичні тести для детекції антигенів*, які доцільно використовувати, коли рівень вірусного навантаження найвищий, а пацієнти представляють найбільшу небезпеку для оточуючих – зазвичай за 1–3 дні до появи симптомів та протягом перших 5–7 днів захворювання [114]. Більшість швидких тестів засновані на імунохроматографії, але також розроблені тести, в яких застосовуються інші технології, наприклад, мікродіинний імунофлуоресцентний аналіз (microfluidic immunofluorescence assay) [10, 56]. У порівнянні з рЗТ-ПЛР швидкі тести мають нижчу чутливість, що призводить до отримання негативних результатів у зразках з  $St < 30$ –35 [115]. Оцінювання 4-х швидких тестів з використанням 100 клінічних зразків у порівнянні з рЗТ-ПЛР та ізоляцією вірусу на культури клітин показало, що загальна чутливість швидких тестів для зразків, позитивних в рЗТ-ПЛР, коливалася від 24,3% до 50%. Однак для зразків з вірусним навантаженням більше  $6 \log_{10}$  копій РНК/мл, яке, як правило, спостерігається у осіб, які виділяють інфекційний вірус, чутливість швидких тестів становила від 81,8% до 100%. Швидкі тести демонструють більш значну кореляцію з методом ізоляції вірусу на культурах клітин (61,8–82,4%) [56]. При порівнянні з ампліфікаційними технологіями, один з імунофлуоресцентних швидких тестів продемонстрував співпадіння результатів у 82,0% симптоматичних пацієнтів при обстеженні



у перші 5 днів після початку захворювання та у 54,5% – з шостого дня після появи симптомів [10]. Отже, негативні результати швидких тестів не можуть повністю виключати інфікування вірусом SARS-CoV-2. У цій ситуації слід проводити повторне тестування за допомогою молекулярно-генетичних методів, особливо у пацієнтів із симптомами захворювання. Крім того, негативні результати швидких тестів не повинні бути підставою для зняття карантинних обмежень. Разом з цим, позитивні результати у безсимптомних осіб можуть бути корисними для швидкого відстеження контактів [115].

Інші методи детекції антигенів вірусу SARS-CoV-2 не використовуються в клінічній діагностиці, але успішно застосовуються для вивчення інших аспектів COVID-19. За допомогою *імуногістохімії* вдалося виявити білки S та N вірусу SARS-CoV-2 в плаценті хворої на COVID-19 жінки, що підтвердило можливість вертикальної передачі вірусу SARS-CoV-2 новонародженому, у якого незабаром після народження розвинулася пневмонія, а захворювання на COVID-19 було підтверджено детекцією вірусної РНК [37].

Розроблені на основі *імуноферментного аналізу (ІФА)* тест-системи, які дозволяють виявляти вірусні білки S та N, використовуються переважно в наукових дослідженнях, а не для клінічної діагностики [101].

#### **Методи виявлення антитіл до вірусу SARS-CoV-2**

Тести для детекції антитіл до вірусу SARS-CoV-2 виявляють гуморальну імунну відповідь організму, яка розвивається в середній та пізній стадіях захворювання [120]. На відміну від методів детекції РНК або антигенів вірусу SARS-CoV-2, які переважно застосовуються для етіологічного підтвердження діагнозу, серологічні тести дозволяють виявляти паст-інфекцію, відстежувати контакти, ідентифікувати донорів для терапії плазмою реконвалесцентів (з обов'язковим наступним визначенням титрів у реакції нейтралізації (РН)), з'ясувати ступінь ураження певної популяції, оцінювати ефективність вакцинації [8, 9]. Серологічне тестування може бути доречним для діагностики у пацієнтів із пізніми ускладненнями COVID-19, наприклад, такими як мультисистемний запальний синдром (MIS-C) у дітей [109]. Крім того, тести для визначення антитіл застосовуються як додаткові у хворих з негативним чи невизначеним результатом ПЛР (наприклад, при пізньому зверненні) [8, 48, 78, 87, 134].

Поєднання рЗТ-ПЛР та методів виявлення антитіл (IgM та IgG) може бути потужною стратегією для підвищення клінічної чутливості діагностики інфекції, спричиненої вірусом SARS-CoV-2, особливо після другого тижня захворювання [41].

Слід ще раз підкреслити, що серологічні тести не призначені для виявлення інфікування на ранній стадії. Крім того, відсутні докази, що вони можуть бути корисними для встановлення імунного статусу, передбачення сприйнятливості до реінфекції (шляхом визначення захисного титру) та скринінгу донорської крові з метою виявлення зараження вірусом SARS-CoV-2 [9]. Деякі дослідники вважають, що відстеження динаміки антитіл до різних антигенів вірусу може бути корисним для прогнозування перебігу COVID-19 [58].



Разом з цим, стійкість та кінетика антитіл до вірусу SARS-CoV-2 (титри яких знижуються та зникають з часом) можуть призвести до недооцінки рівня ураження вірусом SARS-CoV-2 певних груп населення, що є особливо важливим при дослідженнях серопревалентності. Крім того, отримання позитивного результату при серологічному тестуванні не обов'язково свідчить про неінфекційність особи, особливо коли визначають антитіла, які не мають нейтралізуючих властивостей [5, 66, 108].

Використання імунологічних тестів стає доцільним приблизно через 15–21 день після зараження [32]. У зв'язку з тим, що різні ізотипи антитіл до вірусу SARS-CoV-2 (IgA, IgM та IgG) синтезуються майже одночасно [65, 69], а динаміка IgM та IgA при COVID-19 недостатньо зрозуміла [48, 137], детекція IgA та IgM немає очевидної клінічної переваги перед детекцією IgG. Сумнівною також залишається корисність виявлення IgA та IgM для диференціації недавнього та минулого зараження.

На відміну від високо специфічної рЗТ-ПЛР, перехресна реактивність є великою проблемою тестів для виявлення антитіл до вірусу SARS-CoV-2, враховуючи, що існує шість інших коронавірусів людини. Основні комерційні імунологічні тести націлені на антитіла до епітопів білків S або N, причому деякі реакції фокусуються на субодиноці S1, що, як вважається, забезпечує підвищену специфічність та кращу кореляцію з нейтралізуючими антитілами [51, 71, 75, 119]. Але потрібні додаткові дослідження, щоб визначити, як комерційні тести корелюють з РН для виявлення антитіл до вірусу SARS-CoV-2. Порівняння результатів чотирьох різних серологічних тестів для всебічної оцінки перехресної реактивності між сироватками крові хворих на COVID-19 та тяжкий гострий респіраторний синдром (ТГРС), спричинений вірусом SARS-CoV-1, показало значну перехресну реактивність при використанні в тесті білка N будь-якого з двох вірусів. Тести, в яких як антигени застосовуються області S1 або рецептор-зв'язувальний домен (receptor-binding domain, RBD) білка S, показують кращу специфічність. Виявлено, що всі, хто переніс ТГРС, мають значний рівень антитіл, які залишаються в крові навіть через 17 років після зараження. Титри антитіл проти білка N знижуються більше, ніж антитіл до RBD білка S, що, як відомо, відіграють більш важливу роль у забезпеченні протективного імунітету [27]. Не всі антитіла, що зв'язуються з антигенами вірусу SARS-CoV-2, мають вірус-нейтралізуючі властивості, але існує широкий спектр кореляційних зв'язків між зв'язувальною та нейтралізуючою активністю [40, 51, 71].

Для уникнення хибнопозитивних та хибнонегативних результатів, важливо, щоб клінічна чутливість та специфічність тестів для виявлення антитіл до вірусу SARS-CoV-2 були якомога вищими. Чутливість тестів може виявитися недостатньою при обстеженні осіб зі зниженою імунною реакцією (наприклад, з ослабленим імунітетом, людей похилого віку тощо) та осіб із легким перебігом захворювання, коли титри антитіл можуть бути занадто низькими, щоб їх можна було виявити. На специфічність тестів можуть впливати такі загальні чинники, як ревматоїдний, антитіла до інших вірусів, включаючи ендемічні коронавіруси, антитіла до антигенів тварин, моноклональні антитіла тощо. Зростає кількість досліджень, спрямованих



на оцінювання діагностичної точності тестів на різних стадіях інфекції та визначення чинників, що призводять до хибнопозитивних та хибнонегативних результатів при безсимптомній, легкій та важкій формах COVID-19 [25, 51, 71, 83, 98, 107].

Найбільш специфічним та дуже чутливим методом для виявлення противірусних антитіл є **реакція нейтралізації (РН)**, за допомогою якої можна оцінити протективну функцію антитіл, що проявляється в нейтралізації вірусу та пригніченні його реплікації [54]. Цей метод є дуже важливим, оскільки багато антигенів можуть бути спільними для споріднених груп вірусів, але лише деякі з цих антигенів є вірусоспецифічними [82]. Визначення титрів нейтралізуювальних антитіл може бути корисним для оцінки рівня захисту при скринінгу реконвалесцентної плазми та при оцінці ефективності вакцин проти SARS-CoV-2. Незважаючи на те, що РН вважається «золотим» стандартом для виявлення протективних антитіл, вона характеризується низькою пропускну здатністю та тривалістю, а для її проведення потрібний висококваліфікований персонал та лабораторії рівня біологічної безпеки 3 (BSL-3). Тому РН непридатна для використання в рутинній клінічній діагностиці [102, 116]. Уникнути необхідності проведення досліджень в умовах підвищеної біобезпеки дозволяє використання в РН замість живих вірусів псевдовірусів. Розроблений та валідований тест на основі псевдовірусу є більш зручним та продемонстрував виражену реакцію з антитілами проти вірусу SARS-CoV-2 сироваток крові реконвалесцентів. Це підкреслює майбутній потенціал РН з псевдовірусами у вивченні та диференціації нейтралізуювальних антитіл, які в основному націлені на рецептор-зв'язувальний домен (RBD) білку S, в той час як інші імунологічні тести спрямовані на виявлення антитіл до вірусних білків N та M [73]. Потрібні подальші дослідження, щоб зрозуміти, як результати інших імунологічних тестів корелюють з титрами нейтралізуювальних антитіл та чи можна вважати, що нейтралізуювальні антитіла складають основу імунного захисту [3, 20, 23].

За винятком РН, серологічні тести виконуються відносно легко і вимагають меншої технічної експертизи та більш простого та дешевого обладнання в порівнянні з технологіями, основаними на виявленні нуклеїнових кислот [133].

Серед методів детекції антитіл до вірусу SARS-CoV-2, найбільш поширеним є **імуноферментний аналіз (ІФА)**. Діагностична точність методу залежить від типу антигену, сорбованого в лунках планшету. Використання білка S – найбільш варіабельного та видоспецифічного, сприяє підвищенню точності результатів [97]. При використанні як антигену нуклеокапсидного білка N – найбільш консервативного серед бетакоронавірусів людини, можуть спостерігатися хибнопозитивні результати внаслідок перехресної реакції з іншими коронавірусами – MERS-CoV, SARS-CoV-1, ендемічними коронавірусами (HKU1, 229E, OC43, NL63), що, як відомо, викликають сезонну застуду [95, 106]. Продемонстроване успішне виявлення IgM та IgG проти вірусу SARS-CoV-2 на ранніх стадіях COVID-19 з використанням ІФА на основі білка N вірусу кажанів SARSr-CoV Rp3 [138].

Необхідність у проведенні регулярних серологічних досліджень для



виявлення імунних осіб серед певних груп населення та визначення рівня популяційного імунітету спонукала до широкого впровадження автоматизації. Автоматизовані платформи забезпечують високу пропускну здатність та точність результатів. На відміну від більшості діагностичних систем на основі ІФА, в яких використовують стандартний 96-луночний планшет як тверду фазу та стандартний спектрофотометричний/колориметричний метод детекції сигналу, в автоматизованому аналізі матеріалами твердої фази можуть бути полістирол (PS-COOH) або наночастинки на металевій основі (магнітні наногранули). Крім того, в автоматизованих системах зазвичай застосовуються більш чутливі системи детекції, такі як технологія *хемілюмінесценції* [130]. Проте, навіть такі імунологічні тести є недостатньо ефективними у порівнянні з рЗТ-ПЛР. Розроблений хемілюмінесцентний аналіз на основі синтетичних пептидів, які представляють епітопи білків orf1a/b, S і N, здатний виявляти IgG та IgM в сироватках крові у 71,4% та 57,2% пацієнтів з діагнозом, підтвердженим в рЗТ-ПЛР, відповідно. Авторами пропонується поєднання даного імунологічного аналізу з рЗТ-ПЛР для підвищення точності діагностики COVID-19 [19].

За відсутності лабораторних умов для проведення таких серологічних реакцій як ІФА, рекомендовано використовувати *швидкі діагностичні тести для детекції антитіл*. Як і при детекції антигенів, перевагами швидких тестів для виявлення антитіл є простота виконання та можливість проведення тестування в пунктах надання медичної допомоги. Більшість швидких тестів є якісними та засновані на технології імунохроматографії, якій не вистачає точності лабораторних систем [32, 36, 63]. В інших тестах застосовується імунофлуоресценція або імунологічні реакції з колоїдним золотом [50, 80]. Для проведення тесту достатньо 10 мкл сироватки, а його тривалість становить 15 хвилин [50]. Оцінювання точності швидких тестів, як правило, проводять шляхом порівняння з рЗТ-ПЛР. При дослідженні зразків від 525 пацієнтів імунохроматографічним швидким тестом чутливість складала 89%, а специфічність – 91% [59]. При обстеженні 191 пацієнта у 70 (36,6%) була виявлена РНК вірусу SARS-CoV-2, тоді як у 34 (17,3%) антитіла до вірусу. Крім того, 13 (6,8%) обстежених, які отримали позитивний результат в серологічному тесті, мали негативний результат рЗТ-ПЛР. Цей швидкий тест мав чутливість 30% та специфічність 89% порівняно зі стандартним аналізом рЗТ-ПЛР [80].

Результати клінічних випробувань швидкого тесту з колоїдним золотом показали, що при виявленні IgM його чутливість становила 79,0%, а специфічність – 99,7%; при виявленні IgG ці показники дорівнювали 84,3% та 99,4% відповідно. Загальна чутливість виявлення IgM та IgG становила 90,6%, а специфічність – 99,2% [50]. При визначенні діагностичної точності іншого швидкого тесту в порівнянні з реакцією імунофлуоресценції (РІФ) та ІФА, його чутливість складала 88% (95% довірчий інтервал (95%CI): 70–96), а специфічність – 98% (95%CI: 90-100) [4]. На даний момент недостатньо доказів, які підтверджують можливість використання швидких тестів для виявлення антитіл до вірусу SARS-CoV-2 як альтернативи традиційним лабораторним системам [125].





### Узагальнення

Пандемія COVID-19 висвітлила вирішальну роль специфічної діагностики в контролі над інфекційними захворюваннями. Наявність сталих діагностичних технологій, на розробку та оптимізацію яких пішли десятки років, швидка ідентифікація та розшифрування геному вірусу SARS-CoV-2 – збудника інфекції, дозволили швидко розробити методики детекції вірусної РНК на основі технологій ампліфікації нуклеїнових кислот (NAAT), а також різноманітні імунологічні тести, які характеризуються достатньо високими рівнями чутливості та специфічності.

Тестування методом рЗТ-ПЛР зразків із респіраторних шляхів досі залишається «золотим» стандартом діагностики COVID-19. Даний підхід дозволяє отримувати найбільш точні результати та підтверджувати діагноз вже на ранній стадії захворювання. Використання більш простих та зручних швидких діагностичних тестів, які можуть застосовуватись в пунктах надання медичної допомоги, обмежено через їх недостатню чутливість у порівнянні з рЗТ-ПЛР. Серологічні імунологічні реакції для визначення антитіл – пізніх маркерів інфекції, можуть бути корисними лише як доповнення до молекулярно-генетичних технологій, що застосовуються для діагностики COVID-19.

Разом з цим, за наявності різноманітних обмежень, які властиві всім без виключення діагностичним методам, перспективними залишаються розробки, спрямовані на отримання достовірних та швидких результатів з використанням методів з високою пропускну здатністю. З цією метою проводиться удосконалення існуючих методів, спрямоване на підвищення аналітичної чутливості та специфічності, зменшення тривалості аналізу за рахунок тестування нативних зразків методами NAAT (без проміжного етапу екстракції РНК), впровадження повної автоматизації усіх етапів дослідження. З іншого боку створюються тести на основі альтернативних технологій (RT-LAMP, CRISPR-Cas, SERS тощо), які більш прості у виконанні та можуть застосовуватися за межами спеціалізованих лабораторій.

**Е.Н. Гуменюк, Д.А. Дубина, О.А. Юрченко**

ГУ «Украинский научно-исследовательский противочумный институт  
имени И. И. Мечникова МЗ Украины»  
ул. Церковная, 2/4, Одесса, 65003, Украина  
тел. : +38(095) 844 66 12, e-mail: oksyurch@ukr.net

## **КОРОНАВИРУСНАЯ БОЛЕЗНЬ (COVID-19). ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ**

### **Реферат**

*Пандемия коронавирусной болезни (COVID-19), которая стартовала в конце 2019 года в Китае, стала непредсказуемым вызовом для системы здравоохранения абсолютно всех стран мира. Среди проблем, которые требовали немедленного решения, стало налаживание массовой специфической диа-*



гностики емерджентної інфекції, викликаній коронавірусом SARS-CoV-2. В даному огляді представлені технології, що застосовуються для специфічної діагностики COVID-19. Обсуджуються переваги та обмеження найбільш поширених методологій, спрямованих на виявлення збудителя або специфічних до нього антитіл. Виявлення фрагментів геному вірусу за допомогою полімеразної ланцюгової реакції з оберненою транскрипцією в реальному часі (рОТ-ПЦР) дозволило досягти високої точності діагностики. З самого початку пандемії і до цих пор цей метод вважається «золотим» стандартом, незважаючи на обмеження, пов'язані з його високою вартістю, трудомісткістю та необхідністю проведення досліджень в спеціалізованих лабораторіях. Більш дешеві імунологічні методи мають недостатню діагностичну ефективність і можуть використовуватися тільки як доповнення до молекулярного тестування. В огляді також представлені перспективні методи специфічної діагностики COVID-19, які базуються на молекулярно-генетичних технологіях, характеризуються простотою та швидкістю виконання, не потребують дорогого обладнання і можуть виконуватися в пунктах надання медичної допомоги.

**Ключеві слова:** вірус SARS-CoV-2, специфічна діагностика, полімеразна ланцюгова реакція з оберненою транскрипцією в реальному часі (рОТ-ПЦР), імуноферментний аналіз (ІФА), швидкі діагностичні тести.

**K.M. Gumeniuk, D.O. Dubyna, O.O. Yurchenko**

SB"Mechnikov Ukrainian Research Anti-Plague Institute of the Ministry of Health of Ukraine", 2/4, Tserkovna St., Odesa, 65003, Ukraine  
tel.: +38(095) 844 66 12, e-mail: oksyurch@ukr.net

## **CORONAVIRUS DISEASE (COVID-19). CHALLENGES AND PROSPECTS OF SPECIFIC DIAGNOSTICS**

### **Summary**

The coronavirus disease (COVID-19) pandemic, which started in the late 2019 in China, has become an unforeseen challenge to the health care system of all the countries in the world. Establishment of a mass specific diagnostics of emergent infection caused by the coronavirus SARS-CoV-2 was one of the problems that needed immediate solution. This review presents the technologies used for the specific diagnostics of COVID-19. The advantages and limitations of the most common methodologies for detection of the pathogen or virus-specific antibodies are discussed. Detection of the virus genome fragments by reverse transcription and real-time polymerase chain reaction (rRT-PCR) allowed to achieve high accuracy of diagnosis. From the beginning of the pandemic, this method has been considered as the "gold" standard, despite the limitations associated with its high cost, complexity and the need for testing in specialized laboratories. Cheaper immunological methods have insufficient diagnostic efficiency and can be used only as complements to molecular testing. The review also presents promising methods of specific diagnostics of COVID-19 which are based on molecular genetic technologies, characterized by simplicity and rapidity, do not require expensive equipment and can be performed in points of care.



*Key words: SARS-CoV-2 virus, specific diagnostics, reverse transcription and real-time polymerase chain reaction (rRT-PCR), enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), rapid diagnostic tests (RDTs).*

### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Ai J.W., Zhang Y., Zhang H.C., Xu T., Zhang W.H.* Era of molecular diagnosis for pathogen identification of unexplained pneumonia, lessons to be learned // *Emerging Microbes and Infections*. – 2020. – 9, № 1. – P. 597–600.
2. *Alanagreh L., Alzoughool F., Atoum M.* The human Coronavirus disease COVID-19: its origin, characteristics, and insights into potential drugs and its mechanisms // *Pathogens*. – 2020. – 9, № 5. – 331.
3. *Amanat F., Stadlbauer D., Strohmeier S., Nguyen THO, Chromikova V. et al.* A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans // *Nat. Med.* – 2020. – 26, № 7. – P. 1033–1036.
4. *Andrey D.O., Cohen P., Meyer B., Torriani G., Yerly S., Mazza L. et al.* Diagnostic accuracy of Augurix COVID-19 IgG serology rapid test // *Eur J Clin Invest.* – 2020. – 50, №10. – e13357.
5. *Atkinson B., Petersen E.* SARS-CoV-2 shedding and infectivity // *Lancet*. – 2020. – 395, № 10233. – P. 1339–1340.
6. *Augustine R., Hasan A., Das S., Ahmed R., Mori Y., Notomi T., Kevadiya B.D., Thakor A.S.* Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a rapid, sensitive, specific, and cost-effective point-of-care test for coronaviruses in the context of COVID-19 pandemic // *Biology (Basel)*. – 2020. 9, № 8. – 182.
7. *Azzi L., Maurino V., Baj A., Dani M., d'Aiuto A., Fasano M., Lualdi M., Sessa F., Alberio T.* Diagnostic salivary tests for SARS-CoV-2 // *J Dent Res*. – 2021. – 100, №2. – P. 115–123.
8. *Bai Y., Yao L., Wei T., Tian F., Jin D.Y., Chen L., Wang M.* Presumed asymptomatic carrier transmission of COVID-19 // *JAMA*. – 2020. – 323, № 14. – P. 1406–1407.
9. *Bailey D., Konforte D., Barakauskas V.E., Yip P.M., Kulasingam V. et al.* Canadian society of clinical chemists (CSCC) interim consensus guidance for testing and reporting of SARS-CoV-2 serology // *Clin Biochem*. – 2020. – 86. – P. 1–7.
10. *Beck E.T., Paar W., Fojut L., Serwe J., Jahnke R.R.* Comparison of the Quidel Sofia SARS FIA test to the Hologic Aptima SARS-CoV-2 TMA test for diagnosis of COVID-19 in symptomatic outpatients // *J Clin Microbiol*. – 2021. – 59, № 2. – e02727-20.
11. *Beeching N.J., Fletcher T.E., Beadsworth M.B.J.* Covid-19: testing times // *BMJ*. – 2020. – 369. – m1403.
12. *Bohn M.K., Mancini N., Loh T.P., Wang C.B., Grimmer M.* IFCC Interim Guidelines on Molecular Testing of SARS-CoV-2 Infection // *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. – 2020. – 58, № 12. – P. 1993–2000.
13. *Brooks Z.C., Das S.* COVID-19 Testing: Impact of Prevalence, Sensitivity, and Specificity on Patient Risk and Cost // *American Journal of Clinical Pathology*. – 2020. – 154, №5. – P. 575–584.



14. *Broughton J.P., Deng X., Yu G. et al.* CRISPR–Cas12-based detection of SARS-CoV-2 // *Nature Biotechnology*. – 2020. – 38, № 7. – P. 870–874.
15. *Bryan A., Pepper G., Wener M.H., Fink S.L., Morishima C. et al.* Performance characteristics of the abbot architect SARS-CoV-2 IgG assay and seroprevalence in Boise, Idaho // *J Clin Microbiol*. – 2020. – 58, № 8. – e00941-20.
16. *Bullard J., Dust K., Funk D., Strong J.E., Alexander D. et al.* Predicting infectious severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 from diagnostic samples // *Clin Infect Dis*. – 2021. – 71, № 10. – P. 2663–2666.
17. *Bullock H.A., Goldsmith C.S., Miller S.E.* Best practices for correctly identifying Coronavirus by transmission electron microscopy // *Kidney Int*. – 2021. – 99, № 4. – P. 824–827.
18. *Burbelo P.D., Riedo F.X., Morishima C. et al.* Sensitivity in detection of antibodies to nucleocapsid and spike proteins of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in patients with coronavirus disease 2019 // *J. Infect. Dis*. – 2020. – 222, № 2. – P. 206–213.
19. *Cai X.F., Chen J., Li Hu J., Long Q.X., Deng H.J., Liu P. et al.* A peptide-based magnetic chemiluminescence enzyme immunoassay for serological diagnosis of coronavirus disease 2019 // *J Infect Dis*. – 2020. – 222, № 2. – P. 189–193.
20. *Cao Y., Su B., Guo X., Sun W., Deng Y. et al.* Potent neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 identified by high-throughput single-cell sequencing of convalescent patients' B cells // *Cell*. – 2020. – 182, № 1. – P. 73–84.
21. *Centers for Disease Control and Prevention.* SARS-CoV-2 viral culturing at CDC. – 2020. Режим доступу: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/grows-virus-cell-culture.html>.
22. *Chan J.F., Kok K.H., Zhu Z., Chu H., To K.K., Yuan S., Yuen K.Y.* Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan // *Emerg Microbes & Infect.* – 2020. – 9, №1. – P. 221–236.
23. *Chandrashekar A., Liu J., Martinot A.J., McMahan K., Mercado N.B. et al.* SARS-CoV-2 infection protects against rechallenge in rhesus macaques // *Science*. – 2020. – 369, № 6505. – P. 812–817.
24. *Chaouch M.* Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): An effective molecular point-of-care technique for the rapid diagnosis of coronavirus SARS-CoV-2 // *Rev Med Virol*. – 2021. – e2215.
25. *Charlton C.L., Kanji J.N., Johal K. et al.* Evaluation of six commercial mid to high volume antibody and six point of care lateral flow assays for detection of SARS-CoV- 2 antibodies // *J. Clin. Microbiol*. – 2020. – 58, № 10. – e01361-20.
26. *Chen Y., Liu Q., Guo D.* Emerging coronaviruses: genome structure, replication, and pathogenesis // *J Med Virol*. – 2020. – 92, №4. – P. 418 – 423.
27. *Chia W.N., Tan C.W., Foo R., Kang A.E.Z., Peng Y., Sivalingam V. et al.* Serological differentiation between COVID-19 and SARS infections // *Emerg Microbes Infect.* – 2020. – 9, № 1. – P. 1497–1505.
28. *Chiara M., D'Erchia A.M., Gissi C., Manzari C., Parisi A. et al.* Next generation sequencing of SARS-CoV-2 genomes: challenges, applications and opportunities // *Brief in Bioinform.* – 2020. – bbaa297.



29. *Chu D.K.W., Pan Y., Cheng S.M.S., Hui K.P.Y., Krishnan P. et al.* Molecular diagnosis of a Novel Coronavirus (2019-nCoV) causing an outbreak of pneumonia // *Clin Chem.* – 2020. – 66, № 4. – P. 549–555.
30. *Corman V. M., Landt O., Kaiser M., Molenkamp R., Meijer A. et al.* Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR // *Euro Surveill.* – 2020. – 25, № 3. – 2000045.
31. *D’Cruz R.J., Currier A.W., Sampson V.B.* Laboratory testing methods for novel severe acute respiratory syndrome-coronavirus-2 (SARS-CoV-2) // *Front Cell Dev Biol.* – 2020. – 8. – 468.
32. *Deeks J.J., Dinnes J., Takwoingi Y., Davenport C., Spijker R., Taylor-Phillips S. et al.* Antibody tests for identification of current and past infection with SARS-CoV-2 // *Cochrane Database Syst Rev.* – 2020. – 6, № 6. – CD013652.
33. *Desai S., Mishra S.V., Joshi A., Sarkar D., Hole A., Mishra R. et al.* Raman spectroscopy-based detection of RNA viruses in saliva: A preliminary report // *J Biophotonics.* – 2020. – 13, № 10. – e202000189.
34. *Dohla M., Boesecke C., Schulte B., Diegmann C., Sib E. et al.* Rapid point-of-care testing for SARS-CoV-2 in a community screening setting shows low sensitivity // *Public Health.* – 2020. – 182. – P. 170–172.
35. *Eckel F., Küsters F., Drossel B., Konert M., Mattes H., Schopf S.* Variplex™ test system fails to reliably detect SARS-CoV-2 directly from respiratory samples without RNA extraction // *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* – 2020. – 39, № 12. – P. 2373–2377.
36. *Espejo A.P., Akgun Y., Al Mana A.F., Tjendra Y., Millan N.C. et al.* Review of current advances in serologic testing for COVID-19 // *Am. J. Clin. Pathol.* – 2020. – 154, № 3. – P. 293–304.
37. *Facchetti F., Bugatti M., Drera E., Tripodo C., Sartori E., Cancila V. et al.* SARS-CoV2 vertical transmission with adverse effects on the newborn revealed through integrated immunohistochemical, electron microscopy and molecular analyses of placenta // *EBioMedicine.* – 2020. – 59. – 102951.
38. *Fan H., Yu X., Fu X., Zhu H., Lv Z., Yi W., Zhang Q.* Clinical implications of different specimen types for nucleic acid testing in two cases of COVID-19 // *J Int Med Res.* – 2020. – 48, № 8. – 300060520949067.
39. *Forouzes M., Rahimi A., Valizadeh R., Dadashzadeh N., Mirzazadeh A.* Clinical display, diagnostics and genetic implication of novel coronavirus (COVID-19) epidemic // *Eur Rev Med Pharmacol.* – 2020. – 24, № 8. – P. 4607–4615.
40. *Gattinger P., Borochova K., Dorofeeva Y. et al.* Antibodies in serum of convalescent patients following mild COVID-19 do not always prevent virus receptor binding // *Allergy.* – 2020. – 76, № 3. – P. 878–883.
41. *Ghazi B, Elghanmi A.* Why do we need serological tests for severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 diagnosis? // *Biores Open Access.* – 2020. – 9, № 1. – P. 255–257.
42. *Goetz L., Yang J., Greene W., Zhu Y.* A COVID-19 patient with repeatedly undetectable SARS-CoV-2 antibodies // *J Appl Lab Med.* – 5, № 6. – P. 1401–1405.



43. *González-González E., Lara-Mayorga I.M., Rodríguez-Sánchez I.P.* et al. Scaling diagnostics in times of COVID-19: Rapid prototyping of 3D-printed water circulators for loop-mediated isothermal amplification (LAMP) and detection of SARS-CoV-2 virus // *medRxiv*. – 2020.04.09.20058651.
44. *Gootenberg J.S., Abudayyeh O.O., Lee J.W., Essletzbichler P., Dy A.J.* et al. Nucleic acid detection with CRISPR-Cas13a/C2c2 // *Science*. – 2017. – 356, № 6336. – P. 438–442.
45. *Gorbalenya A.E., Baker S.C., Baric R.S.* et al. The species severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2 // *Nat Microbiol*. – 2020. – 5. – P. 536–544.
46. *Gracie K., Correa E., Mabbott S., Dougan J.A., Graham D. Goodacre R., Faulds K.* Simultaneous detection and quantification of three bacterial meningitis pathogens by SERS // *Chem. Sci*. – 2014. – 5. – P. 1030–1040.
47. *Granger J.H., Schlotter N.E., Crawford A.C., Porter M.D.* Prospects for point-of-care pathogen diagnostics using surface-enhanced Raman scattering (SERS). – *Chem. Soc. Rev*. – 2016. – 45. – P. 3865–3882.
48. *Guo L., Ren L., Yang S., Xiao M., Chang D., Yang F.* et al. Profiling early humoral response to diagnose novel coronavirus disease (COVID-19) // *Clin Infect Dis*. – 2020. – 71, № 15. – P. 778–785.
49. *Harcourt J., Tamin A., Lu X., Kamili S., Kumar Sakthivel S.K.* et al. Isolation and characterization of SARS-CoV-2 from the first US COVID-19 patient // *bioRxiv*. – 2020.03.02.972935.
50. *He Y., Luo J., Yang J., Song J., Wei L., Ma W.* Value of viral nucleic acid in sputum and feces and specific IgM/IgG in serum for the diagnosis of coronavirus disease 2019 // *Front Cell Infect Microbiol*. – 2020. – 10. – P. 445.
51. *Jääskeläinen A.J., Kuivanen S., Kekäläinen E.* et al. Performance of six SARS-CoV-2 immunoassays in comparison with microneutralisation // *J. Clin. Virol*. – 2020. – 129. – P. 104512.
52. *Jiang S., Hillyer C., Du L.* Neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 and other human coronaviruses // *Trends Immunol*. – 2020. – 41, № 5. – P. 355–359.
53. *Kellam P., Barclay W.* The dynamics of humoral immune responses following SARS-CoV-2 infection and the potential for reinfection // *J Gen Virol*. – 2020. – 101, № 8. – P. 791–797.
54. *Kilic T., Weissleder R., Lee H.* Molecular and immunological diagnostic tests of COVID-19: current status and challenges // *iScience*. – 2020. – 23, № 8. – P. 101406.
55. *Kim Y., Yaseen A.B., Kishi J.Y., Hong F., Saka S.K., Sheng K.* et al. Single-strand RPA for rapid and sensitive detection of SARS-CoV-2 RNA // *medRxiv*. – 2020.08.17.20177006.
56. *Kohmer N., Toptan T., Pallas C., Karaca O., Pfeiffer A., Westhaus S.* et al. Clinical medicine the comparative clinical performance of four SARS-CoV-2 rapid antigen tests and their correlation to infectivity in vitro // *J Clin Med*. – 2021. – 10, № 2. – P. 328.
57. *Lauer S.A., Grantz K.H., Bi Q., Jones F.K., Zheng Q.* et al. The incubation period of coronavirus disease 2019 (COVID-19) from publicly reported con-



- firmed cases: estimation and application // *Ann. Intern. Med.* – 2020. – M20-0504.
58. *Li K., Huang B., Wu M.* et al. Dynamic changes in anti-SARS-CoV-2 antibodies during SARS-CoV-2 infection and recovery from COVID-19 // *Nat Commun.* – 2020. – 11. – 6044.
  59. *Li Z., Yi Y., Luo X.* et al. Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis // *J Med Virol.* – 2020. – 92, № 9. – P. 1518–1524.
  60. *Lin C., Xiang J., Yan M., Li H., Huang S., Shen C.* Comparison of throat swabs and sputum specimens for viral nucleic acid detection in 52 cases of novel coronavirus (SARS-Cov-2)-infected pneumonia (COVID-19) // *Clin Chem Lab Med.* – 2020. – 58, № 7. – P. 1089–1094.
  61. *Lin Q., Zhu L., Ni Z., Meng H., You L.* Duration of serum neutralizing antibodies for SARS-CoV-2: lessons from SARS-CoV infection // *J. Microbiol. Immunol. Infect.* – 2020. – 53, № 5. – P. 821–822.
  62. *Lippi G., Simundic A.M., Plebani M.* Potential preanalytical and analytical vulnerabilities in the laboratory diagnosis of coronavirus disease 2019 (COVID-19) // *Clin Chem Lab Med.* – 2020. – 58 № 7. – P. 1070–1076.
  63. *Lisboa Bastos M., Tavaziva G., Abidi S.K.* et al. Diagnostic accuracy of serological tests for COVID-19: systematic review and meta-analysis // *BMJ.* – 2020. – 370. – m2516.
  64. *Liu Z.L., Liu Y., Wan L.G., Xiang T.X., Le A.P.* et al. Antibody profiles in mild and severe cases of COVID-19 // *Clin. Chem.* – 2020. – 66, № 8. – P. 1102–1104.
  65. *Long Q-X., Liu B-Z., Deng H-J., Wu G-C., Deng K.* et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19 // *Nat Med.* – 2020. – 26. – P. 845–848.
  66. *Long Q.X., Tang X.J., Shi Q.L.* et al. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections // *Nat. Med.* – 2020. – 26. – P. 1200–1204.
  67. *Lu R., Zhao X., Li J., Niu P., Yang B.* et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding // *Lancet.* – 2020. – 395, № 10224. – P. 565–574.
  68. *Lynch K.L., Whitman J.D., Lacanienta N.P.* et al. Magnitude and kinetics of anti-SARS-CoV-2 antibody responses and their relationship to disease severity // *Clin. Infect. Dis.* – 2021. – 72, № 2. – P. 301–308.
  69. *Ma H., Zeng W., He H., Zhao D., Jiang D.* et al. Serum IgA, IgM, and IgG responses in COVID-19 // *Cell. Mol. Immunol.* – 2020. – 17, № 7. – P. 773–775.
  70. *Mboowa G.* Current and emerging diagnostic tests available for the novel COVID-19 global pandemic // *AAS Open Res.* – 2020. – 3. – 8.
  71. *Meschi S., Colavita F., Bordi L.* et al. Performance evaluation of Abbott ARCHITECT SARS-CoV-2 IgG immunoassay in comparison with indirect immunofluorescence and virus microneutralization test // *J. Clin. Virol.* – 2020. – 129. – 104539.
  72. *Nagura-Ikeda M., Imai K., Tabata S., Miyoshi K., Murahara N.* et al. Clinical evaluation of self-collected saliva by quantitative reverse transcription-PCR



- (RT-qPCR), direct RT-qPCR, reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification, and a rapid antigen test to diagnose COVID-19 // *J Clin Microbiol.* – 2020. – 58, № 9. – e01438-20.
73. *Nie J., Li Q., Wu J.* et al. Quantification of SARS-CoV-2 neutralizing antibody by a pseudotyped virus-based assay // *Nat Protoc.* – 2020. – 15, № 11. – P. 3699–3715.
74. *Notomi T., Okayama H., Masubuchi H., Yonekawa T., Watanabe K., Amino N. Hase T.* Loop-mediated isothermal amplification of DNA // *Nucleic Acids Res.* – 2000. – 28, № 12. – E63.
75. *Okba N.M., Müller M.A., Li W., Wang C., GeurtsvanKessel C.H., Corman V.M.* et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2-specific antibody responses in coronavirus disease patients // *Emerg. Infect. Dis.* – 2020. – 26, № 7. – P. 1478–1488.
76. *Ooi K.H., Tay J.W.D., Teo S.Y.* et al. A CRISPR-based SARS-CoV-2 diagnostic assay that is robust against viral evolution and RNA editing // *bioRxiv.* – 2020.07.03.185850
77. *Österdahl M.F., Lee K.A., Lochlainn M.N., Wilson S., Douthwaite S.* et al. Detecting SARS-CoV-2 at point of care: preliminary data comparing loop-mediated isothermal amplification (LAMP) to polymerase chain reaction (PCR) // *BMC Infect Dis.* – 2020. – 20, № 1. – 783.
78. *Ouyang W., Yu J., Zhang J., Xie C.* Alert to potential contagiousness: a case of lung cancer with asymptomatic SARS-CoV-2 infection // *J. Thorac. Oncol.* – 2020. – 15, № 6. – e82-e83.
79. *Padoan A., Sciacovelli L., Basso D., Negrini D., Zuin S., Cosma C.* et al. IgA-Ab response to spike glycoprotein of SARS-CoV-2 in patients with COVID-19: a longitudinal study // *Clin Chim Acta.* – 2020. – 507. – P. 164–166.
80. *Paradiso A.V., de Summa S., Loconsole D., Procacci V., Sallustio A.* et al. Rapid serological assays and SARS-CoV-2 real-time polymerase chain reaction assays for the detection of SARS-CoV-2: comparative study // *J Med Internet Res.* – 2020. – 22, № 10. – e19152.
81. *Pastorino B., Touret F., Gilles M., de Lamballerie X., Charrel R.N.* Heat inactivation of different types of SARS-CoV-2 samples: what protocols for biosafety, molecular detection and serological diagnostics? // *Viruses.* – 2020. – 12, № 7. – 735.
82. *Payne S.* Methods to study viruses. *Viruses.* – 2017. – P. 37–52. Режим доступу: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803109-4.00004-0>.
83. *Perkmann T., Perkmann-Nagele N., Breyer M.K.* et al. Side by side comparison of three fully automated SARS-CoV-2 antibody assays with a focus on specificity // *Clin. Chem.* – 2020. – 66, № 11. – P. 1405–1413.
84. *Pesaresi M., Pirani F., Tagliabracci A., Valsecchi M., Procopio A.D., Bursardò F.P.* et al. SARS-CoV-2 identification in lungs, heart and kidney specimens by transmission and scanning electron microscopy // *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* – 2020. – 24, №9. – P. 5186–5188.
85. *Porter M.D., Lipert R.J., Siperko L.M., Wang G., Narayanan R.* SERS as a bioassay platform: fundamentals, design, and applications // *Chem. Soc. Rev.* – 2008. – 37, № 5. – P. 1001–1011.





86. *Praharaj I., Jain A., Singh M., Balakrishnan A., Dhodapkar R., Borkakoty B.* et al. Pooled testing for COVID-19 diagnosis by real-time RT-PCR: A multi-site comparative evaluation of 5- & 10-sample pooling // *Indian J Med Res.* – 2020. – 152, № 1–2. – P. 88–94.
87. *Rongqing Z., Li M., Song H., Chen J., Ren W.* et al. Early Detection of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Antibodies as a Serologic Marker of Infection in Patients with Coronavirus Disease 2019 // *Clin Infect Dis.* – 2020. – 71 № 16. – P. 2066–2072.
88. *Qian J., Boswell S.A., Chidley C.* et al. An enhanced isothermal amplification assay for viral detection // *Nature Communications.* – 2020. – 11, № 1. – 5920.
89. *Qin J., You C., Lin Q., Hu T., Yu S., Zhou X-H.* Estimation of incubation period distribution of COVID-19 using disease onset forward time: a novel cross-sectional and forward follow-up study // *Science Advances.* – 2020. – 6, № 33. – eabc1202.
90. *Rohaim M.A., Clayton E., Sahin I., Vilela J., Khalifa M.E.* et al. Artificial intelligence-assisted loop mediated isothermal amplification (AI-LAMP) for rapid detection of SARS-CoV-2 // *Viruses.* – 2020. – 12, № 9. – 972.
91. *Shi J., Han D., Zhang R., Li J., Zhang R.* Molecular and serological assays for SARS-CoV-2: insights from genome and clinical characteristics // *Clin Chem.* – 2020. – 66, № 8. – P. 1030–1046.
92. *Sohn Y., Jeong S.J., Chung W.S., Hyun J.H., Baek Y.J.* et al. Assessing viral shedding and infectivity of asymptomatic or mildly symptomatic patients with COVID-19 in a later phase // *Clinical medicine.* – 2020. – 9, № 9. – 2924.
93. *Sun B., Feng Y., Mo X., Zheng P., Wang Q.* et al. Kinetics of SARS-CoV-2 specific IgM and IgG responses in COVID-19 patients // *Emerg. Microbes Infect.* – 2020. – 9, № 1. – P. 940–948.
94. *Sun F., Ganguli A., Nguyen J., Brisbin R., Shanmugam K.* et al. Smartphone-based multiplex 30-minute nucleic acid test of live virus from nasal swab extract // *Lab Chip.* – 2020. – 20. – P. 1621–1627.
95. *Sun Z.F., Meng X.J.* Antigenic cross-reactivity between the nucleocapsid protein of severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus and polyclonal antisera of antigenic group I animal coronaviruses: implication for SARS diagnosis // *J. Clin. Microbiol.* – 2004. – 42, № 5. – P. 2351–2352.
96. *Tan S.S., Yan B., Saw S.* et al. Practical laboratory considerations amidst the COVID-19 outbreak: early experience from Singapore // *J Clin Pathol.* – 2021. – 74, № 4. – P. 257–260.
97. *Tang Y.W., Schmitz J.E., Persing D.H., Stratton C.W.* Laboratory diagnosis of COVID-19: current issues and challenges // *J Clin Microbiol.* – 2020 – 58, № 6. – e00512-20.
98. *Theel E.S., Haring J., Hilgart H., Granger D.* Performance characteristics of four high-throughput immunoassays for detection of IgG antibodies against SARS-CoV-2 // *J Clin. Microbiol.* – 2020. – 58, № 8. – e01243-20.
99. *To K.K., Tsang O.T., Yip C.C., Chan K.H., Wu T.C.* et al. Consistent detection of 2019 Novel Coronavirus in saliva // *Clin Infect Dis.* – 2020. – 71, № 15. – P. 841–843.



100. *Touma M.* COVID-19: molecular diagnostics overview // *J Mol Med (Berl.)* – 2020. – 98, № 7. – P. 947–954.
101. *Vashist K.S.* In vitro diagnostic assays for COVID-19: recent advances and emerging trends // *Diagnostics (Basel)*. – 2020. – 10, № 4. – 202.
102. *Wang K., Long Q.X., Deng H.J.* et al. Longitudinal dynamics of the neutralizing antibody response to SARS-CoV-2 infection // *Clin. Infect. Dis.* – 2020. – cial1143.
103. *Wang W., Xu Y., Gao R.* et al. Detection of SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens // *JAMA*. – 2020. – 323, №18. – P. 1843–1844.
104. *Wang X., Zhong M., Liu Y., Ma P., Dang L.* et al. Rapid and sensitive detection of COVID-19 using CRISPR/Cas12a-based detection with naked eye readout, CRISPR/Cas12a-NER // *Sci. Bull (Beijing)*. – 2020. – 65, № 17. – P. 1436–1439.
105. *Wang Y., Rauf S., Grewal Y.S., Spadafora L.J., Shiddiky M.J.* et al. Duplex microfluidic SERS detection of pathogen antigens with nanoyeast single-chain variable fragments // *Anal. Chem.* – 2014. – 86, № 19. – P. 9930–9938.
106. *Wang Y., Wang Y., Chen Y., Qin Q.* Unique epidemiological and clinical features of the emerging 2019 novel coronavirus pneumonia (COVID-19) implicate special control measures // *J. Med. Virol.* – 2020. – 92, № 6. – P. 568–576.
107. *Weidner L., Gänsdorfer S., Unterweger S.* et al. Quantification of SARS-CoV-2 antibodies with eight commercially available immunoassays // *J. Clin. Virol.* – 2020. – 129. – 104540.
108. *Wölfel R., Corman V.M., Guggemos W.* et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019 // *Nature*. – 2020. – 581. – P. 465–469.
109. *World Health Organization.* Multisystem inflammatory syndrome in children and adolescents temporally related to COVID-19. – 2020. Режим доступу: <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/multisystem-inflammatory-syndrome-in-children-and-adolescents-with-covid-19>.
110. *World Health Organization.* WHO Director-General's remarks at the media briefing on 2019-nCoV on 11 February 2020. – 2020. Режим доступу: <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-remarks-at-the-media-briefing-on-2019-ncov-on-11-february-2020>.
111. *World Health Organization.* Pneumonia of unknown cause – China. Disease outbreak news. – 2020. Режим доступу: <https://www.who.int/csr/don/05-january-2020-pneumonia-of-unkown-cause-china/en/>.
112. *World Health Organization.* WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 – 11 March 2020. – 2020. Режим доступу: <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>.
113. *World Health Organization.* WHO COVID-19 Case definition. – 2020. Режим доступу: [https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-Surveillance\\_Case\\_Definition-2020.2](https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-Surveillance_Case_Definition-2020.2)
114. *World Health Organization.* Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays. Interim guidance. – 2020.



- Режим доступу: <https://www.who.int/publications/i/item/antigen-detection-in-the-diagnosis-of-sars-cov-2infection-using-rapid-immunoassays>.
115. *World Health Organization*. SARS-CoV-2 antigen-detecting rapid diagnostic tests: an implementation guide, 2020. – 48 p. Режим доступу: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240017740>.
  116. *World Health Organization*. Diagnostic testing for SARS-CoV-2. Interim guidance. – 2020. Режим доступу: <https://www.who.int/publications/i/item/diagnostic-testing-for-sars-cov-2>.
  117. World Ometer, Coronavirus. – 2021. Режим доступу: <https://www.worldometers.info/coronavirus/>.
  118. *Wu F., Zhao S., Yu B., Chen Y.M., Wang W.* et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China // *Nature*. – 2020. – 579, № 7798. – P. 265–269.
  119. *Wu Y., Wang F., Shen C., Peng W., Li D.* et al. A noncompeting pair of human neutralizing antibodies block COVID-19 virus binding to its receptor ACE2 // *Science*. – 2020. – 368, № 6496. – P. 1274–1278.
  120. *Xiang F., Wang X., He X., Peng Z., Yang B.* et al. Antibody detection and dynamic characteristics in patients with COVID-19 // *Clin Infect Dis*. – 2020. – 71, № 8. – P. 1930–1934.
  121. *Xu K., Zhou R., Takei K., Hong M.* Toward flexible surface-enhanced Raman scattering (SERS) sensors for point-of-care diagnostics // *Adv. Sci*. – 2019. – 6. – 1900925.
  122. *Yamada S., Fukushi S., Kinoshita H., Ohnishi M., Suzuki T.* et al. Assessment of SARS-CoV-2 infectivity of upper respiratory specimens from COVID-19 patients by virus isolation using VeroE6/TMPRSS2 cells // *BMJ Open Respiratory Research*. – 2021. – 8, № 1. – e000830.
  123. *Yang W., Dang X., Wang Q., Xu M., Zhao Q.* et al. Rapid detection of SARS-CoV-2 using reverse transcription RT-LAMP method // *medRxiv*. – 2020.03.02.20030130.
  124. *Yip C.C., Sridhar S., Leung K.H., Ng A.C., Chan K.H.* et al. Development and evaluation of novel and highly sensitive single-tube nested real-time RT-PCR assays for SARS-CoV-2 detection // *Int J Mol Sci*. – 2020. – 21, № 16. – 5674.
  125. *Yip P.M., Venner A.A., Shea J.* et al. Point-of-care testing: a position statement from the Canadian society of clinical chemists // *Clin. Biochem*. – 2018. – 53. – P. 156–159.
  126. *Yonekawa T., Watanabe H., Hosaka N., Semba S., Shoji A.* et al. Fully automated molecular diagnostic system “Simprova” for simultaneous testing of multiple items // *Sci. Rep*. – 2020. – 10. – 5409.
  127. *Yong S.K., Su P.C., Yang Y.S.* Molecular targets for the testing of COVID-19 // *Biotechnol J*. – 2020. – 15, № 6. – e2000152.
  128. *Yongchen Z., Shen H., Wang X., Shi X., Li Y., Yan J.* et al. Different longitudinal patterns of nucleic acid and serology testing results based on disease severity of COVID-19 patients // *Emerg Microbes Infect*. – 2020. – 9, № 1. – P. 833–836.



129. *Yoshikawa R., Abe H., Igasaki Y., Negishi S., Goto H., Yasuda J.* Development and evaluation of a rapid and simple diagnostic assay for COVID-19 based on loop-mediated isothermal amplification // *PLoS Negl Trop Dis.* – 2020. – Vol. 14, №11. – e0008855.
130. *Younes N., Al-Sadeq D. W., Al-Jighefee H., Younes S., Al-Jamal O.* et al. Challenges in laboratory diagnosis of the novel coronavirus SARS-CoV-2 // *Viruses.* – 2020. – 12, № 6. – 582.
131. *Yu F., Yan L., Wang N., Yang S., Wang L.* et al. Quantitative detection and viral load analysis of SARS-CoV-2 in infected patients // *Clinical Infectious Diseases.* – 2020. – 71, № 15. – P. 793–798.
132. *Yu L., Wu S., Hao X., Li X., Liu X.* et al. Rapid colorimetric detection of COVID-19 coronavirus using a reverse transcriptional loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) diagnostic platform: iLACO // *medRxiv.* – 2020.02.20.20025874.
133. *Zainol Rashid Z., Othman S.N., Abdul Samat M.N., Ali U.K., Wong K.K.* Diagnostic performance of COVID-19 serology assays // *Malays J Pathol.* – 2020. – 42, № 1. – P. 13–21.
134. *Zhang G., Nie S., Zhang Z., Zhang Z.* Longitudinal change of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 antibodies in patients with coronavirus disease 2019 // *J. Infect. Dis.* – 2020. – 222, № 2. – P. 183–188.
135. *Zhang Y., Odiwuor N., Xiong J., Sun L., Nyaruaba R.O.* et al. Rapid molecular detection of SARS-CoV-2 (COVID-19) virus RNA using colorimetric LAMP // *medRxiv.* – 2020.02.26.29928373.
136. *Zhang W., Du R.H., Li B., Zheng X.S., Yang X.L.* et al. Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes // *Emerg. Microbes Infect.* – 2020. – 9, № 1. – P. 386–389.
137. *Zhao J., Yuan Q., Wang H., Liu W., Liao X.* et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019 // *Clin Infect Dis.* – 2020. – 71, № 16. – P. 2027–2034.
138. *Zhou P., Yang X.L., Wang X.G., Hu B., Zhang L.* et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin // *Nature.* – 2020. – 579. – P. 270–273.
139. *Zitek T.* The Appropriate use of testing for COVID-19 // *West J Emerg Med.* – 2020. – 21, № 3. – P. 470–472.

## REFERENCES

1. Ai JW, Zhang Y, Zhang HC, Xu T, Zhang WH. Era of molecular diagnosis for pathogen identification of unexplained pneumonia, lessons to be learned. *Emerg Microbes Infect.* 2020;9(1):597-600. doi: 10.1080/22221751.2020.1738905.
2. Alanagreh L, Alzoughool F, Atoum M. The human coronavirus disease COVID-19: its origin, characteristics, and insights into potential drugs and its mechanisms. *Pathogens.* 2020;9(5):331. doi: 10.3390/pathogens9050331.
3. Amanat F, Stadlbauer D, Strohmeier S, Nguyen THO, Chromikova V et al. A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans. *Nat Med.* 2020;26(7):1033-1036. doi: 10.1038/s41591-020-0913-5.



4. Andrey DO, Cohen P, Meyer B, Torriani G, Yerly S, Mazza L. et al. Diagnostic accuracy of Augurix COVID-19 IgG serology rapid test. *Eur J Clin Invest.* 2020; 50(10):eci.13357. doi: 10.1111/eci.13357.
5. Atkinson B, Petersen E. SARS-CoV-2 shedding and infectivity. *Lancet.* 2020;395(10233):1339–1340. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30868-0.
6. Augustine R, Hasan A, Das S, Ahmed R, Mori Y, Notomi T, Kevadiya BD, Thakor AS. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a rapid, sensitive, specific, and cost-effective point-of-care test for coronaviruses in the context of COVID-19 pandemic. *Biology (Basel).* 2020;9(8):182. doi: 10.3390/biology9080182.
7. Azzi L, Maurino V, Baj A, Dani M, d'Aiuto A, Fasano M, Lualdi M, Sessa F, Alberio T. Diagnostic salivary tests for SARS-CoV-2. *J Dent Res.* 2021;100(2):115-123. doi: 10.1177/0022034520969670.
8. Bai Y, Yao L, Wei T, Tian F, Jin DY, Chen L, Wang M. Presumed asymptomatic carrier transmission of COVID-19. *JAMA.* 2020;323(14):1406-1407. doi: 10.1001/jama.2020.2565.
9. Bailey D, Konforte D, Barakauskas VE, Yip PM, Kulasingam V et al. Canadian society of clinical chemists (CSCC) interim consensus guidance for testing and reporting of SARS-CoV-2 serology. *Clin Biochem.* 2020;86:1-7. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2020.09.005.
10. Beck ET, Paar W, Fojut L, Serwe J, Jahnke RR. Comparison of the Quidel Sofia SARS FIA test to the Hologic Aptima SARS-CoV-2 TMA test for diagnosis of COVID-19 in symptomatic outpatients. *J Clin Microbiol.* 2021;59(2):e02727-20. doi: 10.1128/JCM.02727-20.
11. Beeching NJ, Fletcher TE, Beadsworth MJB. Covid-19: testing times. *BMJ.* 2020;369:m1403. doi: 10.1136/bmj.m1403.
12. Bohn MK, Mancini N, Loh TP, Wang CB, Grimmler M. IFCC interim guidelines on molecular testing of SARS-CoV-2 infection. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM).* 2020;58(12):1993-2000. doi: 10.1515/cclm-2020-1412.
13. Brooks ZC, Das S. COVID-19 testing: impact of prevalence, sensitivity, and specificity on patient risk and cost. *American Journal of Clinical Pathology.* 2020;154(5):575–584. doi: 10.1093/ajcp/aqaa141.
14. Broughton JP, Deng X, Yu G, Fasching CL, Servellita V et al. CRISPR-Cas12-based detection of SARS-CoV-2. *Nat Biotechnol.* 2020;38(7):870-874. doi: 10.1038/s41587-020-0513-4.
15. Bryan A, Pepper G, Wener MH, Fink SL, Morishima C et al. Performance characteristics of the Abbott Architect SARS-CoV-2 IgG Assay and seroprevalence in Boise, Idaho. *J Clin Microbiol.* 2020;58(8):e00941-20. doi: 10.1128/JCM.00941-20.
16. Bullard J, Dust K, Funk D, Strong JE, Alexander D. Predicting infectious severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 from diagnostic samples. *Clinical Infectious Diseases.* 2020;71(10):2663-2666. doi: 10.1093/cid/ciaa638.
17. Bullock HA, Goldsmith CS, Miller SE. Best practices for correctly identifying coronavirus by transmission electron microscopy. *Kidney Int.* 2021;99(4):824-827. doi: 10.1016/j.kint.2021.01.004.



18. Burbelo PD, Riedo FX, Morishima C, Rawlings S, Smith D, Das S, Strich JR, Chertow DS, Davey RT, Cohen JI. Sensitivity in detection of antibodies to nucleocapsid and spike proteins of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in patients with coronavirus disease 2019. *J Infect Dis.* 2020;222(2):206-213. doi: 10.1093/infdis/jiaa273.
19. Cai XF, Chen J, Li Hu J, Long QX, Deng HJ et al. A peptide-based magnetic chemiluminescence enzyme immunoassay for serological diagnosis of coronavirus disease 2019. *J Infect Dis.* 2020;222(2):189-193. doi: 10.1093/infdis/jiaa243.
20. Cao Y, Su B, Guo X, Sun W, Deng Y et al. Potent neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 identified by high-throughput single-cell sequencing of convalescent patients' B cells. *Cell.* 2020;182(1):73-84.e16. doi: 10.1016/j.cell.2020.05.025.
21. Centers for Disease Control and Prevention. SARS-CoV-2 viral culturing at CDC. 2020. Available at: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/grows-virus-cell-culture.html>.
22. Chan JF, Kok KH, Zhu Z, Chu H, To KK, Yuan S, Yuen KY. Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan. *Emerg Microbes Infect.* 2020;9(1):221-236. doi: 10.1080/22221751.2020.1719902.
23. Chandrashekar A, Liu J, Martinot AJ, McMahan K, Mercado NB et al. SARS-CoV-2 infection protects against rechallenge in rhesus macaques. *Science.* 2020;369(6505):812-817. doi: 10.1126/science.abc4776.
24. Chaouch M. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): an effective molecular point-of-care technique for the rapid diagnosis of coronavirus SARS-CoV-2. *Rev Med Virol.* 2021:e2215. doi: 10.1002/rmv.2215.
25. Charlton CL, Kanji JN, Johal K et al. Evaluation of six commercial mid-to high-volume antibody and six point-of-care lateral flow assays for detection of SARS-CoV-2 antibodies. *Journal of Clinical Microbiology.* 2020;58(10):e01361-20. doi: 10.1128/JCM.01361-20.
26. Chen Y, Liu Q, Guo D. Emerging coronaviruses: genome structure, replication, and pathogenesis. *J Med Virol.* 2020;92(4):418-423. doi: 10.1002/jmv.25681.
27. Chia WN, Tan CW, Foo R, Kang AEZ, Peng Y, Sivalingam V et al. Serological differentiation between COVID-19 and SARS infections. *Emerg Microbes Infect.* 2020;9(1):1497-1505. doi: 10.1080/22221751.2020.1780951.
28. Chiara M, D'Erchia AM, Gissi C, Manzari C, Parisi A et al. Next generation sequencing of SARS-CoV-2 genomes: challenges, applications and opportunities. *Brief Bioinform.* 2020:bbaa297. doi: 10.1093/bib/bbaa297.
29. Chu DKW, Pan Y, Cheng SMS, Hui KPY, Krishnan P et al. Molecular diagnosis of a novel coronavirus (2019-nCoV) causing an outbreak of pneumonia. *Clin Chem.* 2020;66(4):549-555. doi: 10.1093/clinchem/hvaa029.
30. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill.* 2020;25(3):2000045. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045.



31. D'Cruz RJ, Currier AW, Sampson VB. Laboratory testing methods for novel severe acute respiratory syndrome-coronavirus-2 (SARS-CoV-2). *Front Cell Dev Biol.* 2020;8:468. doi: 10.3389/fcell.2020.00468.
32. Deeks JJ, Dinnes J, Takwoingi Y, Davenport C, Spijker R et al. Antibody tests for identification of current and past infection with SARS-CoV-2. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020;6(6):CD013652. doi: 10.1002/14651858.CD013652.
33. Desai S, Mishra SV, Joshi A, Sarkar D, Hole A, Mishra R, Dutt S, Chilakapati MK, Gupta S, Dutt A. Raman spectroscopy-based detection of RNA viruses in saliva: A preliminary report. *J Biophotonics.* 2020;13(10):e202000189. doi: 10.1002/jbio.202000189.
34. Döhla M, Boesecke C, Schulte B, Diegmann C, Sib E et al. Rapid point-of-care testing for SARS-CoV-2 in a community screening setting shows low sensitivity. *Public Health.* 2020;182:170-172. doi: 10.1016/j.puhe.2020.04.009.
35. Eckel F, Küsters F, Drossel B, Konert M, Mattes H, Schopf S. Variplex™ test system fails to reliably detect SARS-CoV-2 directly from respiratory samples without RNA extraction. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2020;39(12):2373–2377. doi: 10.1007/s10096-020-03983-9.
36. Espejo AP, Akgun Y, Al Mana AF, Tjendra Y, Millan NC, Gomez-Fernandez C, Cray C. Review of current advances in serologic testing for COVID-19. *Am J Clin Pathol.* 2020;154(3):293-304. doi: 10.1093/ajcp/aqaa112.
37. Facchetti F, Bugatti M, Drera E, Tripodo C, Sartori E et al. SARS-CoV2 vertical transmission with adverse effects on the newborn revealed through integrated immunohistochemical, electron microscopy and molecular analyses of Placenta. *EBioMedicine.* 2020;59:102951. doi: 10.1016/j.ebiom.2020.102951.
38. Fan H, Yu X, Fu X, Zhu H, Lv Z, Yi W, Zhang Q. Clinical implications of different specimen types for nucleic acid testing in two cases of COVID-19. *J Int Med Res.* 2020;48(8):300060520949067. doi: 10.1177/0300060520949067.
39. Forouzesh M, Rahimi A, Valizadeh R, Dadashzadeh N, Mirzazadeh A. Clinical display, diagnostics and genetic implication of novel coronavirus (COVID-19) epidemic. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2020;24(8):4607-4615. doi: 10.26355/eurrev\_202004\_21047.
40. Gattinger P, Borochova K, Dorofeeva Y, Henning R, Kiss R et al. Antibodies in serum of convalescent patients following mild COVID-19 do not always prevent virus-receptor binding. *Allergy.* 2021;76(3):878-883. doi: 10.1111/all.14523.
41. Ghazi B, Elghanmi A. Why do we need serological tests for severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 diagnosis? *Biores Open Access.* 2020;9(1):255-257. doi: 10.1089/biores.2020.0026.
42. Goetz L, Yang J, Greene W, Zhu Y. A COVID-19 patient with repeatedly undetectable SARS-CoV-2 antibodies. *J Appl Lab Med.* 2020;5(6):1401-1405. doi: 10.1093/jalm/jfaa137.
43. González-González E, Lara-Mayorga IM, Rodríguez-Sánchez IP et al. Scaling diagnostics in times of COVID-19: colorimetric loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assisted by a 3D-printed incubator for cost-effective and



- scalable detection of SARS-CoV-2. medRxiv. 2020.04.09.20058651. doi: 10.1101/2020.04.09.20058651.
44. Gootenberg JS, Abudayyeh OO, Lee JW, Essletzbichler P, Dy AJ et al. Nucleic acid detection with CRISPR-Cas13a/C2c2. *Science*. 2017;356(6336):438-442. doi: 10.1126/science.aam9321.
  45. Gorbalenya AE, Baker SC, Baric RS et al. 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.
  46. Gracie K, Correa E, Mabbott S, Dougan JA, Graham D, Goodacre R, Faulds K. Simultaneous detection and quantification of three bacterial meningitis pathogens by SERS. *Chem. Sci*. 2014;5:1030-1040. doi: 10.1039/C3SC52875H.
  47. Granger JH, Schlotter NE, Crawford AC, Porter MD. Prospects for point-of-care pathogen diagnostics using surface-enhanced Raman scattering (SERS). *Chem. Soc. Rev*. 2016; 45:3865-3882. doi: 10.1039/C5CS00828J.
  48. Guo L, Ren L, Yang S, Xiao M, Chang D et al. Profiling early humoral response to diagnose novel coronavirus disease (COVID-19). *Clin Infect Dis*. 2020;71(15):778-785. doi: 10.1093/cid/ciaa310.
  49. Harcourt J, Tamin A, Lu X, Kamili S, Sakthivel SK et al. Isolation and characterization of SARS-CoV-2 from the first US COVID-19 patient. *bioRxiv*. 2020.03.02.972935. doi: 10.1101/2020.03.02.972935.
  50. He Y, Luo J, Yang J, Song J, Wei L, Ma W. Value of viral nucleic acid in sputum and feces and specific IgM/IgG in serum for the diagnosis of coronavirus disease 2019. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020;(10):445. doi: 10.3389/fcimb.2020.00445.
  51. Jääskeläinen AJ, Kuivanen S, Kekäläinen E, Ahava MJ, Loginov R, Kallio-Kokko H, Vapalahti O, Jarva H, Kurkela S, Lappalainen M. Performance of six SARS-CoV-2 immunoassays in comparison with microneutralisation. *J Clin Virol*. 2020;129:104512. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104512.
  52. Jiang S, Hillyer C, Du L. Neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 and other human coronaviruses. *Trends Immunol*. 2020;41(5):355-359. doi: 10.1016/j.it.2020.03.007.
  53. Kellam P, Barclay W. The dynamics of humoral immune responses following SARS-CoV-2 infection and the potential for reinfection. *J Gen Virol*. 2020;101(8):791-797. doi: 10.1099/jgv.0.001439.
  54. Kilic T, Weissleder R, Lee H. Molecular and immunological diagnostic tests of COVID-19: current status and challenges. *iScience*. 2020;23(8):101406. doi: 10.1016/j.isci.2020.101406.
  55. Kim Y, Yaseen AB, Kishi JY, Hong F, Saka SK, Sheng K, Gopalkrishnan N, Schaus TE, Yin P. Single-strand RPA for rapid and sensitive detection of SARS-CoV-2 RNA. *medRxiv*. 2020.08.17.20177006. doi: 10.1101/2020.08.17.20177006.
  56. Kohmer N, Toptan T, Pallas C, Karaca O, Pfeiffer A, Westhaus S et al. The comparative clinical performance of four SARS-CoV-2 rapid antigen tests and their correlation to infectivity in vitro. *J Clin Med*. 2021;10(2):328. doi: 10.3390/jcm10020328.





57. Lauer SA, Grantz KH, Bi Q, Jones FK, Zheng Q. et al. The Incubation period of coronavirus disease 2019 (COVID-19) from publicly reported confirmed cases: estimation and application. *Ann Intern Med.* 2020:M20-0504. doi: 10.7326/M20-0504.
58. Li K, Huang B, Wu M et al. Dynamic changes in anti-SARS-CoV-2 antibodies during SARS-CoV-2 infection and recovery from COVID-19. *Nat Commun.* 2020;11:6044. doi: 10.1038/s41467-020-19943-y.
59. Li Z, Yi Y, Luo X, Xiong N, Liu Y, Li S et al. Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis. *J Med Virol.* 2020;92(9):1518-1524. doi: 10.1002/jmv.25727.
60. Lin C, Xiang J, Yan M, Li H, Huang S, Shen C. Comparison of throat swabs and sputum specimens for viral nucleic acid detection in 52 cases of novel coronavirus (SARS-Cov-2)-infected pneumonia (COVID-19). *Clin Chem Lab Med.* 2020;58(7):1089-1094. doi: 10.1515/cclm-2020-0187.
61. Lin Q, Zhu L, Ni Z, Meng H, You L. Duration of serum neutralizing antibodies for SARS-CoV-2: lessons from SARS-CoV infection. *J Microbiol Immunol Infect.* 2020;53(5):821-822. doi: 10.1016/j.jmii.2020.03.015.
62. Lippi G, Simundic AM, Plebani M. Potential preanalytical and analytical vulnerabilities in the laboratory diagnosis of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Clin Chem Lab Med.* 2020;58(7):1070-1076. doi: 10.1515/cclm-2020-0285.
63. Lisboa Bastos M, Tavaziva G, Abidi SK et al. Diagnostic accuracy of serological tests for COVID-19: systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 2020;370:m2516. doi: 10.1136/bmj.m2516.
64. Liu ZL, Liu Y, Wan LG, Xiang TX, Le AP, Liu P, Peiris M, Poon LLM, Zhang W. Antibody profiles in mild and severe cases of COVID-19. *Clin Chem.* 2020;66(8):1102-1104. doi: 10.1093/clinchem/hvaa137.
65. Long QX, Liu BZ, Deng HJ et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. *Nat Med.* 2020;26:845–848. doi: 10.1038/s41591-020-0897-1.
66. Long QX, Tang XJ, Shi QL et al. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Nat Med.* 2020;(26):1200–1204. doi: 10.1038/s41591-020-0965-6.
67. Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B et al. Genomic characterization and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet.* 2020;395(10224):565-574. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30251-8.
68. Lynch KL, Whitman JD, Lacanienta NP, Beckerdite EW, Kastner SA et al. Magnitude and kinetics of anti-SARS-CoV-2 antibody responses and their relationship to disease severity. *Clin Infect Dis.* 2021;72(2):301-308. doi: 10.1093/cid/ciaa979.
69. Ma H, Zeng W, He H, Zhao D, Jiang D, Zhou P, Cheng L, Li Y, Ma X, Jin T. Serum IgA, IgM, and IgG responses in COVID-19. *Cell Mol Immunol.* 2020;17(7):773-775. doi: 10.1038/s41423-020-0474-z.
70. Mboowa G. Current and emerging diagnostic tests available for the novel COVID-19 global pandemic. *AAS Open Res.* 2020;3:8. doi: 10.12688/aasopenres.13059.1.



71. Meschi S, Colavita F, Bordi L et al. Performance evaluation of Abbott ARCHITECT SARS-CoV-2 IgG immunoassay in comparison with indirect immunofluorescence and virus microneutralization test. *J. Clin. Virol.* 2020;129:104539. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104539.
72. Nagura-Ikeda M, Imai K, Tabata S, Miyoshi K, Murahara N et al. Clinical evaluation of self-collected saliva by quantitative reverse transcription-PCR (RT-qPCR), direct RT-qPCR, reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification, and a rapid antigen test to diagnose COVID-19. *J Clin Microbiol.* 2020;58(9):e01438-20. doi: 10.1128/JCM.01438-20.
73. Nie J, Li Q, Wu J, Zhao C, Hao H et al. Quantification of SARS-CoV-2 neutralizing antibody by a pseudotyped virus-based assay. *Nat Protoc.* 2020;15(11):3699-3715. doi: 10.1038/s41596-020-0394-5.
74. Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, Yonekawa T, Watanabe K, Amino N, Hase T. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Res.* 2000;28(12):E63. doi: 10.1093/nar/28.12.e63.
75. Okba NMA, Müller MA, Li W, Wang C, GeurtsvanKessel CH, Corman VM et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2-specific antibody responses in coronavirus disease patients. *Emerg Infect Dis.* 2020;26(7):1478-1488. doi: 10.3201/eid2607.200841.
76. Ooi KH, Tay JWD, Teo SY et al. A CRISPR-based SARS-CoV-2 diagnostic assay that is robust against viral evolution and RNA editing. *bioRxiv.* 2020.07.03.185850. doi: 10.1101/2020.07.03.185850.
77. Österdahl MF, Lee KA, Lochlainn MN, Wilson S, Douthwaite S et al. Detecting SARS-CoV-2 at point of care: preliminary data comparing loop-mediated isothermal amplification (LAMP) to polymerase chain reaction (PCR). *BMC Infect Dis.* 2020;20(1):783. doi: 10.1186/s12879-020-05484-8.
78. Ouyang W, Yu J, Zhang J, Xie C. Alert to potential contagiousness: a case of lung cancer with asymptomatic severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection. *J Thorac Oncol.* 2020;15(6):e82-e83. doi: 10.1016/j.jtho.2020.04.005.
79. Padoan A, Sciacovelli L, Basso D, Negrini D, Zuin S, Cosma C, Faggian D, Matricardi P, Plebani M. IgA-Ab response to spike glycoprotein of SARS-CoV-2 in patients with COVID-19: a longitudinal study. *Clin Chim Acta.* 2020;(507):164-166. doi: 10.1016/j.cca.2020.04.026.
80. Paradiso AV, De Summa S, Loconsole D, Procacci V, Sallustio A et al. Rapid serological assays and SARS-CoV-2 real-time polymerase chain reaction assays for the detection of SARS-CoV-2: comparative study. *J Med Internet Res.* 2020;22(10):e19152. doi: 10.2196/19152.
81. Pastorino B, Touret F, Gilles M, de Lamballerie X, Charrel RN. Heat inactivation of different types of SARS-CoV-2 samples: what protocols for biosafety, molecular detection and serological diagnostics? *Viruses.* 2020;12(7):735. doi: 10.3390/v12070735.
82. Payne S. Methods to Study Viruses. *Viruses.* 2017;37-52. doi: 10.1016/B978-0-12-803109-4.00004-0.
83. Perkmann T, Perkmann-Nagele N, Breyer MK et al. Side by side comparison of three fully automated SARS-CoV-2 antibody assays with a focus on speci-



- ficity. *Clin. Chem.* 2020;66(11):1405–1413. doi: 10.1093/clinchem/hvaa198.
84. Pesaresi M, Pirani F, Tagliabracci A, Valsecchi M, Procopio AD, Busardò FP, Graciotti L. SARS-CoV-2 identification in lungs, heart and kidney specimens by transmission and scanning electron microscopy. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2020;24(9):5186-5188. doi: 10.26355/eurrev\_202005\_21217.
  85. Porter MD, Lipert RJ, Siperko LM, Wang G, Narayanan R. SERS as a bioassay platform: fundamentals, design, and applications. *Chem Soc Rev.* 2008;37(5):1001-1011. doi: 10.1039/b708461g.
  86. Praharaaj I, Jain A, Singh M, Balakrishnan A, Dhodapkar R et al. Pooled testing for COVID-19 diagnosis by real-time RT-PCR: a multi-site comparative evaluation of 5- & 10-sample pooling. *Indian J Med Res.* 2020;152(1&2):88-94. doi: 10.4103/ijmr.IJMR\_2304\_20.
  87. Rongqing Z, Li M, Song H, Chen J, Ren W et al. Early detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 antibodies as a serologic marker of infection in patients with coronavirus disease 2019. *Clin Infect Dis.* 2020;71(16):2066-2072. doi: 10.1093/cid/cia523.
  88. Qian J, Boswell SA, Chidley C et al. An enhanced isothermal amplification assay for viral detection. *Nat Commun.* 2020;11(1):5920. doi: 10.1038/s41467-020-19258-y.
  89. Qin J, You C, Lin Q, Hu T, Yu S, Zhou XH. Estimation of incubation period distribution of COVID-19 using disease onset forward time: a novel cross-sectional and forward follow-up study. *Sci Adv.* 2020;6(33):eabc1202. doi: 10.1126/sciadv.abc1202.
  90. Rohaim MA, Clayton E, Sahin I, Vilela J, Khalifa ME et al. Artificial Intelligence-Assisted Loop Mediated Isothermal Amplification (AI-LAMP) for Rapid Detection of SARS-CoV-2. *Viruses.* 2020;12(9):972. doi: 10.3390/v12090972.
  91. Shi J, Han D, Zhang R, Li J, Zhang R. Molecular and serological assays for SARS-CoV-2: insights from genome and clinical characteristics. *Clin Chem.* 2020;66(8):1030-1046. doi: 10.1093/clinchem/hvaa122.
  92. Sohn Y, Jeong SJ, Chung WS, Hyun JH, Baek YJ, Cho Y, Kim JH, Ahn JY, Choi JY, Yeom JS. Assessing viral shedding and infectivity of asymptomatic or mildly symptomatic patients with COVID-19 in a later phase. *J Clin Med.* 2020;9(9):2924. doi: 10.3390/jcm9092924.
  93. Sun B, Feng Y, Mo X, Zheng P, Wang Q et al. Kinetics of SARS-CoV-2 specific IgM and IgG responses in COVID-19 patients. *Emerg Microbes Infect.* 2020;9(1):940-948. doi: 10.1080/22221751.2020.1762515.
  94. Sun F, Ganguli A, Nguyen J, Brisbin R, Shanmugam K et al. Smartphone-based multiplex 30-minute nucleic acid test of live virus from nasal swab extract. *Lab Chip.* 2020;20:1621-1627. doi: 10.1039/D0LC00304B.
  95. Sun ZF, Meng XJ. Antigenic cross-reactivity between the nucleocapsid protein of severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus and polyclonal antisera of antigenic group I animal coronaviruses: implication for SARS diagnosis. *J Clin Microbiol.* 2004;42(5):2351-2352. doi: 10.1128/jcm.42.5.2351-2352.2004.



96. Tan SS, Yan B, Saw S et al. Practical laboratory considerations amidst the COVID-19 outbreak: early experience from Singapore. *J Clin Pathol.* 2021;74(4):257-260. doi: 10.1136/jclinpath-2020-206563.
97. Tang YW, Schmitz JE, Persing DH, Stratton CW. Laboratory Diagnosis of COVID-19: Current Issues and Challenges. *J Clin Microbiol.* 2020;58(6):e00512-20. doi: 10.1128/JCM.00512-20.
98. Theel ES, Harring J, Hilgart H, Granger D. Performance characteristics of four high-throughput immunoassays for detection of IgG antibodies against SARS-CoV-2. *J Clin. Microbiol.* 2020;58(8):e01243-20. doi: 10.1128/JCM.01243-20.
99. To KK, Tsang OT, Yip CC, Chan KH, Wu TC et al. Consistent detection of 2019 novel coronavirus in saliva. *Clin Infect Dis.* 2020;71(15):841-843. doi: 10.1093/cid/ciaa149.
100. Touma M. COVID-19: molecular diagnostics overview. *J Mol Med (Berl).* 2020;98(7):947-954. doi: 10.1007/s00109-020-01931-w.
101. Vashist SK. In vitro diagnostic assays for COVID-19: recent advances and emerging trends. *Diagnostics (Basel).* 2020;10(4):202. doi: 10.3390/diagnostics10040202.
102. Wang K, Long QX, Deng HJ, Hu J, Gao QZ et al. Longitudinal dynamics of the neutralizing antibody response to SARS-CoV-2 infection. *Clin Infect Dis.* 2020;ciaa1143. doi: 10.1093/cid/ciaa1143.
103. Wang W, Xu Y, Gao R, Lu R, Han K, Wu G, Tan W. Detection of SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens. *JAMA.* 2020;323(18):1843-1844. doi: 10.1001/jama.2020.3786.
104. Wang X, Zhong M, Liu Y, Ma P, Dang L et al. Rapid and sensitive detection of COVID-19 using CRISPR/Cas12a-based detection with naked eye readout, CRISPR/Cas12a-NER. *Sci. Bull (Beijing).* 2020;65(17):1436-1439. doi:10.1016/j.scib.2020.04.041.
105. Wang Y, Rauf S, Grewal YS, Spadafora LJ, Shiddiky MJ et al. Duplex microfluidic SERS detection of pathogen antigens with nanoyeast single-chain variable fragments. *Anal. Chem.* 2014;86(19):9930-9938. doi: 10.1021/ac5027012.
106. Wang Y, Wang Y, Chen Y, Qin Q. Unique epidemiological and clinical features of the emerging 2019 novel coronavirus pneumonia (COVID-19) implicate special control measures. *J Med Virol.* 2020;92(6):568-576. doi: 10.1002/jmv.25748.
107. Weidner L, Gansdorfer S, Unterweger S et al. Quantification of SARS-CoV-2 antibodies with eight commercially available immunoassays. *J. Clin. Virol.* 2020;129:104540. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104540.
108. Wölfel R, Corman VM, Guggemos W et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature.* 2020;(581):465-469. doi: 10.1038/s41586-020-2196-x.
109. World Health Organization. Multisystem inflammatory syndrome in children and adolescents temporally related to COVID-19. 2020. Available at: <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/multisystem-inflammatory-syndrome-in-children-and-adolescents-with-covid-19>.



110. World Health Organization. WHO Director-General's remarks at the media briefing on 2019-nCoV on 11 February 2020. 2020. Available at: <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-remarks-at-the-media-briefing-on-2019-ncov-on-11-february-2020>.
111. World Health Organization. Pneumonia of unknown cause – China. Disease outbreak news. 2020. Available at: <https://www.who.int/csr/don/05-january-2020-pneumonia-of-unkown-cause-china/en/>.
112. World Health Organization. WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 – 11 March 2020. 2020. Available at: <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19-11-march-2020>.
113. World Health Organization. WHO COVID-19 case definition. 2020. Available at: [https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-Surveillance\\_Case\\_Definition-2020.2](https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-Surveillance_Case_Definition-2020.2).
114. World Health Organization. Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays. Interim guidance. 2020. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/antigen-detection-in-the-diagnosis-of-sars-cov-2infection-using-rapid-immunoassays>.
115. World Health Organization. SARS-CoV-2 antigen-detecting rapid diagnostic tests: an implementation guide, 2020. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240017740>.
116. World Health Organization. Diagnostic testing for SARS-CoV-2. Interim guidance. 2020. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/diagnostic-testing-for-sars-cov-2>.
117. WorldOmeter, Coronavirus. 2021. Available at: <https://www.worldometers.info/coronavirus/>.
118. Wu F, Zhao S, Yu B, Chen YM, Wang W et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*. 2020;579(7798):265-269. doi: 10.1038/s41586-020-2008-3.
119. Wu Y, Wang F, Shen C, Peng W, Li D et al. A noncompeting pair of human neutralizing antibodies block COVID-19 virus binding to its receptor ACE2. *Science*. 2020;368(6496):1274-1278. doi: 10.1126/science.abc2241.
120. Xiang F, Wang X, He X, Peng Z, Yang B et al. Antibody detection and dynamic characteristics in patients with coronavirus disease 2019. *Clin Infect Dis*. 2020;71(8):1930-1934. doi: 10.1093/cid/ciaa461.
121. Xu K, Zhou R, Takei K, Hong M. Toward flexible surface-enhanced Raman scattering (SERS) sensors for point-of-care diagnostics. *Adv. Sci*. 2019;6:1900925. doi: 10.1002/advs.201900925.
122. Yamada S, Fukushi S, Kinoshita H, Ohnishi M, Suzuki T et al. Assessment of SARS-CoV-2 infectivity of upper respiratory specimens from COVID-19 patients by virus isolation using VeroE6/TMPRSS2 cells. *BMJ Open Respiratory Research*. 2021;8(1):e000830. doi: 10.1136/bmjresp-2020-000830.
123. Yang W, Dang X, Wang Q, Xu M, Zhao Q et al. Rapid detection of SARS-CoV-2 using reverse transcription RT-LAMP method. medRxiv. 2020.03.02.20030130. doi: 10.1101/2020.03.02.20030130.
124. Yip CC, Sridhar S, Leung KH, Ng AC, Chan KH, Chan JF, Tsang OT, Hung



- IF, Cheng VC, Yuen KY, To KK. Development and evaluation of novel and highly sensitive single-tube nested real-time RT-PCR assays for SARS-CoV-2 detection. *Int J Mol Sci.* 2020;21(16):5674. doi: 10.3390/ijms21165674.
125. Yip PM, Venner AA, Shea J, Fuezery A, Huang Y, Massicotte L, Tetreault N, Tomalty C, Shaw JLV. Point-of-care testing: a position statement from the Canadian Society of Clinical Chemists. *Clin Biochem.* 2018;53:156-159. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2018.01.015.
126. Yonekawa T, Watanabe H, Hosaka N et al. Fully automated molecular diagnostic system “Simprova” for simultaneous testing of multiple items. *Sci Rep.* 2020;10:5409. doi: 10.1038/s41598-020-62109-5.
127. Yong SK, Su PC, Yang YS. Molecular targets for the testing of COVID-19. *Biotechnol J.* 2020;15(6):e2000152. doi: 10.1002/biot.202000152.
128. Yongchen Z, Shen H, Wang X, Shi X, Li Y, Yan J, Chen Y, Gu B. Different longitudinal patterns of nucleic acid and serology testing results based on disease severity of COVID-19 patients. *Emerg Microbes Infect.* 2020;9(1):833-836. doi: 10.1080/22221751.2020.1756699.
129. Yoshikawa R, Abe H, Igasaki Y, Negishi S, Goto H, Yasuda J. Development and evaluation of a rapid and simple diagnostic assay for COVID-19 based on loop-mediated isothermal amplification. *PLoS Negl Trop Dis.* 2020;14(11):e0008855. doi: 10.1371/journal.pntd.0008855.
130. Younes N, Al-Sadeq DW, Al-Jighefee H, Younes S, Al-Jamal O, Daas HI, Yassine HM, Nasrallah GK. Challenges in laboratory diagnosis of the novel coronavirus SARS-CoV-2. *Viruses.* 2020;12(6):582. doi: 10.3390/v12060582.
131. Yu F, Yan L, Wang N, Yang S, Wang L et al. Quantitative detection and viral load analysis of SARS-CoV-2 in infected patients. *Clin Infect Dis.* 2020;71(15):793-798. doi: 10.1093/cid/ciaa345.
132. Yu L, Wu S, Hao X, Li X, Liu X et al. Rapid colorimetric detection of COVID-19 coronavirus using a reverse transcriptional loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) diagnostic platform: iLACO. medRxiv. 2020.02.20.20025874. doi: 10.1101/2020.02.20.20025874.
133. Zainol Rashid Z, Othman SN, Abdul Samat MN, Ali UK, Wong KK. Diagnostic performance of COVID-19 serology assays. *Malays J Pathol.* 2020;42(1):13-21.
134. Zhang G, Nie S, Zhang Z, Zhang Z. Longitudinal change of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 antibodies in patients with coronavirus disease 2019. *J Infect Dis.* 2020;222(2):183-188. doi: 10.1093/infdis/jiaa229.
135. Zhang Y, Odiwuor N, Xiong J et al. Rapid molecular detection of SARS-CoV-2 (COVID-19) virus RNA using colorimetric LAMP. medRxiv. 2020.02.26.29928373. doi: 10.1101/2020.02.26.20028373.
136. Zhang W, Du RH, Li B, Zheng XS, Yang XL, Hu B, Wang YY, Xiao GF, Yan B, Shi ZL, Zhou P. Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes. *Emerg Microbes Infect.* 2020;9(1):386-389. doi: 10.1080/22221751.2020.1729071.
137. Zhao J, Yuan Q, Wang H, Liu W, Liao X et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with novel coronavirus disease 2019. *Clin Infect Dis.*



- 2020;71(16):2027-2034. doi: 10.1093/cid/ciaa344.
138. Zhou P, Yang XL, Wang XG et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020;(579):270–273. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7.
139. Zitek T. The appropriate use of testing for COVID-19. *West J Emerg Med*. 2020;21(3):470-472. doi: 10.5811/westjem.2020.4.47370.

Стаття надійшла до редакції 11.03.2021 р.

