

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. І. МЕЧНИКОВА

МІКРОБІОЛОГІЯ І БІОТЕХНОЛОГІЯ
MICROBIOLOGY & BIOTECHNOLOGY

Науковий журнал
Виходить 3 рази на рік
Засновано у липні 2006 року

№ 1(51)
2021

Одеса
ОНУ
2021

Засновник
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
Свідоцтво про державну реєстрацію: серія КВ № 19409 від 17.08.2012 р.

ГОЛОВНИЙ РЕДАКТОР
В. О. Іваниця (Одеса, Україна)
ЗАСТУПНИК ГОЛОВНОГО РЕДАКТОРА
Т. О. Філіпова (Одеса, Україна)
ВІДПОВІДАЛЬНИЙ СЕКРЕТАР
Т. В. Бурлака (Одеса, Україна)

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ
А. Анадон (Мадрид, Іспанія), Л. Д. Варбанець (Київ, Україна), А. І. Вінніков (Дніпро, Україна), Б. М. Галкін (Одеса, Україна), П. І. Гвоздяк (Київ, Україна), Г. О. Іутинська (Київ, Україна), Л. В. Капрельянц (Одеса, Україна), І. К. Курдиш (Київ, Україна), І. П. Метеліцина (Одеса, Україна), Ф. Мощі (Тукуман, Аргентина), І. І. Панчук (Чернівці, Україна), М. В. Патика (Київ, Україна), В. С. Підгорський (Київ, Україна), Л. М. Сківка (Київ, Україна), Л. Ф. Суходуб (Суми, Україна), Ф. І. Товкач (Київ, Україна), Н. Чанішвілі (Тбілісі, Грузія).

Науковий редактор випуску В. О. Іваниця

Прийняті до друку статті обов'язково рецензуються
Затверджено до друку Вченою радою
Одеського національного університету імені І. І. Мечникова

**Відповідно до наказу МОН України № 1301 від 15.10.2019 р.
входить до Переліку наукових фахових видань України (категорія «Б»).**

Видання реферується та індексується в наукометричних базах даних: «Україніка наукова», Index Copernicus Journals Master list, Наукова періодика України (Національна бібліотека України імені В. І. Вернадського), Ulrich's periodicals, Електронний архів-репозитарій Одеського національного університету імені І. І. Мечникова, Наукова періодика України (journal.urau.ua), Google Академія, Base-search, Citefactor, Advanced, Sciences Index. Research Bib, Наукова електронна бібліотека e-LIBRARY, IBI Factor

Завідувач редакцією Н. Г. Юргелайтіс
Редактори: Т. В. Іваниця, І. В. Райко
Адреса редакції:
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна. Тел.: +38 (048) 723-28-39,
e-mail: journal.mbt@onu.edu.ua
<http://mbt.onu.edu.ua>

© Одеський національний університет
імені І. І. Мечникова, 2021

Establisher
by Odesa National Mechnykov University.
Registration of state certification: KB № 19409. Date of issue 17.08.2012.

EDITOR-IN-CHIEF

V. O. Ivanytsia (Odesa, Ukraine)

CO-EDITOR-IN-CHIEF

T. O. Filipova (Odesa, Ukraine)

EXECUTIVE SECRETARY

T. V. Burlaka (Odesa, Ukraine)

EDITORIAL BOARD MEMBERS

A. Anadon (Madrid, Espana), N. Chanishvili (Tbilisi, Geordgia), B. M. Galkin (Odesa, Ukraine), P. I. Gvozdyak (Kyiv, Ukraine), G. O. Iutynska (Kyiv, Ukraine), L. V. Kapreliants (Odesa, Ukraine), I. K. Kurdish (Kyiv, Ukraine), I. P. Metelitsyna (Odesa, Ukraine), F. Mozzi (Tucuman, Argentina), I. I. Panchuk (Chernivtsi, Ukraine), M. V. Patyka (Kyiv, Ukraine), V. S. Pidgorskyi (Kyiv, Ukraine), L. M. Skivka (Kyiv, Ukraine), L. F. Sukhodub (Sumy, Ukraine) F. I. Tovkach (Kyiv, Ukraine), L. D. Varbanets (Kyiv, Ukraine), A. I. Vinnikov (Dnipropetrovsk, Ukraine),

Scientific editor V. O. Ivanytsia

Accepted for publishing articles are reviewed

Approved for publishing by Academic Council
of Odesa National Mechnykov University

According to the order of the Ministry of Education and Science of Ukraine № 1301 from 15.10.2019 it is included in the List of scientific professional editions of Ukraine (category "B").

The edition is referenced and indexed in the scientific metric databases: «Ukrainika scientific», Index Copernicus Journals Master List, Scientific Periodicals in National Library of Ukraine Vernadsky, Ulrich's periodicals, Scientific Periodicals of Ukraine (journal.uran.ua), Institutional Repository at Odesa I. I. Mechnykov National University, Google Scholar, Base-search, Citefactor, Advanced, Sciences Research Bib, e-LIBRARY, IBI Factor

Publishing editor N. G. Yurgelaitis

Editors: T. V. Ivanytsia, I. V. Raiko

A d d r e s s:

Odesa National Mechnykov University,

Dvoryanska str., 2, Odesa, 65082, Ukraine Tel.: +38 (048) 723-28-39,

e-mail: journal.mbt@onu.edu.ua

<http://mbt.onu.edu.ua>

© Odesa National Mechnykov
University, 2021

ЗМІСТ

ОГЛЯДОВІ ПРАЦІ

К.М. Гуменюк, Д.О. Дубина, О.О. Юрченко КОРОНАВІРУСНА ХВОРОБА (COVID-19). ВИКЛИКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ СПЕЦИФІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ	6
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ПРАЦІ

Ю.А. Швець, К.Д. Крилова, Н.В. Ліманська ВПЛИВ <i>BACILLUS MEGATERIUM</i> ОНУ 500 НА ПРОРОСТАННЯ ТА РІСТ СІЯНЦІВ СОНЯШНИКА	45
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

М.Д. Цулукідзе, З.Ш. Ломтатідзе, К.Х. Мамулашвілі АНТАГОНІСТИЧНА АКТИВНІСТЬ АКТИНОМІЦЕТІВ, ВИДІЛЕНИХ З СОЛОНЧАКОВИХ ГРУТІВ БІЛЯ ОЗЕРА КУМІСІ (ГРУЗІЯ)	55
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

ІНФОРМАЦІЙНЕ ПОВІДОМЛЕННЯ ДЛЯ АВТОРІВ	60
---------------------------------------------	----

АЛФАВІТНИЙ ПОКАЖЧИК СТАТЕЙ, ОПУБЛІКОВАНИХ У ЖУРНАЛІ «МІКРОБІОЛОГІЯ І БІОТЕХНОЛОГІЯ» У 2020 РОЦІ	63
----------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

CONTENTS

OBSERVATION AND THEORETICAL ARTICLES

K.M. Gumeniuk, D.O. Dubyna, O.O. Yurchenko CORONAVIRUS DISEASE (COVID-19). CHALLENGES AND PROSPECTS OF SPECIFIC DIAGNOSTICS	6
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---

EXPERIMENTAL WORKS

Y.A. Shvets, K.D. Krylova, N.V. Limanska EFFECT OF <i>BACILLUS MEGATERIUM</i> ONU 500 ON THE GERMINATION AND GROWTH OF SUNFLOWER SEEDLINGS	45
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

M.D. Tsulukidze, Z.Sh. Lomtadze, Q.H. Mamulashvili ANTAGONISTIC ACTIVITY OF ACTINOMYCETES ISOLATED FROM SALINE SOILS NEAR WITH KUMISI LAKE (GEORGIA)	55
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

INSTRUCTIONS FOR THE AUTHORS	60
------------------------------------	----

ALPHABET INDEX OF PAPER PUBLISHED IN JOURNAL “MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY” IN 2020 YEAR	63
-----------------------------------------------------------------------------------------------------	----

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).

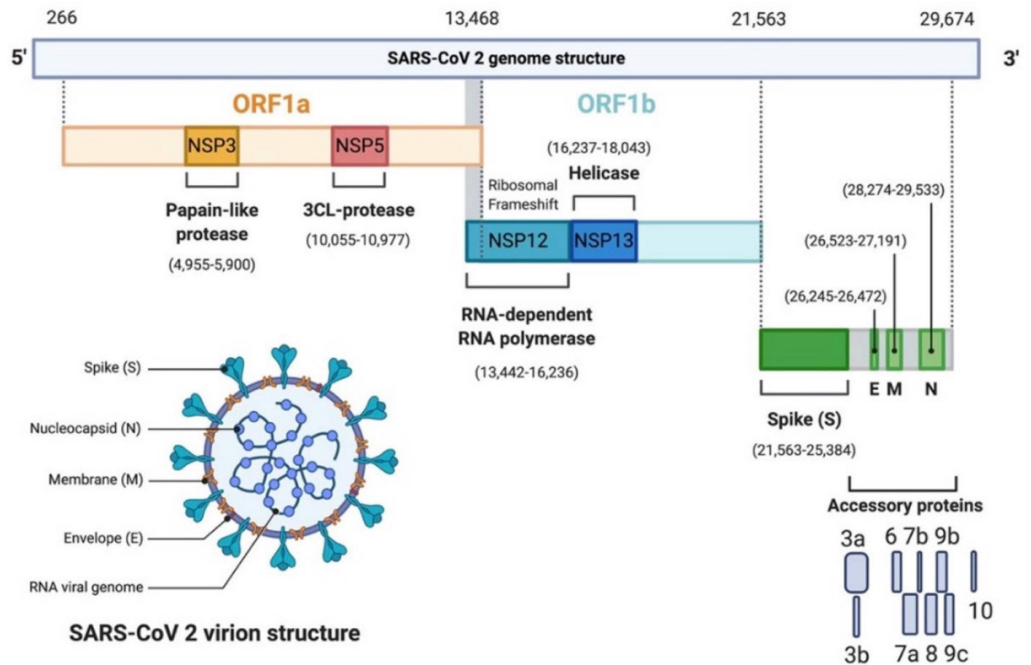


Рис. 1. Структура та геном вірусу SARS-CoV-2 [2]

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

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

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 ендогенним, коли генетична мішень міститься в самому біологічному матеріалі, або екзогенним, який додається в процесі аналізу. Найчастіше при діагностиці COVID-19 методом рЗТ-ПЛР як ендогенний 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-ПЛП та секвенуванням нового покоління використовувалася для підтвердження першого завізного випадку COVID-19 в Шанхаї [1].

Перевагами технології CRISPR-Cas в порівнянні з рЗТ-ПЛП 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-ПЛП. 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-ПЛП [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 і швидкістю виконання, не потребують дорогого обладнання і можуть виконуватися в пунктах надання медичної допомоги.

Ключові 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., Grimm 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
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 MBJ. 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.
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.



Y.A. Shvets, K.D. Krylova, N.V. Limanska

Odesa I.I. Mechnykov National University,
2, Dvorianska str., Odesa, 65082, Ukraine,
e-mail: julianna.shvets@gmail.com

EFFECT OF *BACILLUS MEGATERIUM* ONU 500 ON THE GERMINATION AND GROWTH OF SUNFLOWER SEEDLINGS

*The aim of the study was to evaluate the effect of Bacillus megaterium ONU 500 on the germination and growth of sunflower seedlings. **Materials and methods.** Sunflower seeds were sown in containers with soil inoculated with a suspension of bacteria B. megaterium ONU 500 in concentration of 10^6 CFU/ml. After 21 days growth characteristics of seedlings were compared: germination, average height, root length, leaf area, dry weight. Effect of these microorganisms on biofilm formation on roots was investigated with light microscopy. **Results.** Inoculation of soil with B. megaterium ONU 500 resulted in the positive effect on roots length (increase by 21%), leaf area (increase by 22%) and dry weight of seedlings (increase by 17.8%). No significant effect on germination and plant height was observed. On the roots of plants grown in soil treated with B. megaterium ONU 500 more developed biofilms with well formed matrix were observed, which indicates the stimulation of ability of plant and soil microbiota to form biofilms in presence of bacilli from the studied strain. **Conclusion.** The investigations demonstrated that bacteria of B. megaterium ONU 500 strain caused a positive effect on development of sunflower seedlings and formation of biofilms on their roots.*

Key words: B. megaterium, sunflower, growth characteristics of seedlings, biofilm.

Bacillus megaterium de Bary – representatives of plant and soil microbiota. Antagonistic and phytostimulative properties of these microorganisms make them useful for application in agriculture [11; 12]. Use of *B. megaterium* as a biofertilizer helps to stimulate plant growth, promotes better decomposition of organic phosphorus and increases resistance to various stresses and a wide range of pathogens [10; 13].

Nowadays, protection of the environment against contamination with chemical fertilizers and pesticides becomes increasingly important. Use of different chemicals leads to depletion of soil fertility and reduced quality of agricultural products. Biological products based on beneficial soil- and plant-associated bacteria can be used as alternative methods to stimulate plant growth, protect them from pathogens and increase chances of survival under stressful conditions [14; 17].

Microorganisms *B. megaterium* are able to synthesize phytohormones that promote plant growth and increase yield of horticultural crops. They also cause



visible improvement of morphological characteristics of plants and reduce seed germination time. *B. megaterium* produce cytokinins, indole-3-acetic and abscisic acids, which play an important role in plant growth regulation, cytokinesis and in the regulation of environmental stress [16; 19].

Modern crop production is based on the ideas of using biological preparations containing microbial phytohormones due to the simplicity and cheapness of their production [14]. In addition, an important factor in yielding a high-quality crop is the control of diseases. Some strains of *B. megaterium* are described as agents of biological control – they can colonize the rhizosphere of plants and provide protection against pathogenic microorganisms [7; 10; 13; 16].

B. megaterium are phosphate-mobilizing bacteria that are able to absorb phosphorus from compounds inaccessible to plants and transport them to roots. They also regulate water and minerals metabolism of plants. As a result, increased resistance of plants to drought, heat and salt stress is observed, which makes *B. megaterium* extremely attractive for use in arid regions [19].

Due to phytostimulating properties useful for agriculture, the aim of the work was to evaluate the effect of *Bacillus megaterium* ONU 500 on the germination and growth of sunflower seedlings.

Materials and methods

The culture of *B. megaterium* ONU 500 was cultivated overnight at 28 °C in liquid LB medium (trypton – 10 g/l, yeast extract – 5 g/l, NaCl – 10 g/l) [9]. The concentration of overnight culture was measured using a SmartSpec spectrophotometer (BioRad). The culture was diluted with tap water to 10⁶ CFU/ml according to Tverdokhlib et al. [18].

Sunflower seeds [4] were sown in plastic containers with peat soil (4 seeds in each container) to a depth of 0.5–1.0 cm (fig. 1).

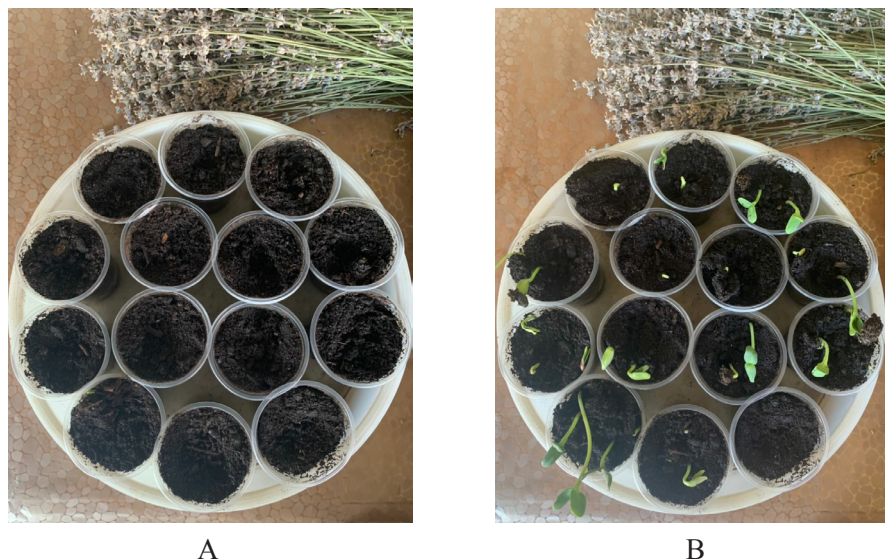


Fig. 1. Sunflower seedlings on the first (A) and third (B) day after sowing

The soil was inoculated with a suspension (50 ml) of *B. megaterium* ONU 500 in concentration of 10^6 CFU/ml on the first day of the experiment. The soil in a control variant was poured with the equivalent volume of water. Three independent experiments of 200 seeds in each variant were conducted.

Sunflower plants growth was observed for three weeks under the next conditions: open air, partial shade, 12-hour daylight, temperature 28 ± 2 °C, moderate humidification. Biometric indexes were measured on 22nd day of the experiment – on the phase of 5–6 leaves. Seed germination, average seedling height, seedling root length and seedling leaf area were evaluated [8]. Average dry weight of seedlings was measured. Average values and confidence intervals were calculated using the Excel application package.

To study the effect of *B. megaterium* ONU 500 on biofilm formation, microscopy of biofilms was performed. Roots of sunflower seedlings were dyed with 1% solution of acridine orange for 10 minutes. The stained roots were dried on a glass slide and examined under a light microscope with a total magnification of 100x. The level of biofilm formation was assessed on a scale according to Galkin et al. [1]:

Table

The evaluation criteria of the formation of biofilms

Criteria	Description
–	Biofilms are not formed
+	Individual attached cells without formation of biofilms
++	Individual developed microcolonies
+++	Developed biofilms with gaps in the structure
++++	Developed biofilms with matrix and without gaps

Biofilm studies were performed in each independent experiment.

Results and discussion

Germination of plants grown in the soil inoculated with *B. megaterium* ONU 500 ($87.3 \pm 2.9\%$) did not significantly differ from the control ($85.0 \pm 2.5\%$).

Similarly, inoculation of soil with bacilli of this strain did not significantly affect the height of sunflower seedlings (fig. 2, a).

At the same time, a significant positive effect of inoculation with *B. megaterium* ONU 500 on the root length was observed. The average root length increased by 21.08% (fig. 2, b).

The results of Dahmani et al. confirmed that strains of *B. megaterium* had positive effect on the growth and development of plant roots [10]. These micro-



organisms also contribute to the formation of lateral roots and increase the length of root hair, which is necessary for collection and transfer of water and minerals present in soil to roots [10; 13; 15].

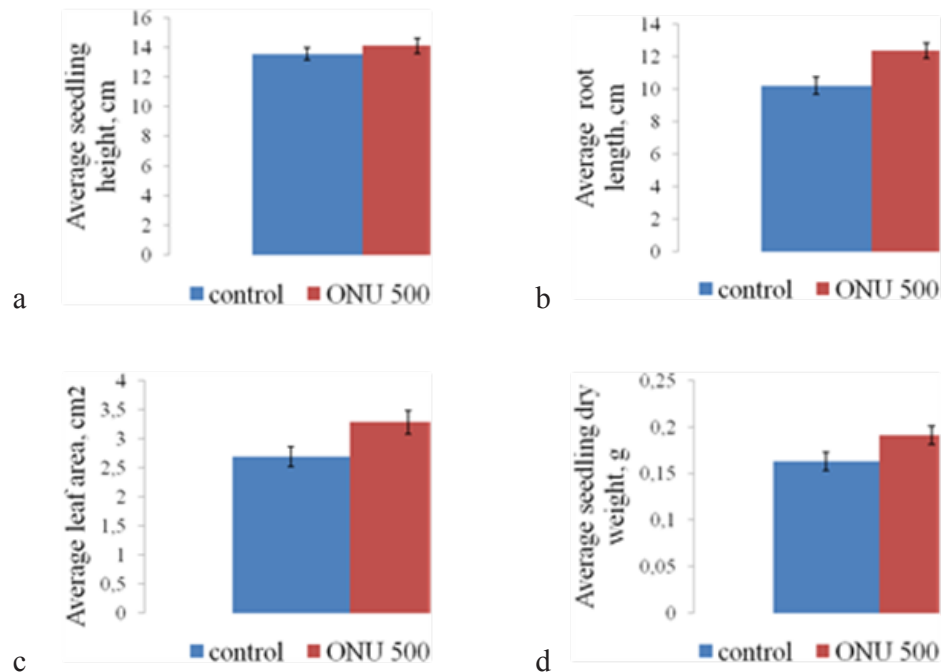


Fig. 2. Biometric indexes of the sunflower seedlings:
 a – average height (cm); b – average length of roots (cm); c – average leaf area (cm²);
 d – average dry weight (g).

Treatment with a suspension of bacilli increased leaf area by 21,93% (fig. 2, c). Phytostimulation effect of inoculation with bacilli was also observed in case of dry weight of seedlings: it increased by 17.8% as compared with the control (fig. 2, d).

The results of our study coincide with the literature data. Previous studies of Tverdokhlib et al. [18], Teslyuk et al. [10] and Dahmani et al. [5] indicate the significant phytostimulatory effect of *B. megaterium* strains on plant growth, development of roots and vital functions [5; 10; 18]. Literature data indicated that cultural medium LB by itself did not cause the stimulation effect [16] but in majority of cases inhibited plant growth [6]. The results of our previous studies also have shown the inhibitory effect of LB and LB mixed with MRS medium on germination and plants growth [2; 3]. According to this, we could suggest that increasing of some biometric indexes of sunflower seedlings could be explained by the influence of bacteria *B. megaterium* ONU 500 but not the cultural medium.

It could be hypothesized that improvement of biometric indexes of the plants occurred due to ability of *B. megaterium* to synthesize phytohormones [7; 10; 15; 16; 19], but this suggestion needs further investigations.

The influence of *B. megaterium* ONU 500 on formation of biofilms on roots of sunflower seedlings was studied. In the control variant, slightly developed bio-



films on roots were formed. In presence of bacteria *B. megaterium* ONU 500 more developed, mature biofilms with well-formed matrix (++++) were observed in all experimental variants. The level of biofilm formation became higher in plants grown in the soil treated with bacilli of this strain (fig. 3).

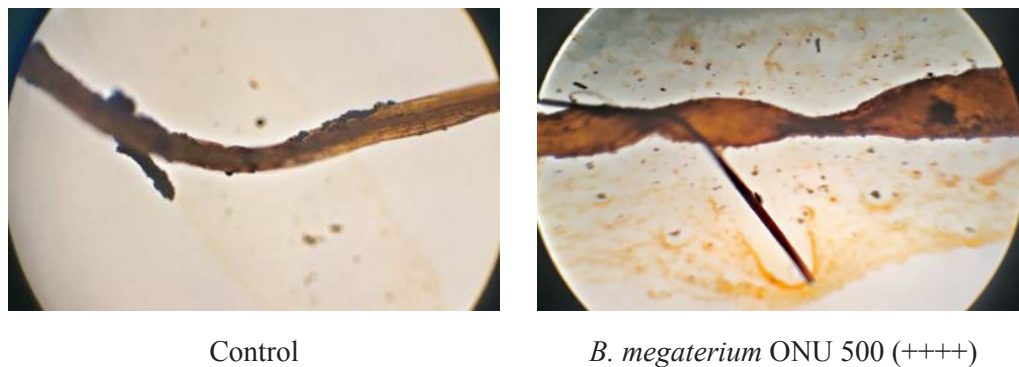


Fig. 3. Biofilms on the sunflower seedlings roots in the control (without inoculation) and experimental (after inoculation of soil with *B. megaterium* ONU 500) variants (100x)

Microorganisms, in particular bacilli, are able to form biofilms on plant roots and integrate into natural biofilms of other microorganisms, enhancing their protective properties [20].

The obtained results allow us to suggest that bacteria *B. megaterium* ONU 500 are able to enhance the formation of biofilms by other representatives of plant and soil microbiota. As a result, developed integrated biofilms on the roots of sunflower plants grown in the soil inoculated with *B. megaterium* ONU 500 were formed as compared with the plants from the non inoculated soil.

Thus, the study of *B. megaterium* ONU 500 has shown that these bacteria could be used for stimulation of plant growth. The further investigation of the mechanisms of biofilm formation in presence of *B. megaterium* ONU 500 could elucidate another positive aspect of using bacilli – as stimulators of plant and soil microbiota.

Conclusions

The investigations demonstrated that bacteria of *B. megaterium* ONU 500 strain caused a positive effect on development of sunflower seedlings and formation of biofilms on their roots.

Ю.А. Швець, К.Д. Крилова, Н.В. Ліманська

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса 65082, Україна,
e-mail: julianna.shvets@gmail.com

ВПЛИВ *BACILLUS MEGATERIUM* ОНУ 500 НА ПРОРОСТАННЯ ТА РІСТ СІЯНЦІВ СОНЯШНИКА

Реферат

Мета. Дослідити вплив *B. megaterium* ОНУ 500 на проростання насіння та ріст сіянців соняшника. **Матеріали і методи.** Насіння соняшника висівали у контейнери із ґрунтом, в який вносили суспензію бактерій штаму *B. megaterium* ОНУ 500 у концентрації 10^6 КУО/мл. Через 21 день після висіву визначали ростові характеристики паростків: схожість, середню висоту паростків, довжину кореня, площу листової пластинки, суху масу паростків. Методом світлової мікроскопії оцінено вплив даних мікроорганізмів на формування біоплівки на коренях. **Результати.** За інтродукції бактерій *B. megaterium* ОНУ 500 у ґрунт спостерігали збільшення довжини коренів сіянців соняшника на 21%, площі листків – на 22%, сухої маси паростків – на 17,8%. На схожість та висоту рослин суттєвого впливу не виявлено. На коренях рослин, які росли у ґрунті з інтродукованими *B. megaterium* ОНУ 500, спостерігали більш розвинені біоплівки з повністю сформованим матриксом, що свідчить про підсилення здатності мікробіоти рослин і ґрунту утворювати біоплівки під впливом бацил даного штаму. **Висновок.** Проведені дослідження показали, що бактерії штаму *B. megaterium* ОНУ 500 чинять позитивний вплив на розвиток сіянців соняшника та формування біоплівок на їх корінні.

Ключові слова: *B. megaterium*, соняшник, біометричні показники паростків, біоплівка.

Ю.А. Швець, Е.Д. Крылова, Н.В. Лиманская

Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова,
ул. Дворянская, 2, Одесса 65082, Украина,
e-mail: julianna.shvets@gmail.com

ВЛИЯНИЕ *BACILLUS MEGATERIUM* ОНУ 500 НА ПРОРОСТАНИЕ И РОСТ СЕЯНЦЕВ ПОДСОЛНЕЧНИКА

Реферат

Цель. Оценить влияние *B. megaterium* ОНУ 500 на прорастание семян и рост сеянцев подсолнечника. **Материалы и методы.** Семена подсолнечника высевали в контейнеры с почвой, в которую вносили суспензию бактерий штамма *B. megaterium* ОНУ 500 в концентрации 10^6 КОЕ/мл. Через 21 день после посева сравнивали ростовые характеристики ростков: всхожесть, среднюю высоту ростков, длину корня, площадь листовой пластинки, сухую массу проростков. Методом световой микроскопии проведена оценка вли-



яния этих микроорганизмов на формирование биопленки на корнях. **Результаты.** Внесение в почву *B. megaterium* ОНУ 500 привело к увеличению длины корней сеянцев на 21%, площади листьев – на 22%, сухой массы ростков – на 17,8%. На всхожесть и высоту растений существенного влияния выявлено не было. На корнях растений, которые росли в почве с интродуцированными *B. megaterium* ОНУ 500, наблюдались более развитые биопленки с полностью сформированным матриксом, что свидетельствует о повышении способности микробиоты растений и почвы образовывать биопленки под влиянием бактерий данного штамма. **Вывод.** Проведенные исследования показали, что бактерии штамма *B. megaterium* ОНУ 500 оказывают положительное влияние на развитие сеянцев подсолнечника и формирование биопленок на их корнях.

Ключевые слова: *B. megaterium*, подсолнечник, биометрические показатели проростков, биопленка.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Галкін М.Б., Ліманська Н.В., Філіпова Т.О. Формування біоплівки бактеріями *Lactobacillus plantarum* на корнях рослин *Lepidium sativum* L. // Мікробіологія і біотехнологія. – 2012. – № 3. – С. 34–43.
2. Коротаєва Н.В., Ліманська Н.В., Страшнова І.В., Іваниця В.О. Вплив бактерій *Lactobacillus plantarum* ОНУ 87 на розвиток бактеріального раку на рослинах винограду // Мікробіологія і біотехнологія. – 2020. – № 2(49). – С. 33–43.
3. Масловська Н.С., Ліманська Н.В. Вплив *Lactobacillus plantarum* ОНУ 12 і *Agrobacterium tumefaciens* C58 на проростання і деякі ростові характеристики паростків томату // Вісник Запорізького національного університету. – 2016. – № 2. – С. 129–135.
4. Насіння сільськогосподарських культур. Методи визначення якості: ДСТУ 4138–2002. – [Чинний від 2002–12–28]. – К. : Держспоживстандарт України, 2003. – 172 с. – (Національні стандарти України).
5. Теслюк Н.І., Аврамович І. Удосконалення методів адаптації мікроклонів *Paulownia tomentosa* до умов *in vivo* з використанням бактерій *Bacillus megaterium* ОНУ 500 // Мікробіологія і біотехнологія. – 2019. – № 3. – С. 92–102.
6. Andrade de P.A.M., Pimenta L.S., Silveira Cardillo da B.E., Marcon J., Silva da J.A., Azevedo de J.L., Luz Coelho Novembre da A.D., Quecine M.C. *Bacillus* sp. RZ2MS9 and the bacteria-free filtrate in the seed germination and growth of maize seedlings // Brazilian Journal of Agriculture. – 2020. – Vol. 95(2). – P. 95–105.
7. Akinrinlola R.J., Yuen G.Y., Drijber R.A., Adesemoye A.O. Evaluation of plant growth promotion and predictability of efficacy by *in vitro* physiological traits // International Journal of Microbiology. – 2018: <http://doi.org/10.1155/2018/5686874>
8. Bange M.P., Hammer G.L., Milroy S.P., Rickert K.G. Improving estimates of individual leaf area of sunflower // Agronomy Journal. – 2000. – Vol. 9 (4). – P. 761–765.



9. Bertani G. Studies on lysogenesis. I. The mode of phage liberation by lysogenic *Escherichia coli* // Journal of Bacteriology. – 1951. – Vol. 62. – P. 293–300.
10. Dahmani M.A., Desrut A., Moumen B., Verdon J., Mermouri L., Kacem M., Coutos-Thevenot P., Kaid-Harche M., Berges T., Vriet C. Unearthing the plant growth-promoting traits of *Bacillus megaterium* RmBm31, an endophytic bacterium isolated from root nodules of *Retama monosperma* // Front. Plant Sci. – 2020. – Vol. 11, № 124: [http://doi: 10.3389/fpls.2020.00124](http://doi.org/10.3389/fpls.2020.00124)
11. Fang H., Kang J., Zhang D. Microbial production of vitamin B₁₂: a review and future perspectives // Microb. Cell Fact. – 2017. – Vol. 16. – P. 15.
12. Final Screening Assessment of *Bacillus megaterium* strain ATCC 14581. En14-314/2018E. – [2018–02–01]. – Canada: Minister of the Environment and Climate Change, 2016. – P. 35.
13. Goswami G., Panda D., Samanta R., Boro R., Modi M., Bujarbaruah M., Barooah K. *Bacillus megaterium* adapts to acid stress condition through a network of genes: insight from a genome-wide transcriptome analysis // Scientific Reports. – 2018. – Vol. 8. – Article number: 16105: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34221-0>
14. O'Brien P. Biological control of plant diseases // Australas. Plant Pathol. – 2017. – Vol. 46. – P. 293–304.
15. Ortíz-Castro R., Valencia-Cantero E., López-Bucio J. Plant growth promotion by *Bacillus megaterium* involves cytokinin signaling // Plant Signal Behav. – 2008 –Vol. 3, № 4. – P. 263–265.
16. Porcel R., Zamarreno A., Garcia-Mina J., Aroca R. Involvement of plant endogenous ABA in *Bacillus megaterium* PGPR activity in tomato plants // BMC Plant Biol. – 2014. – Vol. 14. – P. 36–43.
17. Tozlu E., Tekiner N., Kotany R., Ortucu S. Investigation on the biological control of *Alternaria alternata* // Indian J. Agric. Sci. – 2018. – Vol. 88. – P. 1241–1248.
18. Tverdokhlib V.S., Limanska N.V., Krylova K.D., Ivanytsia V.O. Ability of *Lactobacillus plantarum* ONU 12 and *Bacillus megaterium* ONU 484 to stimulate growth of wheat seedlings and to form biofilms // Мікробіологія і біотехнологія. – 2018. – Vol. 4. – P. 6–18.
19. Wang B., Zhang D., Chu S., Zhi Y., Liu X., Zhou P. Genomic analysis of *Bacillus megaterium* NCT-2 reveals its genetic basis for the bioremediation of secondary salinization soil // J. Genomics. – 2020. – Vol. 2. – P. 1–11.
20. Wu Y., Cai P., Jing X., Niu X., Ji D., Ashry N.M., Gao C., Huang Q. Soil biofilm formation enhances microbial community diversity and metabolic activity // Environment International. – 2019. – Vol. 132, № 105116: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105116>.

REFERENCES

1. Galkin MB, Limanska NV, Philipova TO, Ivanytsia VO. Biofilm formation by *Lactobacillus plantarum* bacteria on *Lepidium Sativum* L. roots. Microbiology & Biotechnology. 2012; 3: 34-43 (in Ukrainian).
2. Korotaeva NV, Limanska NV, Strashnova IV, Ivanytsia VO. Effect of *Lac-*



- tobacillus plantarum* ONU 87 on the development of crown gall in grape. Microbiology & Biotechnology. 2020; 2(49): 33 – 43 (in Ukrainian).
3. Maslovska NS, Limanska NV. Effect of *Lactobacillus plantarum* OHY 12 and *Agrobacterium tumefaciens* C58 on germination and some growth characteristics of tomato seedlings. Bulletin of Zaporizhzhia National University. 2016; 2: 129 – 135 (in Ukrainian).
 4. Seeds of agricultural plants. Methods of testing the quality. DSTU 4138-2002. Kyiv: Derzhzhozivstandart Ukraini: 170 (in Ukrainian).
 5. Tesliuk NI, Avramovych I. Improving of adaptation methods of *Pavlovnia Tomentosa* microclones to conditions in vivo with use of bacteria of *Bacillus megaterium* ONU 500. Microbiology & Biotechnology. 2019; 3: 92-102 (in Ukrainian).
 6. Andrade de PAM, Pimenta LS, Silveira Cardillo da BE, Marcon J, Silva da JA, Azevedo de JL, Luz Coelho Novembre da AD, Quecine MC. *Bacillus* sp. RZ2MS9 and the bacteria-free filtrate in the seed germination and growth of maize seedlings. Brazilian Journal of Agriculture. 2020; 95(2): 95 – 105.
 7. Akinrinlola RJ, Yuen GY, Drijber RA, Adesemoye AO. Evaluation of plant growth promotion and predictability of efficacy by *in vitro* physiological traits. International Journal of Microbiology. 2018; <http://doi.org/10.1155/2018/5686874>
 8. Bange MP, Hammer GL, Milroy SP, Rickert KG. Improving estimates of individual leaf area of sunflower. Agronomy Journal. 2000; 9 (4): 761-765.
 9. Bertani G. Studies on lysogenesis. I. The mode of phage liberation by lysogenic *Escherichia coli*. Journal of Bacteriology. 1951; 62: 293-300.
 10. Dahmani M, Desrut A, Moumen B, Verdon J, Mermouri L, Kacem M, Coutos-Thevenot P, Kaid-Harche M, Berges T, Vriet C. Unearthing the plant growth-promoting traits of *Bacillus megaterium* RmBm31, an endophytic bacterium isolated from root nodules of *Retama monosperma*. Front Plant Sci. 2020; 11: 124-131.
 11. Fang H, Kang J, Zhang D. Microbial production of vitamin B₁₂: a review and future perspectives. Microb. Cell Fact. 2017; 16: 15.
 12. Final Screening Assessment of *Bacillus megaterium* strain ATCC 14581. En14-314/2018E. Canada: Minister of the Environment and Climate Change. 2016: 35.
 13. Goswami G, Panda D, Samanta R, Boro R, Modi M, Bujarbaruah M, Barooah K. *Bacillus megaterium* adapts to acid stress condition through a network of genes: insight from a genome-wide transcriptome analysis. Scientific Reports. 2018; 8 (16105).
 14. O'Brien P. Biological control of plant diseases. Australas. Plant Pathol. 2017; 46: 293–304
 15. Ortíz-Castro R, Valencia-Cantero E, López-Bucio J. Plant growth promotion by *Bacillus megaterium* involves cytokinin signaling. Plant Signal Behav. 2008; 34: 263-265.
 16. Porcel R, Zamarreno A, Garcia-Mina J, Aroca R. Involvement of plant endogenous ABA in *Bacillus megaterium* PGPR activity in tomato plants. BMC Plant. Biol. 2014; 14: 36-43.



17. Tozlu E, Tekiner N, Kotany R, Ortucu S. Investigation on the biological control of *Alternaria alternata*. Indian J. Agric. Sci. 2018; 88: 1241–1248.
18. Tverdokhlib VS, Limanska NV, Krylova KD, Ivanytsia VO. Ability of *Lactobacillus plantarum* ONU 12 and *Bacillus megaterium* ONU 484 to stimulate growth of wheat seedlings and to form biofilms. Microbiology & Biotechnology. 2018; 4: 6-18.
19. Wang B, Zhang D, Chu S, Zhi Y, Liu X, Zhou P. Genomic analysis of *Bacillus megaterium* NCT-2 reveals its genetic basis for the bioremediation of secondary salinization soil. J. Genomics. 2020; 2: 1-11.
20. Wu Y, Cai P, Jing X, Niu X, Ji D, Ashry NM, Gao C, Huang Q. Soil biofilm formation enhances microbial community diversity and metabolic activity. Environment International. 2019; 132(105116): <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105116>.

Стаття надійшла до редакції 16.02..2021 р.



УДК 579.264

М.Д. Цулукидзе¹, З.Ш. Ломтатидзе¹, К.Х. Мамулашвили²

¹ Сухумский Государственный Университет, ул. Анны Политковской, 26, Тбилиси, 0186, Грузия, тел.: +995(32) 254 16 53, e-mail: tsulukidzemziya@gmail.com

² Институт Ботаники Государственного Университета Ильи, ул. Ботаническая, 1, Тбилиси, 0105, Грузия, тел.: +995(32) 272 08 10

АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ АКТИНОМИЦЕТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ СОЛОНЧАКОВЫХ ПОЧВ ВОЗЛЕ ОЗЕРА КУМИСИ (ГРУЗИЯ)

Цель. Исследование антагонистической активности актиномицетов, выделенных из почв, прилегающих к озеру Кумиси (Грузия). **Методы.** В работе были использованы 12 изолятов актиномицетов, выделенных из почв, прилегающих к озеру Кумиси. Антибиотическую активность актиномицетов определяли с использованием тест-штаммов: *Escherichia coli* K-12 (B-3254), *Bacillus subtilis* 26 D, *Xanthomonas campestris* B-1459, *Rhizobium radiobacter* C58, *Pectobacterium carotovorum* EC1 методом агаровых блоков. **Результаты.** Показано, что изоляты актиномицетов, выделенные из почв, прилегающих к озеру Кумиси, проявляют наиболее выраженное ингибирующее действие на рост тест-штаммов бактерий *Escherichia coli* B-3254, *Rhizobium radiobacter* C58 и *Xanthomonas campestris* B-1459. Самыми устойчивыми к исследуемым актиномицетам оказались бактерии *Bacillus subtilis* 26 D и *Pectobacterium carotovorum* EC1. **Выводы.** Изолят 30¹ актиномицетов оказывает выраженное антагонистическое действие на все использованные в работе тест-культуры и может быть перспективным для дальнейших исследований спектра и свойств его антибиотических соединений.

Ключевые слова: почва, актиномицеты, антагонистическая активность.

Почва – среда обитания многих видов микроорганизмов, так как в ней микроорганизмы находят благоприятные условия для своей жизнедеятельности [6]. Среди механизмов структурно-функциональной организации биocenozов огромное значение имеют взаимоотношения входящих в их состав организмов, обусловленные трофическими связями и изменениями условий среды [4].

Свойства и функции отдельных групп микроорганизмов в составе биocenоза в присутствии других микроорганизмов могут изменяться по сравнению с таковыми в чистых культурах. Одной из причин такого изменения может служить проявление ими антагонистической активности. Антагонизм является типом симбиотических отношений между организмами, в результате которых один из участников взаимодействий получает селективное преимущество в борьбе за выживание за счет конкурентных свойств: высокие



ростовые и адаптационные возможности, продукция антибиотических соединений [5]. Антагонистическая активность контролирует выживание многих микроорганизмов в природных ассоциациях [1].

Целью работы: исследование антагонистической активности актиномицетов, выделенных из почв, прилегающих к озеру Кумиси (Грузия).

Материалы и методы

В работе были использованы 12 изолятов актиномицетов, выделенных летом из почв, прилегающих к озеру Кумиси. Актиномицеты выращивали на синтетической среде Красильникова (СР-I) в чашке Петри в течение 14 суток [2, 3, 7]. После этого агаровые блоки помещали на предварительно засеянную суточной культурой тест-штамма поверхность мясо-пептонного агара в чашке Петри. Агаровые блоки накладывали ростом тест-культуры вверх на равном расстоянии один от другого и от краев чашки. На чашку Петри помещали 3 агаровых блока с культурами исследуемых актиномицетов. Чашки инкубировали в термостате при температурах оптимальных для роста тест-культур бактерий (30–37 °С). Учет диаметра зоны ингибирования роста проводили через 24 часа инкубации. Для каждого полученного изолята актиномицета исследования проводили в пятикратной повторности.

В качестве тест-культур использовались следующие микроорганизмы: *Escherichia coli* В-3254, *Bacillus subtilis* 26 D, *Xanthomonas campestris* В-1459, *Rhizobium radiobacter* С58, *Pectobacterium carotovorum* ЕС1.

Результаты представлены в виде значений среднего арифметического диаметра зон угнетения роста тест-бактерий вокруг агарового блока с процентом (М) и средней квадратической ошибкой средней величины (m). Достоверность различий между средними значениями зоны воздействия на тест-культуры определяли по критерию Стьюдента на уровне значимости не менее 95% ($p \leq 0,05$). Обработку данных осуществляли с использованием программы «Microsoft Office Excel 2010».

Результаты и их обсуждение

Результаты исследований антагонистической активности изолированных актиномицетов по отношению к тест-культурам представлены в таблице.

Показано, что самыми устойчивыми к полученным изолятам актиномицетов оказались бактерии *Bacillus subtilis* 26 D и *Pectobacterium carotovorum* ЕС1. Ингибирующее воздействие на них оказывали только актиномицеты штаммов 30¹ и 33. Наибольшую чувствительность проявили *Escherichia coli* В-3254, *Rhizobium radiobacter* С58 и *Xanthomonas campestris* В-1459.

Актиномицеты изолятов 6¹ и 12 проявляют антагонистическую активность относительно *Xanthomonas campestris* В-1459 (6,2±0,2 мм) и *Rhizobium radiobacter* С58 (1,6±0,3 мм). Изолят 6² ингибирует рост только *Xanthomonas campestris* В-1459 (6,2±0,2 мм). Изолят 14 проявляет антагонистические свойства относительно *Escherichia coli* В-3254 (1,2±0,2 мм) и *Xanthomonas campestris* В-1459 (8,2±0,2 мм). Изолят 18 ингибирует рост бактерий *Escherichia coli* В-3254 (3,6±0,2 мм) и *Rhizobium radiobacter* С58 (3,6±0,2 мм). Изолят 27 показал антагонистическую активность относительно *Escherichia*



Таблица

**Антагонистическая активность изолятов актиномицетов
на тест-штаммы бактерий**

Table

Antagonistic activity of actinomycetes' isolates on test bacterial strains

Изолят	Тест-штаммы бактерий				
	<i>Escherichia coli</i> B-3254	<i>Xanthomonas campestris</i> B-1459	<i>Bacillus subtilis</i> 26 D	<i>Rhizobium radiobacter</i> C58	<i>Pectobacterium carotovorum</i> EC1
1	0	0	0	0	0
6 ¹	0	6,2±0,2*	0	1,6±0,3	0
6 ²	0	6,2±0,2	0	0	0
12	0	6,2±0,2	0	1,6±0,3	0
13	6,2±0,2	0	0	0	0
14	1,2±0,2	8,2±0,2	0	0	0
18	3,6±0,2	0	0	3,6±0,2	0
27	1,6±0,3	0	0	6,2±0,2	0
28	0	0	0	0	0
30 ¹	6,2±0,2	9,6±0,2	6,2±0,2	8,2±0,2	8,2±0,2
33	3,6 ±0,2	0	6,0±0,4	6,0±0,4	3,6 ±0,2
34 ²	0	0	0	0	0

Примечание: * – диаметр зоны ингибирования роста, мм
Note: * – the diameter of growth zone of inhibition, mm

coli B-3254 (1,6±0,3 мм) и *Rhizobium radiobacter* C58 (6,2±0,2 мм). Изолят 30¹ подавлял рост всех исследованных тест-штаммов бактерий *Escherichia coli* B-3254, *Bacillus subtilis* 26 D (6,2±0,2 мм), *Rhizobium radiobacter* C58 и *Pectobacterium carotovorum* EC1 (8,2±0,2 мм). Наибольшая активность этого изолята обнаружена против *Xanthomonas campestris* B-1459 – 9,6±0,2 мм. Изолят 33 проявил антагонистическую активность против бактерий четырех тест-штаммов: *Escherichia coli* B-3254 и *Pectobacterium carotovorum* EC1 (3,6±0,2 мм), а также *Bacillus subtilis* 26 D и *Rhizobium radiobacter* C58 (6,0±0,4 мм). Штамм 30¹ проявлял наибольшую антагонистическую активность в отношении тест-культур и, предположительно, обладает большим набором антибиотических веществ, чем другие штаммы.

Исходя из вышеизложенного, можно сделать вывод, что изоляты актиномицетов, выделенные из почв, прилегающих к озеру Кумиси проявляют наиболее выраженное ингибирующее действие на рост тест-штаммов бактерий *Escherichia coli* B-3254, *Rhizobium radiobacter* C58 и *Xanthomonas campestris* B-1459. Бактерии изолята 30¹ воздействует на все представленные тест-культуры и могут быть перспективным для дальнейших исследований спектра и свойств его антибиотических соединений.



М.Д. Цулукідзе¹, З.Ш. Ломтагідзе¹, К.Х. Мамулашвілі²

¹ Сухумський Державний Університет, вул. Анни Політковської, 26, Тбілісі, 0186, Грузія, тел.: +995(32) 254 16 53, e-mail: tsulukidzemziya@gmail.com

² Інститут Ботаніки Державного Університету Ілії, вул. Ботанічна, 1, Тбілісі, 0105, Грузія, тел.: +995(32) 272 08 10

АНТАГОНІСТИЧНА АКТИВНІСТЬ АКТИНОМІЦЕТІВ, ВИДІЛЕНИХ З СОЛОНЧАКОВИХ ГРУНТІВ БІЛЯ ОЗЕРА КУМІСІ (ГРУЗІЯ)

Мета. Дослідження антагоністичної активності актиноміцетів, виділених з ґрунтів, розташованих навколо озера Кумісі (Грузія). **Методи.** В роботі використано 12 ізолятів актиноміцетів, виділених з ґрунтів, розташованих навколо озера Кумісі. Антибіотичну активність актиноміцетів визначали з використанням тест-штамів: *Escherichia coli* K-12 (B-3254), *Bacillus subtilis* 26 D, *Xanthomonas campestris* B-1459, *Rhizobium radiobacter* C58, *Pectobacterium carotovorum* EC1 методом агарових блоків. **Результати.** Показано, що ізоляти актиноміцетів, виділені з ґрунтів, розташованих навколо озера Кумісі, виявляють найбільш виражену пригнічувальну дію на ріст тест-штамів бактерій *Escherichia coli* B-3254, *Rhizobium radiobacter* C58 і *Xanthomonas campestris* B-1459. Найчутливішими до досліджуваних актиноміцетів виявилися бактерії *Bacillus subtilis* 26 D і *Pectobacterium carotovorum* EC1. **Висновки.** Ізолят 30¹ актиноміцетів виявляє виражену антагоністичну дію на всі застосовані в роботі тест-культури і може бути перспективним для подальших досліджень спектру і властивостей його антибіотичних сполук.

Ключові слова: ґрунт, актиноміцети, антагоністична активність

M.D. Tsulukidze¹, Z.Sh. Lomtadze¹, Q.H. Mamulashvili²

¹ Sukhumi State University, 26 Ana Politkovskaia Street, 0186, Tbilisi, Georgia, e-mail: tsulukidzemziya@gmail.com

² Botanical Institute of Ilia State University, 1 Botanical Street. 0105, Tbilisi, Georgia

ANTAGONISTIC ACTIVITY OF ACTINOMYCETES ISOLATED FROM SALINE SOILS NEAR WITH KUMISI LAKE (GEORGIA)

Summary

Aim. To study the antagonistic activity of actinomycetes isolated from soils adjacent to Kumisi Lake (Georgia). **Methods.** It was used 12 samples of actinomycetes isolated from the soils adjacent to Kumisi Lake. The antibiotic activity of actinomycetes was determined using test strains: *Escherichia coli* K-12 (B-3254), *Bacillus subtilis* 26 D, *Xanthomonas campestris* B-1459, *Rhizobium radiobacter* C58, *Pectobacterium carotovorum* EC1 by the method of agar blocks. **Results.** It was revealed that actinomycete samples isolated from soils adjacent to Lake Kumisi shown the most significant inhibitory effect on test strains: *Escherichia coli* B-3254, *Rhizobium radiobacter* C58 and *Xanthomonas campestris* B-1459. The most resistant test-strains, to the studied actinomycetes, were *Bacillus subtilis* 26 D and *Pectobacterium carotovorum* EC1. **Conclusion.** Isolated strain 30¹ of ac-



tinomycetes shown a significant antagonistic effect on all test strains and could be potential for further studies spectrum and properties of antibiotic compounds.

Key words: soil, actinomycetes, antagonistic activity.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бухарин О.В., Лобакова Е.С., Немцева Н.В., Черкасов С.В. Ассоциативный симбиоз. – Екатеринбург: УрО РАН, 2007. – 264 с.
2. Гаузе Г.Ф., Преображенская Т.П., Сवेशникова М.А., Терехова Л.П., Максимова Т.С. Определитель актиномицетов. – М.: Наука, 1983. – 248 с.
3. Звягинцев Д. Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии. – М.: Изд-во МГУ, 1991. – 304 с.
4. Звягинцев Д.Г., Бабьева И.П., Зенова Г.М. Биология почв: учебник –3-е изд., испр. и доп. –М.: Изд-во МГУ, 2005. – 445.
5. Семёнов А.В. Характеристика антагонистической активности бактерий при межмикробных взаимодействиях: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Оренбург, 2009. – 22 с.
6. Семенова С.А., Галиуллин А.К. Изучение антагонизма микроорганизмов к патогенным микробам в бинарных культурах почвенных моделей // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана.– 2012. – Т. 211. – С. 138–142.
7. Pandey A., Ali I., Butola K.S., Charrerji T., Singh V. Isolation and characterization of Actinomycetes from soil and evaluation of antibacterial activities of Actinomycetes against pathogens // Int. J. Appl. Biol. Pharm. Technol. – 2011. – 2 (4) : 384–392.

REFERENCES

1. Buharin OV, Lobakova ES., Nemtseva NV., Cherkasov SV. Associative symbiosis – Ekaterinburg: UrO RAN, 2007: 264 [in Russian].
2. Gauze GF., Preobrazhenskaja TP., Sveshnikova MA., Terehova LP., Maksimova TS. Manual of actinomycetes. – M.: Nauka, 1983:248 [in Russian].
3. Zvyaginцев DG. Methods of soil microbiology and biochemistry. – Moscow: Izd-vo MGU, 1991: 304 [in Russian].
4. Zvyaginцев DG., Babieva IP., Zenova GM. Soil biology: textbook. – Moscow: Izd-vo MGU, 2005: 445 [in Russian].
5. Semenov AV.Characterization of the antagonistic activity of bacteria during intermicrobial interactions, Cand. biol. sci. diss. Abstr. Orenburg, 2009, 22 p. [in Russian].
6. Semenova SA., Galiullin AK. The antagonism of microorganisms to pathogenic microbes in binary cultures of soil models. Uchenye zapiski kazanskoj gosudarstvennoj akademii veterinarnoj mediciny im. N.Je. Baumana. 2012; 211: 138–142 [in Russian].
7. Pandey A., Ali I., Butola K.S., Charrerji T., Singh V.Isolation and characterization of Actinomycetes from soil and evaluation of antibacterial activities of Actinomycetes against pathogens. Int. J. Appl. Biol. Pharm. Technol. 2011; 2 (4): 384 – 392.

Стаття надійшла до редакції 22.09.2020 р.



**АЛФАВІТНИЙ ПОКАЖЧИК СТАТЕЙ,
ОПУБЛІКОВАНИХ У ЖУРНАЛІ
«МІКРОБІОЛОГІЯ І БІОТЕХНОЛГІЯ»
У 2020 РОЦІ**

Автори	№ вип.	№ стор.
<i>Басюл О.В. див. Васильєва Н.Ю.</i>	2	57
<i>Васильєва Н.Ю. див. Іваниця В.О.</i>	3	46
<i>Васильєва Н.Ю. див. Страшнова І.В.</i>	1	6
<i>Васильєва Н.Ю., Страшнова І.В., Басюл О.В., Ковтун І.О., Іваниця В.О.</i> Стійкість до антибіотиків молочнокислих коків, ізолюваних з чорноморських водоростей і мідій	2	57
<i>Галкін Б.М., Філіпова Т.О.</i> Біотрансформація ксенобіотиків мікробіотою шлунково-кишкового тракту та її наслідки для людини	2	6
<i>Горшкова О.Г.</i> Оцінка патогенних властивостей бактерій-деструкторів важкоокиснювальних органічних сполук	1	60
<i>Декіна С.С., Романовська І.І., Севастьянов О.В., Мальцев Г.В.</i> Аналіз компонентів таблеткових сумішей з імобілізованим лізоцимом	1	32
<i>Дуган О.М., див. Ямборко Н.А.</i>	2	24
<i>Зінченко О.Ю., Філіпова Т.О., Клочко Л.Г.</i> Оцінка потенційної протівірусної активності похідних N-бензімідазол-сульфонаміду на моделі «фаг-бактерія»	1	48
<i>Іваниця В.О. див. Васильєва Н.Ю.</i>	2	57
<i>Іваниця В.О. див. Титаренко Н.В.</i>	3	6
<i>Іваниця В.О. див. Штеніков М.Д.</i>	1	20
<i>Іваниця В.О. див. Коротаєва Н.В.</i>	2	33
<i>Іваниця В.О., Штеніков М.Д., Остапчук А.М., Васильєва Н.Ю., Калиновський Й.</i> Сіквенс геному <i>Bacillus pumilus</i> ONU 554, ізолюваного з глибоководних донних відкладень Чорного моря	3	46
<i>Іутинська Г.О. див. Ямборко Н.А.</i>	2	24
<i>Калиновський Й. див. Іваниця В.О.</i>	3	46
<i>Клочко Л.Г. див. Зінченко О.Ю.</i>	1	48
<i>Ковтун І.О. див. Васильєва Н.Ю.</i>	2	57



Ковтун І.О. див. Страшнова І.В.	1	79
Корнійчук О.П. див. Лаврик Г.С.	1	69
Коротаєва Н.В. див. Страшнова І.В.	1	79
Коротаєва Н.В., Ліманська Н.В., Страшнова І.В., Іваниця В.О. Вплив бактерій <i>Lactobacillus plantarum</i> ONU87 на розвиток бактеріального раку на рослинах винограду	2	33
Лаврик Г.С., Корнійчук О.П. Антимікробна активність лактобацил відносно стафілококів, виділених з біоплівки хворих <i>Acne vulgaris</i>	1	69
Ліманська Н.В. див. Коротаєва Н.В.	2	33
Максименко Л.О. Морфолого-структурні, кілерні та серологічні властивості макромолекулярних бактеріоцинів <i>Pectobacterium carotovorum subsp. carotovorum</i> та їх спорідненість з бактеріофагом ZF40	2	44
Мальцев Г.В. див. Декіна С.С.	1	32
Остапчук А.М. див. Іваниця В.О.	3	46
Остапчук А.М. див. Штеніков М.Д.	1	20
Романовська І.І. див. Шестеренко Є.А.	3	32
Романовська І.І. див. Декіна С.С.	1	32
Севастьянов О.В. див. Декіна С.С.	1	32
Страшнова І.В. див. Коротаєва Н.В.	2	33
Страшнова І.В. див. Васильєва Н.Ю.	2	57
Страшнова І.В., Ковтун І.О., Коротаєва Н.В. Характеристика молочнокислих бактерій губок Чорного моря	1	79
Страшнова І.В., Ямборко Г.В., Васильєва Н.Ю. Біологічна активність лактобацил різних екологічних ніш південного регіону України	1	6
Теслюк Н.І. див. Титаренко Н.В.	3	6
Теслюк Н.Л. див. Титаренко Н.В.	2	72
Титаренко Н.В., Теслюк Н.І., Іваниця В.О. Перспективи використання бактерій у культурі клітин та тканин рослин	3	6
Титаренко Н.В., Теслюк Н.Л. Удосконалення процесів мікроклонального розмноження Ожини звичайної <i>Rubus caesius</i> L. сорту Торнфрі	2	72



<i>Фарфоломєєва Д.О. див. Ямборко Н.А.</i>	2	24
<i>Філіпова Т.О див. Галкін Б.М.</i>	2	6
<i>Філіпова Т.О. див. Зінченко О.Ю.</i>	1	48
<i>Шестеренко Є.А., Романовська І.І.</i> Отримання S-енантіомерів естерів 3-гідрокси-1,4-бенздіазепін-2-онів біотехнологічним шляхом	3	32
<i>Штеніков М.Д. див. Іваниця В.О.</i>	3	46
<i>Штеніков М.Д., Остапчук А.М., Іваниця В.О.</i> Склад жирних кислот, амінокислот та моноцукридів бактерій роду <i>Bacillus</i> , виділених з донних відкладень Чорного моря	1	20
<i>Ямборко Г.В. див. Страшнова І.В.</i>	1	6
<i>Ямборко Н.А., Іутинська Г.О., Дуган О.М., Фарфоломєєва Д.О.</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ІМВ В-7288 як перспективний деструктор комплексу ізомерів гексахлорциклогексану в аеробних умовах	2	24



ІНФОРМАЦІЙНЕ ПОВІДОМЛЕННЯ ДЛЯ АВТОРІВ

Науковий журнал «Мікробіологія і біотехнологія» запрошує Вас до співпраці з питань висвітлення результатів наукових досліджень у галузі мікробіології і біотехнології.

Програмні цілі видання: висвітлення результатів наукових досліджень у галузі мікробіології та біотехнології, об'єктами яких є прокаріотні (бактерії, архебактерії), еукаріотні (мікроскопічні гриби, мікроскопічні водорості, найпростіші) мікроорганізми та віруси.

Тематична спрямованість: мікробіологія, вірусологія, імунологія, молекулярна біотехнологія, створення та селекція нових штамів мікроорганізмів, мікробні препарати, антимікробні засоби, біосенсори, діагностичними, мікробні технології в сільському господарстві, мікробні технології у харчовій промисловості; захист та оздоровлення навколишнього середовища; отримання енергоносіїв та нових матеріалів тощо.

Мова (мови) видання: українська, російська, англійська.

Рубрики журналу: «Оглядів та теоретичні статті», «Експериментальні праці», «Дискусії», «Короткі повідомлення», «Хроніка наукового життя», «Сторінки історії», «Ювілеї і дати», «Рецензії», «Книжкова полиця».

До статті додається рекомендація установ, організацій, у яких виконувалася робота, за підписом керівника та письмова згода керівників установ, організацій, де працюють автори.

Вимоги до оформлення статей, які подаються до редакції журналу:

Стаття має відповідати тематичному спрямуванню журналу і, відповідно до п. 3 Постанови ВАК України від 15.01.2003 р. №7-5/1, включати такі структурні елементи: постановка проблеми у загальному вигляді та її зв'язок із важливими науковими чи практичними завданнями; аналіз останніх досліджень і публікацій, в яких започатковано вирішення даної проблеми і на які опирається автор; виокремлення раніше не вирішених частин загальної проблеми, котрим присвячується стаття; формулювання мети статті (постановка завдання); виклад основного матеріалу дослідження з повним обґрунтуванням наукових результатів; висновки з даного дослідження і перспективи подальших пошуків у даному напрямі.

До друку приймаються рукописи (2 примірники) обсягом до 18 сторінок (з урахуванням рисунків, таблиць і підписів до них, анотації, реферату, списку літератури), огляди – до 30 стор., рецензії – до 3 стор., короткі повідомлення – до 2 стор. Відхилені рукописи не повертаються.

До рукопису додається електронний варіант рукопису шрифт Times New Roman, кегль 14, інтервал автоматичний, не більше 30 рядків на сторінці, поля по 2 см).

При написанні статті необхідно дотримуватися такого плану:

- індекс УДК у лівому верхньому кутку першого аркуша;
- Реферат мовою оригіналу статті:
 - назва статті великими літерами;
 - прізвища та ініціали автора (авторів);



- місце роботи кожного автора; повна поштова адреса установи (за міжнародними стандартами); телефон, електронна адреса (e-mail);
- Прізвища авторів та назви установ, де вони працюють, позначають одним і тим самим цифровим індексом (вгорі);
- реферат із зазначенням новизни дослідження (200–250 слів);
- ключові слова (не більше п'яти).

- Реферат англійською мовою:

- назва статті великими літерами;
- прізвища та ініціали автора (авторів), транслітерація;
- місце роботи кожного автора; повна поштова адреса установи (за міжнародними стандартами); телефон, електронна адреса (e-mail);
- Прізвища авторів та назви установ, де вони працюють, позначають одним і тим самим цифровим індексом (вгорі);
- реферат із зазначенням новизни дослідження (200–250 слів);
- ключові слова (не більше п'яти);

- Повний текст статті мовою оригіналу.

Текст статті має включати такі складові:

вступ; матеріали і методи; результати та їх обговорення; висновки; список використаної літератури мовою оригіналу цитованої статті, список використаної літератури (Referens) англійською мовою (за вимоги міжнародних наукометричних баз).

До кожного примірника статті додається реферат мовою оригіналу статті (українською/російською) та англійською мовою.

Враховуючи, що реферат відображає основний зміст статті і використовується в інформаційних, в тому числі автоматизованих системах для пошуку документів та інформації, необхідно дотримуватися певних вимог при його написанні:

- реферат має бути інформативним (не містити зайвих слів);
- структурованим, тобто містити розділи: мета; методи, що використані в роботі та/або методологія проведення досліджень; результати та сфера їх застосування; висновки;
- англійська версія реферату має бути написана якісною англійською мовою (за потреби доцільно користуватися послугами кваліфікованих спеціалістів-лінгвістів з подальшим науковим редагуванням тексту автором), з використанням термінології, яка використовується в англійськомовних медикобіологічних журналах, уникати використання термінів, які є прямою українською/російською калькою;
- компактним (200–250 слів);
- ключові слова (не більше 5-ти) розміщуються з абзацу після реферату.

У кінці тексту статті указати прізвища, імена та по-батькові усіх авторів, поштову адресу, телефон, факс, e-mail (для кореспонденції).

Стаття має бути підписана автором (усіма авторами) з зазначенням дати на останній сторінці.



Автори несуть повну відповідальність за бездоганне мовне оформлення тексту, особливо за правильну наукову термінологію (її слід звіряти з фаховими термінологічними словниками).

Латинські біологічні назви видів, родів подаються курсивом латиницею.

Якщо часто повторювані у тексті словосполучення автор вважає за потрібне скоротити, то аббревіатури за першого вживання обумовлюють у дужках. Наприклад: полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР).

Посилання на літературу подаються у тексті статті, цифрами у квадратних дужках, згідно з порядковим номером у списку літератури.

Розділ «Матеріали і методи»:

- Методи дослідження та схеми експерименту мають бути представлені так, щоб їх можна було відтворити.
- Для використаних реактивів та матеріалів вказати назву компанії та країни-виробника.
- Одиниці вимірювання вказати в системі СІ.
- Концентрацію розчинів представляти в М, мМ, мкМ (молярна концентрація).
- Молекулярку масу (Мм) – Да (дальтони) або кДа.
- При використанні ферментів навести їх номенклатурну систематичну назву та шифр.
- Активність ферментів виражають в мкмолях використаного субстрату або утвореного продукту за 1 хв на 1 мг протеїну або використати стандартну одиницю активності U (IU) і катал (скорочено кат), питома активність ензиму виражається в ммоль/хв на 1 мг протеїну або в од.акт/мг, кат/кг.
- Вказати умови проведення ферментативної реакції (температура, рН, концентрація субстрату).
- Вказати використані методи статистичного аналізу, програму статистики.

Таблиці мають бути компактними, мати порядковий номер; графи, колонки мають бути точно визначеними логічно і графічно. Матеріал таблиць (як і рисунків) має бути зрозумілим і не дублювати текст статті. Цифровий матеріал таблиць слід опрацювати статистично.

Рисунки виконуються у вигляді чітких креслень (за допомогою комп'ютерного графічного редактора у форматі Word, TIF, JPG). Осі координат на графіках мають бути позначені. Рисунки розміщуються у тексті статті.

До рисунків мають бути підписи не згруповані з ним і не вставлені в об'єкт рисунка.

Позначення на рисунку мають бути інтегровані в нього, тобто копіюватися разом з рисунком, а не окремими частинами.

Всі ілюстрації мають бути розміщені в файлі рукопису, також обов'язково додані до електронного варіанту у вигляді файлів формату JPEG.

Підписи, а також пояснення, примітки до таблиць та рисунків подаються мовою оригіналу та англійською мовою.



Розділ «Результати досліджень та їх обговорення» має бути написаний коротко: необхідно чітко викласти виявлені ефекти, показати причинно-результативні зв'язки між ними, порівняти отриману інформацію з даними літератури, дати відповідь на питання, поставлені у вступі.

Список використаної літератури

1. Список використаної літератури в оригіналі цитованої статті складається за алфавітно-хронологічним порядком (спочатку кирилиця, потім латиниця). Якщо перший автор у декількох працях один і той самий, то праці розміщуються у хронологічному порядку. Список посилань треба пронумерувати, а у тексті посилатися на відповідний номер джерела літератури (у квадратних дужках).

У посиланні пишуть прізвища усіх авторів. В експериментальних працях має бути не більше 15 посилань літературних джерел.

Патентні документи розміщуються у кінці списку посилань.

2. Список використаної літератури англійською мовою (Referens), за вимогами міжнародних наукометричних баз.

Стиль шрифту – NLM (National Library of Medicine).

Прізвища, імена та по-батькові авторів, назву цитованого видання (журнал, монографія, збірник тощо) наводять послуговуючись безкоштовними сайтами (<http://www.easybib.com/>, <http://www.bibme.org/>, <http://www.sourceaid.com/>, <https://www.citethisforme.com/>), що дозволяють здійснити переклад з використанням однієї з міжнародних систем транслітерації.

Назви статей наводять англійською мовою.

Порядок подання посилань Referens (список 2) має повністю співпадати зі списком використаної літератури (список 1).

Зразки посилання літератури

Вимоги до оформлення бібліографічних посилань мовою оригіналу (в тому числі цитовані англомовні джерела)

На книги

Векірчик К. М. Мікробіологія з основами вірусології. – К.: Либідь, 2001. – 312 с.

Патика В. П., Тихонович І. А. Мікроорганізми і альтернативне землеробство. – К.: Урожай, 1993. – 176 с.

Промышленная микробиология / Под ред. Н. С. Егорова. – М.: Высш. шк., 1989. – 688 с.

Методы общей бактериологии: В 3 т. / Под ред. Ф. Герхардта. – М.: Мир, 1983. – Т. 1. – 536 с.; Т. 2. – 470 с.; – Т. 3. – 263 с.

Шлегель Г. Общая микробиология. – М.: Мир, 1987. – 566 с.

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. – 9th ed. – Baltimore; London, 1986. – Vol. 2. – 1599 p.

Rogers H., Perkins H., Ward I. Microbial cell walls and membranes. – London; New York: Fcfd. Press, 1980. – 364 p.

На журнальні статті

Подгорский В. С. Систематическое положение, экологические аспекты и физиолого-биохимические особенности микроорганизмов, имеющих промышленное значение // *Мікробіол. журн.* – 1998. – 60, № 5. – С. 27–42.



Андреюк Е. И., Козлова И. А., Рожанская А. М. Микробиологическая коррозия строительных материалов // Биоповреждения в строительстве. – М.: Стройиздат, 1984. – С. 209–221.

Глоба Л. І., Подорван Н. І. Біотехнологія очищення забрудненої природної води // Вісник ОНУ. – 2001. – т. 6, в. 4. – С. 65 – 67.

Eaton R. W., Ribbons D. V. Utilization of phtalate esters by micrococci // Arch. Microbiol. – 1982. – 132, № 2. – P. 185–188.

На тези доповідей

Мацелюх Б. П. Розробка біотехнології одержання ландоміцину Е // Міжнародна наук. конф. «Мікробні біотехнології» (Одеса, вересень, 2006 р.): тез. доп. – О.: «Астропринт», 2006. – С. 17.

На депоновані наукові роботи

1. Лопатина Н. В., Терентьев А. Н., Наталич Л. А., Янгулов Ш. У. Оптимизация питательной среды для культивирования вакцинного штамма чумного микроба с применением метода математического планирования эксперимента / Редкол. «Микробиол. журн.» – К., 1991. – 7 с. – Деп. в ВИНТИ 03.01.92, № 1-В92.

На стандарти

ГОСТ 20264.4-89. Препараты ферментные. Методы определения амилалитической активности. – М.: Изд-во стандартов, 1989. – 17 с.

На автореферати дисертацій

Онищенко О. М. Таксономія і антибіотична активність *Alteromonas*-подібних бактерій Чорного моря: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. К., 2003. – 21 с.

Зразки посилань літератури в романській абетці

References

Стиль шрифту для англomовного варіанту списку джерел – NLM (National Library of Medicine), зразок:

Author AA, Author BB, Author CC. Title of article. Title of Journal. 2005; 10 (2):49–53.

Статті в журналах:

DeLong EF, Karl DM. Genomic perspectives in microbial oceanography. Nature. 2015;(437):336–342.

Klochov VK, Kavok NS, Malyukin YuV. The effect of specific interaction of nanocrystals GdYVO₄:Eu³⁺ with cell nuclei. Dop Nats Akad Nauk Ukr. 2010;(10):81–86.

Книги:

Best RJ. Tomato spotted wilt virus. In: Advances Virus Res Eds Smith KM, Lauffer MA. Academic Press, New York, 1968:65–146.

Speissel B, Beahrs OH, Hermanek P, Hutter RVP, Scheibe O. TNM atlas: illustrated guide to the TNM. pTNM classification of malignant tumours. Berlin New York: Springer-Verlag. 1989. 12.

Sastry SK. Seed-borne plant virus diseases. India: Springer, 2013. 327 p.

Матеріали з'їздів, конференцій:

Dikova B, Djourmanski A, Lambev H. Establishment of economically important viruses on *Echinacea purpurea* and their influence on the yield. In: Proceedings of the conference «Innovative aspects to coneflower study». Ed. Pospelov S. Poltava: Dyvosvit, 2013:36–45.



Увага: передрук, усі види копіювання та відтворення матеріалів,
що надруковані у журналі «Мікробіологія і біотехнологія»,
можливі лише за умови посилання на джерело інформації
та з дозволу редакційної колегії.
Усі права захищені згідно законодавства України.

Верстка С. О. Остапенко

Підписано до друку 12.04.2021 р. Формат 70x100/16.
Ум.-друк. арк. 5,53. Тираж 100 пр.
Зам. № 2244.

Видавець та виготовлювач
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4215 від 22.11.2011.
65082, м. Одеса, вул. Єлісаветинська, 12, Україна
Тел.: +38 (048) 723 28 39
e-mail: druk@onu.edu.ua