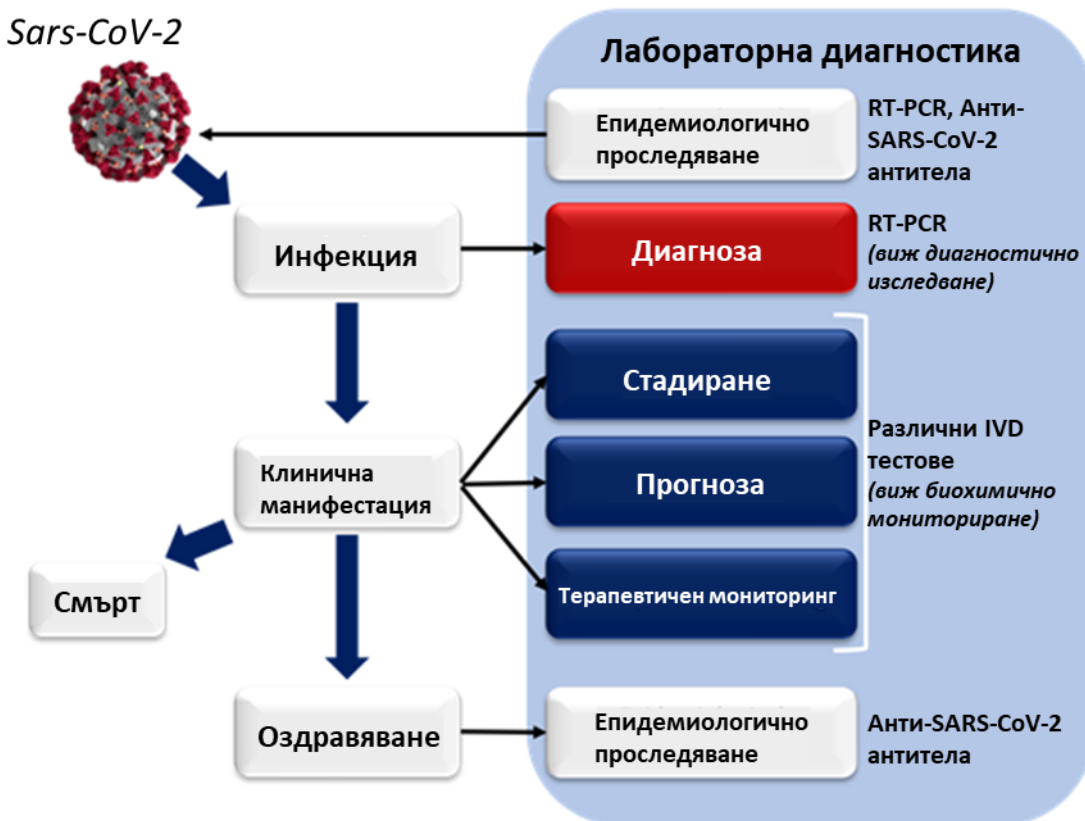


COVID-19 е глобална пандемия, възникнала вследствие разпространението на тежък остър респираторен синдром коронавирус-2 (SARS-CoV-2). С непрекъснатото нарастване на броя на инфектираните в глобален план и повишаващия се натиск върху здравните системи става ясно, че клиничната лаборатория ще играе ключова роля в тази криза, осигурявайки скрининг, диагноза, терапевтичен мониторинг, както и епидемиологично проследяване във възстановителния период. Това ръководство има за цел да систематизира относително достъпна информация относно лабораторния скрининг, протоколите за изследване, диагнозата и други общи насоки по отношение на COVID-19 за лабораторни специалисти.

Критичната роля на лабораторната медицина при COVID-19

(Модифицирана схема от Lippi et al, PMID: 32191623)



Скрининг на пациенти:

Съгласно насоките на Световната Здравна Организация (СЗО) за Глобално проследяване на COVID-19, причинено от COVID-19 вирусна инфекция, са налице два основни фактора, които трябва да се вземат предвид при провеждането на скрининг за COVID-19: епидемиологична история и клинична манифестация.

1. **Епидемиологична история:** в рамката на 14 дни от началото на клиничната изява пациентът е с история за пътуване или пребиваване в област с разпространение в общността или е бил в контакт с вероятен или потвърден случай.
2. **Клинична манифестация:** остро респираторно заболяване, характеризиращо се с треска и най-малко един респираторен симптом, напр. кашлица или затруднено дишане.

Суспектните случаи се дефинират като:

- Пациент с остро респираторно заболяване И епидемиологична история

ИЛИ

- Пациент с остро респираторно заболяване (характеризиращо се с гореописаните И изискващ хоспитализация) И липса на алтернативна диагноза, която напълно да обяснява клиничната симптоматика

Диагностично изследване: аналитични и клинични аспекти

При потвърждаване на суспектен случай пробите трябва да се вземат и изследват бързо. Временните указания на центровете за контрол и превенция на заболяванията (CDC) за пробовземане, пробоподготовка и изследване на клинични проби за COVID-19 препоръчват взимането на проба от горните дихателни пътища за първична диагностика. За смив-базирано изследване могат да бъдат взети следните проби: назофарингеална проба (препоръчително), орофарингеална проба, назална проба от средната назална раковина или ноздрите. Пробите от долните отдели на дихателните пътища също се препоръчват от CDC, в случай че взимането им е възможно.

Тестове с амплификация на нуклеинови киселини (NAAT)

Полимеразната верижна реакция с обратна транскриптаза (rRT-PCR) понастоящем е златният стандарт за диагностициране на суспектни за COVID-19 случаи. rRT-PCR е тест, включващ амплификация на нуклеинови киселини (NAAT), който детектира уникални за причинителя на COVID-19 (SARS-CoV-2) вирусни последователности в пробите, взети от дихателните пътища. Вирусните гени, които понастоящем са основен таргет са N, E, S и RdRP (СЗО). Валидираният процес по детекция на SARS-CoV-2 беше публикуван наскоро от Corman и сътрудници (PMID: 31992387), както следва: (а) Първа линия скрининг: E ген, (б) Потвърдителен скрининг: RdRP ген, (с) Допълнителен потвърдителен скрининг: N ген.

В следващата таблица са представени критериите, съгласно които един случай се счита за лабораторно потвърден с валидиран NAAT анализ, според СЗО:

Място на възникване	Потвърдителни критерии
Област с известна вирусна циркулация на COVID-19	<ul style="list-style-type: none"> • Положителен резултат от NAAT за единичен дискриминиращ таргет в генома на SARS-CoV-2
Област с неизвестна вирусна циркулация на COVID-19	<ul style="list-style-type: none"> • Положителен резултат за най-малко два различни таргета, единият от които е специфичен за SARS-CoV-2 вируса (препоръчително) • Положителен резултат от NAAT за бета-коронавирус и идентификация на SARS-CoV-2 вирус посредством частично или пълно геномно секвениране (забележка: таргетът на секвенирането трябва да е по-голям или различен от ампликона, използван за теста)

В някои случаи може да се получи отрицателен резултат при суспектни с висока вероятност за инфекция с COVID-19. Ако отрицателният резултат е бил получен само въз основа на изследване на проба от горните дихателни пътища, следва да се вземе материал за изследване и от долните отдели на респираторния тракт.

Достъпните към момента диагностични тестове

Към настоящия момент са разработени и оптимизирани няколко лабораторни и комерсиални теста. Препратките към достъпните протоколи могат да бъдат открити на страницата на СЗО:

[China CDC Primers and probes for detection 2019-nCoV \(24 January 2020\)](#)

[Diagnostic detection of Wuhan coronavirus 2019 by real-time RT-PCR – Charité, Berlin Germany \(17 January 2020\)](#)

[Detection of 2019 novel coronavirus \(2019-nCoV\) in suspected human cases by RT-PCR – Hong Kong University \(23 January 2020\)](#)

[PCR and sequencing protocol for 2019-nCoV - Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Thailand \(Updated 28 January 2020\)](#)

[PCR and sequencing protocols for 2019-nCoV- National Institute of Infectious Diseases Japan \(24 January 2020\)](#)

[US CDC Real-Time RT-PCR Panel for Detection 2019-Novel Coronavirus \(28 January 2020\)](#)

[US CDC panel primer and probes– U.S. CDC, USA \(28 January 2020\)](#)

[Real-time RT-PCR assays for the detection of SARS-CoV-2 Institut Pasteur, Paris \(2 March 2020\)](#)

Съществуват редица преданалитични и аналитични проблеми, които биха могли да окажат влияние върху изследването на инфекция, причинена от COVID-19. Някои преданалитични грешки включват: неправилно пробовземане, обработка на материала, транспорт и пригодност на смива, взимане на неподходящ материал, интерфериращи вещества и контаминация на пробата. Честа аналитична грешка е изследването извън диагностичния прозорец в

допълнение към активна вирусна рекомбинация и некомпетентно валидирани тестове. (Lippi et al, PMID: 31992387).

Насоки за биобезопасност в клиничната лаборатория

От изключителна важност е клиничните лаборатории да следват правилните насоки за биобезопасност, когато обработват проби на пациенти, суспектни за COVID-19. Временните указания на СЗО по отношение на лабораторната биобезопасност, свързана с COVID-19, бяха обновени на 19.03.2020. Основните акценти включват:

- Всички процедури трябва да се извършват в съответствие с оценката на риска и само от персонал с доказани способности, при строго спазване на всички протоколи по всяко време
- Първоначалната обработка (преди обезопасяването) на пробите трябва да се извършва в шкаф с валидирана биобезопасност или първично ограничително устройство
- Диагностичният лабораторен процес, свързан с недопускане на разпространение (напр. секвениране, амплификация на нуклеинови киселини [NAAT]) трябва да се провежда в съоръжение, в което процедурите следват протокола на СЗО за биобезопасност ниво 2
- Работата, свързана с разпространение (напр. вирусна култура, тестове за изолиране или неутрализиране) трябва да бъде извършвана в херметична лаборатория с въздушен поток, насочен навътре (биобезопасност ниво 3 по СЗО)
- Трябва да се използват подходящи дезинфектанти с доказана активност срещу капсулирани вируси (напр. хипохлорит [белина], алкохол, водороден пероксид, кватернерни амониеви съединения и фенолови съединения)
- Пациентските проби от суспектни или потвърдени случаи трябва да бъдат транспортирани като UN2273, „Биологична субстанция категория Б“

Биохимично мониториране на пациенти с COVID-19:

Ключовата роля на клиничните лаборатории в условията на тази пандемия се простира отвъд етиологичната диагноза на COVID-19. Биохимичното мониториране при пациенти с COVID-19 чрез *in vitro* диагностични тестове е критично за оценка на тежестта и прогресията на заболяването, а също и при мониториране на терапевтичните интервенции. Няколко често използвани *in vitro* диагностични теста са свързани с неблагоприятна прогресия на COVID-19 и демонстрират потенциал за предоставяне на важна прогностична информация. В следващата таблица е представен **препоръчителният списък с тестове**, изготвен въз основа на актуалните литературни данни, както и основните лабораторни отклонения, наблюдавани при възрастни пациенти с COVID-19 и техните потенциални клинични индикации. В допълнение към често използваните лабораторни тестове, новите данни сочат, че пациентите с тежка форма на COVID-19 са застрашени от развитието на синдром на цитокиновата буря. Цитокиновите тестове, особено IL-6, трябва да се използват, когато е възможно, за оценка на пациенти в тежко състояние, при които се подозира наличието на хиперинфекция.

Важно е да се отбележи, че за разлика от възрастните, лабораторният профил на педиатричните пациенти с COVID-19 в тежко състояние не е ясен и изглежда, че не съответства на SARS. Скорозна публикация препоръчва на клиницистите при оценка на тежка инфекция да

проследяват лимфоцитния брой, С-реактивния протеин и прокалцитонина. IL-6 също трябва да се изследва като потенциален прогностичен показател в педиатрията.

Препоръчителен списък с тестове:

Лабораторен тест	Основни лабораторни отклонения при възрастни пациенти с неблагоприятна прогресия на COVID-19	Потенциално клинично и биологично значение
Пълна кръвна картина	↑ Повишени левкоцити ↑ Повишен брой неутрофили ↓ Понижен брой лимфоцити ↓ Понижен брой тромбоцити	Бактериална (супер)инфекция Бактериална (супер)инфекция Намален имунологичен отговор Консумационна (дисеминирана) коагулопатия
Албумин	↓ Понижен	Нарушена чернодробна функция
Лактатдехидрогеназа	↑ Повишена	Белодробно увреждане и/или дисеминирано органно увреждане
Аланин аминотрансфераза	↑ Повишена	Чернодробно увреждане и/или дисеминирано органно увреждане
Аспартат аминотрансфераза	↑ Повишена	Чернодробно увреждане и/или дисеминирано органно увреждане
Общ билирубин	↑ Повишен	Чернодробно увреждане
Креатинин	↑ Повишен	Бъбречно увреждане
Сърдечен тропонин	↑ Повишен	Сърдечно увреждане
D-димер	↑ Повишен	Активиране на коагулацията и/или дисеминирана коагулопатия
Протромбиново време	↑ Удължено	Активиране на коагулацията и/или дисеминирана коагулопатия
Прокалцитонин	↑ Повишен	Бактериална (супер)инфекция
С-реактивен протеин	↑ Повишен	Тежка вирусна инфекция /виремия/ вирусен сепсис
Феритин	↑ Повишен	Тежко възпаление
Цитокини (IL-6)	↑ Повишени	Синдром на цитокиновата буря