

## СОВРЕМЕННЫЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ТЕСТЫ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19

Н. С. БРЕДИХИНА

nsv44190103@gmail.com

ФГБОУ ВО «Уфимский государственный авиационный технический университет» (УГАТУ)

**Аннотация.** В настоящее время прошло уже два года с момента обнаружения новой коронавирусной инфекции COVID-19. Как только данная инфекция начала стремительно развиваться по всему миру, стало ясно, что страны нуждаются в различных качественных тестах для своевременного выявления коронавируса. Несмотря на кампанию по вакцинации тесты для выявления COVID-19 все также актуальны. Сейчас есть три типа наиболее популярных диагностических тестов: тесты полимеразной цепной реакции (ПЦР), экспресс-тесты на антиген и тесты на антитела. Последние дают подробную информации об иммунитете исследуемого к болезни. В то время как ПЦР-тесты являются наиболее точными для обнаружения коронавируса, они требуют определенного лабораторного оборудования и реагентов, их результаты можно узнать далеко не сразу. Экспресс-тесты на антиген дают наиболее быстрый результат, их механизм прост и доступен для использования в домашних условиях, что не исключает ложноотрицательного результата, а также сложностей при его интерпретации. В свою очередь, тесты на антитела помогают подробнее узнать о течении болезни, понять, был ли человек инфицирован в случае бессимптомного протекания болезни и оценить коллективный иммунитет. До сих пор ведутся споры об их эффективности, так как антитела имеют свойство исчезать через некоторое время после болезни, соответственно, промежуток времени, когда можно получить качественное заключение по уровню антител довольно мал. Данное исследование посвящено подробному обзору тестов, рассмотрены механизмы действия каждого из вышеупомянутых методов диагностики новой коронавирусной инфекции. Описаны их преимущества и недостатки.

**Ключевые слова:** коронавирус; полимеразная цепная реакция; антиген; антитела; иммуноглобулин.

### ВВЕДЕНИЕ

С развитием технологий и человечества продолжают развиваться и возникать новые вирусные заболевания. Новая коронавирусная инфекция COVID-19 появилась в декабре 2019 года в Китае и стала быстро распространяться по континентам и странам. Уже 11 марта 2020 года Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) объявила пандемию. До настоящего момента этот вирус уносит жизни людей и продолжает распространяться, мутируя. За последние несколько месяцев были выявлены несколько новых штаммов этой болезни.

Как известно, для выявления инфекции и, в принципе, для качественного реагирования на вспышку нового, неизученного заболевания, центральную роль играют различные лабораторные диагностические тесты. Как только ситуация с COVID-19 приняла серьезный оборот были оперативно разработаны различные тесты полимеразной цепной реакции (ПЦР). Несмотря на их быстрое развитие, данные тесты не способны справиться с общим наплывом пациентов с учетом необходимости их транспортировки и лабораторного оборудования для

исследования. Хотя ПЦР-тесты являются наиболее распространенными, нельзя исключать возможность получения ложного результата. Существует также такая вариация ПЦР, как ПЦР в реальном времени, позволяющая получать точные результаты и оценивать тяжесть инфицирования. [1]

ПЦР-тесты выявляют болезнь, когда человек непосредственно инфицирован. В случае, если необходимо выяснить был ли человек инфицирован в недавнем прошлом, в частности, если болезнь протекала бессимптомно, а также оценить коллективный иммунитет, можно прибегнуть к тестам на антитела.

Существуют также экспресс-тесты, доступные к покупке в аптеках. Они позволяют в течение пятнадцати-двадцати минут узнать об инфицировании, являются довольно чувствительными к антигену в мазке, реагируя на содержащийся в нем белок.

Каждый из вариантов теста имеет свои преимущества и недостатки.

### ОПИСАНИЕ ТЕСТОВ

Семейство коронавирусов – вирусы, которые в основном затрагивают животных, но при определенных обстоятельствах могут паразитировать и организм человека. В основном коронавирусы поражают респираторный, желудочно-кишечный тракт, млекопитающие подвержены также поражениям нервной системы и печени. Несмотря на то, что в основном данный тип заболевания у человека протекает в легкой форме, возможен и вариант развития болезни в тяжелой форме.

Коронавирусы – это РНК-вирусы с нуклеокапсидом, состоящие из липидов и гликопротеинов. Они, в свою очередь, представляют собой шиповидную форму. Именно из-за такой формы вирус и получил свое название. Наиболее известными штаммами коронавирусной инфекции являются SARS-CoV или ТОРС-коронавирус, связанный с тяжелым острым респираторным синдромом и MERS-CoV, связанный с ближневосточным респираторным синдромом. Оба штамма происходят от животных.

Новая коронавирусная инфекция, открытая в 2019 году, может поражать разные группы людей, и, хотя у основной массы зараженных людей болезнь протекает в легкой форме, застраховаться от более тяжелой формы инфекции не может никто и 20% от числа заболевших подвержены критическим состояниям, требующим интенсивной терапии. В основном это пожилые люди или люди с сопутствующими заболеваниями. Смертельные случаи же составляют 2-3% от всех пациентов.

Первоначальные симптомы коронавируса у человека схожи с обычным простудным заболеванием или гриппом. В случае легкой формы болезни могут возникать кашель, одышка, усталость, повышение температуры, боль в горле. Инкубационный период новой коронавирусной инфекции COVID-19 – 4-14 дней после попадания в организм человека. Главную опасность составляют осложнения, например, на фоне сахарного диабета, легочных или сердечно-сосудистых заболеваний, беременности и т.д. [1]

В случае, если здоровый человек контактировал с подтвержденным больным, необходимо подумать о сдаче теста, который поможет вовремя выявить заболевание. На данный момент предлагаются несколько видов тестов на выявление новой коронавирусной инфекции COVID-19, среди них: ПЦР-тест, тест на антитела, тест на антиген и различные экспресс тесты, доступные для использования в домашних условиях. После сдачи одного из тестов, пока результаты не готовы, потенциально инфицированному настоятельно рекомендуется оставаться изолированным во избежание дальнейшей цепочки заражения.

Один из наиболее популярных видов диагностики COVID-19 у человека на данный момент – это полимеразная цепная реакция в режиме реального времени (ПЦР-тест в реальном времени). Это молекулярный тест, для которого требуется биоматериал из верхних дыхательных путей, собранный в горле или носу человека. [2]

После сбора биоматериала в лаборатории образец подвергается обработке химическими растворами, удаляющими жиры и белки. Данные растворы извлекают из образца только

рибонуклеиновую кислоту (РНК). Именно в РНК присутствует вирус. После этого РНК записывается в дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК) с помощью определенных энзимов. Далее лаборанты добавляют в полученную цепь фрагменты, комплементарные вирусной ДНК. В случае присутствия вируса в биоматериале человека, эти добавочные фрагменты цепляются к его участкам.

После этого, в случае проведения ПЦР-теста в реальном времени, биоматериал помещается в машину для проведения реал-тайм ПЦР-теста, которая поочередно меняет температуры образца, охлаждая и нагревая его, для получения химических реакций, создающих новые копии вирусной ДНК, при этом каждый цикл удваивает предыдущее число. Цикл повторяется 35 раз и к концу работы произведено 35 миллиардов новых копий вирусной ДНК.

Затем, в полученную ДНК выпускается флуоресцентный краситель, который является маркером и представляет возможность лаборантам оценить количество красителя после каждого цикла. Когда определенный уровень красителя в биоматериале превышает норму, можно говорить о присутствии вируса в образце биоматериала. При отслеживании количества циклов до превышения нормального уровня, можно судить о тяжести инфекции: чем меньше циклов требуется, тем тяжелее протекает вирусная инфекция.

На протяжении долгого времени обнаружение вирусов в организме человека было осложнено из-за больших затрат, недостатка персонала и лабораторного времени. Решающим фактором в диагностике вирусных заболеваний было и медленное развитие вирусных инфекций в неспецифичной среде, а также их низкая чувствительность. [3]

На данный момент ПЦР-тесты распространены для выявления многих вирусных инфекций у человека, не только COVID-19. Данные тесты отличаются точностью и надежностью, хотя нельзя отрицать возможность ложноположительного или ложноотрицательного результата. Они значительно улучшают и облегчают обнаружение вирусов, а также содействуют эпидемиологическим изысканиям из-за возможности численного выделения нуклеиновых кислот в одной реакции.

Несмотря на повсеместную распространенность ПЦР-тестов, возможны ложные результаты, связанные с определенными мутациями в гене, когда фрагменты вирусной ДНК цепляются к неинфицированному биоматериалу. Кроме того, ПЦР-тесты требуют определенных временных затрат, специального оборудования и реагентов, а также специально обученных медицинских сотрудников поэтому, для получения быстрого результата в течение ближайших двадцати минут существуют тесты на антиген. Также они гораздо дешевле в производстве, чем тесты ПЦР. Их повсеместное использование также значительно снижает нагрузку на лаборатории. [4]

Методика их действия заключается в том, что антигены, содержащиеся в биоматериале, реагируют на вирусные белки. Взятый из носоглотки образец окунают в подготовленный буферный раствор. Несколько капель полученного раствора добавляют в тест-полоску, где уже содержатся антитела к коронавирусу. Такие тесты доступны для покупки в аптеке. В случае присутствия антигенов коронавируса в биоматериале и их реакции с антителами на тест-полоске проявляется цветная линия, что соответствует наличию в организме человека инфекции. Если никакой реакции нет, то цвет на полоске не проявляется, а значит и инфекции нет.

Несмотря на простоту такого диагностического метода, нельзя однозначно сделать вывод о том, насколько надежным он является. Ниже рассмотрим его преимущества и недостатки.

Во-первых, такой тест достаточно быстр в применении и дешев в производстве.

Во-вторых, такой вид тестирования может значительно помочь здравоохранению. Можно говорить о высокой точности, в случае если тест на антиген показывает положительный результат, так как тест чувствителен к большой вирусной нагрузке. Таким образом, можно быстро предотвратить распространение вируса, выявив заболевшего.

В-третьих, как было отмечено выше, тест на антиген не зависит от оборудования, реагентов и медицинских работников и его можно проводить в домашних условиях.

Помимо положительных сторон, у теста на антиген есть и недостатки.

Во-первых, такие тесты гораздо менее чувствительны, чем тесты ПЦР. Одна из существенных проблем тестов на антиген – ложноотрицательные результаты. Их нежелательно использовать в местах, где пропуск положительного теста критичен (например, медицинские учреждения). Более того, хоть и в гораздо редких случаях, ложноположительные результаты при использовании теста на антиген также имеют место быть.

Во-вторых, главную роль при проведении таких тестов играет интерпретация результатов, и, зачастую обыватель может ошибиться, получив результаты.

В-третьих, все еще ведутся обсуждения о качестве, пользе и эффективности экспресс-тестов на антиген среди ученых.

В-четвертых, несмотря на доступность таких тестов, нельзя сказать, что тестирование можно провести без обучения и тщательного понимания инструкции и не в клинической сертифицированной лаборатории. Для тестов на антиген по-прежнему необходимо производство расходных материалов. [5]

Хотя молекулярные диагностические тесты, к которым относится тест ПЦР быстро развиваются, необходимо отметить важность диагностики уровня антител после COVID-19. Также тесты на антитела позволяют выяснить болел ли человек в принципе, что является хорошим инструментом для выявления процента коллективного иммунитета. Такие тесты также позволяют подробно выяснить текущую фазу заболевания.

Иммуноглобулин G (IgG) и иммуноглобулин M (IgM) являются наиболее распространенными антителами для выявления инфицирования COVID-19 в прошлом.

Иммуноглобулин G находится в кровотоке и составляет порядка 75% от всех человеческих антител, соответственно, именно он является наиболее распространенным типом антител. Он защищает организм от различных инфекций, контролируя их, связываясь с патогенами (бактерии, грибки, вирусы), как только они проникают в организм. Данный тип антитела отвечает за длительный иммунитет после вакцинации или вывода инфекции из организма.

Всего существует пять классов антител - IgA, IgG, IgM, IgE, IgD. При выявлении уровня антител после болезни COVID-19 принципиальное значение имеют IgG и IgM.

Иммуноглобулин M вырабатывается B-клетками и составляет гораздо меньшую часть все антител, всего 10%. Такой тип иммуноглобулина развивается во время сильных инфекций и называется «иммуноглобулины ранней фазы». Это самая крупная защита организма на период инфицирования. [6]

Множество тестов обнаруживают IgM, IgA и/или IgG против нуклеокапсидного белка или вирусного шиповидного гликопротеина в крови или ее сыворотке. Такое исследование может быть сделано на основе таких лабораторных тестов, как хемилюминесцентный иммуноанализ или твердофазный иммуноферментный анализ, а также тестов, основанных на технологии латерального потока.

Необходимо отметить, что на точность проведения теста влияют время и его тип. В случае, если провести тестирование слишком рано от момента заражения, есть риск, что тест не воспримет антитела и не покажет их наличие, ведь иммунный ответ не успеет сформироваться в организме. Соответственно, лучшее время для проведения такого теста – 14 дней с момента проявления заболевания.

Исследования антител COVID-19 показали, что несмотря на то, что уже на четвертый день с появления симптомов антитела IgM и IgG были положительны, пиковые значения появляются через две недели после заражения для антител IgM и через три недели для антител IgG. После этого уровень антител IgM постепенно уменьшается, доходя до низа к пятой неделе и исчезая в среднем на седьмой неделе после заболевания. Уровень антител IgG сохраняется и после седьмой недели.

На данный момент, тесты на антитела позволяют ученым и медицинским работникам получать более точное представление о распространении новой коронавирусной инфекции COVID-19. Оценка количества бессимптомно переболевших людей крайне важна

в сегодняшней обстановке. Также одним из главных плюсов такого тестирования является тот факт, что можно выявить потенциальных доноров для терапии реконвалесцентной плазмой [5].

Несмотря на все преимущества тестирования на антитела, есть и несколько ограничений. Так как существуют еще шесть коронавирусов, передающихся человеку, может быть выявлена так называемая перекрестная реактивность. В случае, если тестирование проведено слишком рано, антитела не успеют сформироваться и тест даст отрицательный результат. Необходимо отметить и то, что наличие антител не гарантирует того, что человек повторно не заразится COVID-19 в ближайшее время. Так как уровень антител со временем становится все меньше и постепенно сходит на нет, можно сказать о том, что период положительного исследования на антитела довольно короткий, а значит интерпретацию результатов в любом случае нужно проводить с осторожностью.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время наиболее точными, хоть и требующими определенных время- и трудозатрат являются ПЦР-тесты или ПЦР-тесты в реальном времени. Именно они дают наиболее правильный ответ на вопрос, инфицирован ли человек или нет. Тесты на антитела необходимо сдавать в определенное время после инфицирования, а также они не дают гарантии невозможности повторного заражения, значит интерпретация их результатов затруднена.

Экспресс-тесты на антиген являются наиболее ненадежными из всех обозреваемых в данной статье тестов. Частые ложные результаты и повсеместное применение не в рамках клинической лаборатории делают их малонадежными.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. La Marca A, Capuzzo M, Paglia T, Roli L, Trenti T, Nelson SM. Testing for SARS-CoV-2 (COVID-19): a systematic review and clinical guide to molecular and serological in-vitro diagnostic assays. *Reprod Biomed Online*. 2020;41(3):483-499.
2. Jawerth Nicole. How is the COVID-19 virus detected using real time RT-PCR? *IAEA Bulletin*. 2020; 8-11.
3. Valones MA, Guimarães RL, Brandão LA, de Souza PR, de Albuquerque Tavares Carvalho A, Crovela S. Principles and applications of polymerase chain reaction in medical diagnostic fields: a review. *Braz J Microbiol*. 2009;40(1):1-11.
4. Kyosei Y, Yamura S, Namba M, Yoshimura T, Watabe S, Ito E. Antigen tests for COVID-19. *Biophys Physicobiol*. 2021;18:28-39. Published 2021 Feb 10.
5. Mardian Yan, Kosasih Herman, Karyana Muhammad, Neal Aaron, Lau Chuen-Yen. Review of Current COVID-19 Diagnostics and Opportunities for Further Development. *Frontiers in Medicine*. 2021; vol.8.
6. Ravi AB, Singh VPP, Chandran R, Venugopal K, Haridas K, Kavitha R. COVID-19 Antibody Tests: An Overview. *J Pharm Bioallied Sci*. 2021;13(Suppl 1):S48-S51.

### ОБ АВТОРЕ

**БРЕДИХИНА Наталья Сергеевна**, магистрант 2-го курса ФАВИЭТ.

### METADATA

**Title:** Modern diagnostic tests to detect the new coronavirus infection COVID-19.

**Author:** N. S. Bredikhina

**Affiliation:** Ufa State Aviation Technical University (UGATU), Russia.

**Email:** nsv44190103@gmail.com

**Language:** Russian.

**Source:** Molodezhnyj Vestnik UGATU (scientific journal of Ufa State Aviation Technical University), no. 1 (26), pp. 25-30, 2022. ISSN 2225-9309 (Print).

**Abstract.** It has now been two years since the discovery of the new coronavirus infection COVID-19. Once the infection began to spread around the world, it became clear that the various tests is needed. Despite the fact that outdoor vaccination is going, tests to control COVID-19 are still relevant. There are currently three types of the most popular diagnostic tests: polymerase chain reaction (PCR) tests, rapid antigen tests, and antibody tests. Latest details on disease immunity. While PCR tests are most often accurate cases of infecting, they require laboratory equipment and reagents, and their results are not immediately known. Rapid antigen tests give the fastest results, their mechanism is simple and available for use at home, which does not exclude a false negative result, as well as difficulties in its consumption. In turn, antibody tests affect a more detailed study of the course of the disease, understand whether a person was infected in the case of an asymptomatic course of the disease, and

assess herd immunity. Until now, disputes have been identified about their identification, antibodies tend to disappear some-time after the disease, respectively, the period of time when you can get a qualitative conclusion on the level of antibodies is rather small. This study is devoted to a detailed review of the tests, considering the cases of each of the above methods for diagnosing a new coronavirus infection. Description of their advantages and disadvantages also given.

**Key words:** coronavirus; polymerase chain reaction; antigen; antibodies; immunoglobulin.

**About author:**

**BREDIKHINA, Natalya Sergeevna**, postgraduate student 2 year, Ufa State Aviation Technical University.