مروری بر چالش‌های نمونه‌گیری و تشخیص آزمایشگاهی بیماری کووید-۱۹ (COVID-19)

اشرف بخشی مفرد کاشانی[۱]، معصومه اصلانی مهر×[۲]، پریسا عابدی ایلخچی[۳]

تاریخ دریافت ۱۳۹۹/۱۱/۰۲ تاریخ پذیرش ۱۴۰۰/۰۱/۱۸

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: با توجه به شیوع کرونا ویروس جدید (SARS-CoV-2) در سراسر جهان، تشخیص افراد آلوده به این ویروس و تعیین تیپ‌های مختلف آن برای مهار شیوع جهانی بیماری کووید-۱۹ (COVID-19) بسیار ضروری است. باوجود پیشرفت‌های چشمگیر در زمینه تشخیص این بیماری، نتایج حاصل بحث‌برانگیز است، لذا این مطالعه به بررسی این چالش‌های تشخیصی ازجمله انواع روش‌های تشخیص، نوع و زمان نمونه‌گیری و حتی شرایط بالینی بیماری می‌پردازد.

مواد و روش کار: در این بررسی مروری نظام‌مند، مطالعات انجام‌شده از سال ۲۰۰۳ تا می ۲۰۲۰ به زبان انگلیسی در زمینه چالش‌های نمونه‌گیری و تشخیص آزمایشگاهی کرونا ویروس‌ها و ویروس SARS-CoV-2، موردبررسی قرار گرفتند. این مقالات با جستجوی کلمات کلیدی در پایگاه‌های اطلاعاتی، PubMed، Scopus و Embace و همچنین موتور جستجوی Google scholar حاصل شدند و مطالعاتی که در زمینه تشخیص کرونا ویروس‌های انسانی بود، موردبررسی قرار گرفت و مقالات تکراری از مطالعه حذف گردید.

یافته‌ها: در جستجوی اولیه، تعداد ۹۸ مقاله استخراج شد که پس از حذف موارد تکراری و ارزیابی عنوان و چکیده، درنهایت تعداد ۶۴ مقاله شرایط لازم جهت بررسی را دارا و وارد مطالعه گردید.، نتایج مطالعات نشان داد که، اگرچه روش RT-PCR استاندارد طلایی برای تشخیص بیماری کووید-۱۹ می‌باشد، اما برای ارزیابی صحیح نمونه، به غلظت کافی ازRNA ویروسی در نمونه بیمار نیاز دارد. ازآنجایی‌که غلظت RNA ویروسی در نمونه بیمار ثابت نیست، این امر می‌تواند در نتایج به‌دست‌آمده تأثیرگذار باشد. همچنین عواملی مانند نوع نمونه، زمان نمونه‌گیری، کیفیت نمونه ازنظر مواد سلولی و نحوه ارسال و نگهداری نمونه در آزمایشگاه به‌شدت می‌تواند روی غلظت RNA تأثیر بگذارد و گاهی منجر به نتایج منفی کاذب گردد. اگرچه بهترین نمونه جهت شناسایی ویروس در روزهای نخستین، سواب نازوفارنکس و در روزهای آتی، نمونه‌های گرفته‌شده از دستگاه تنفس تحتانی می‌باشد ولیکن نمونه‌های متعددی همچون سواب گلو و مدفوع نیز می‌تواند جهت شناسایی استفاده شود ولی درصد جداسازی RNA ویروسی در این نمونه‌ها به‌طور قابل‌توجهی کاهش می‌یابد.

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به گستردگی جهانی بیماری کووید-۱۹، بیماریابی و تشخیص زودهنگام بیماران و افراد مشکوک، قرنطینه و درمان به‌موقع آنان، در کنترل همه‌گیری از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد. استفاده از تست‌های تشخیصی صحیح به پزشکان این امکان را می‌دهد تا مداخلات فوری را برای بیماران انجام دهند. لذا انتخاب روش آزمایشگاهی و نمونه‌گیری صحیح و انتقال مناسب دارای اهمیت زیادی می‌باشد. اگرچه در تشخیص دقیق بیماری کووید-۱۹ تشخیص مولکولی بهترین روش تشخیصی است ولیکن مطالعات نشان می‌دهد بهتر است به نتایج حاصل از یک آزمایش بسنده نکرده و برای رفع چالش‌های تشخیصی از ترکیب روش‌ها و آزمایشات مختلف استفاده شود.

کلیدواژه‌ها: تشخیص آزمایشگاهی، نمونه‌گیری، NAAT، COVID-19، SARS-CoV-2

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و دوم، شماره سوم، ص ۱۷۴-۱۵۶، خرداد ۱۴۰۰

آدرس مکاتبه: قزوین، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، تلفن: ۳۳۳۳۶۰۰۱- ۰۲۸

Email: dr.aslanimehr@gmail.com

مقدمه

در ۳۰ ژانویه ۲۰۲۰ گزارشات رسمی مبنی بر ظهور یک بیماری تنفسی حاد با قابلیت ایجاد همه‌گیری توسط ویروسی متعلق به

[۱] دانشجوی دکتری تخصصی باکتری‌شناسی، گروه میکروب‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

[۲] دانشیار مرکز تحقیقات میکروب شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران (نویسنده مسئول)

[۳] دانشجوی دکتری تخصصی باکتری‌شناسی، گروه میکروب‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-05]

خانواده کروناویریده، از ووهان چین دریافت شد. ازاین‌رو سازمان بهداشت جهانی (WHO) با اعلام موقعیت اضطراری در ۱۱ فوریه سال ۲۰۲۰، بیماری حاصل از کرونا ویروس جدید را کووید-۱۹ (COVID-19) نام‌گذاری کرد. (۱) به دلیل شباهت‌های زیادی که این ویروس با ویروس مولد سارس داشت، کمیته بین‌المللی طبقه‌بندی ویروس‌ها (ICTV) نام آن را کرونا ویروس مرتبط با سندرم تنفسی حاد شدید-۲ (SARS-CoV-2) قرار داد (۲). درنهایت بیماری که در اواخر دسامبر سال ۲۰۱۹ در استان هوبی در شهر ووهان چین کشف شد، در ۱۶ ژوئن ۲۰۲۰ به ۲۱۳ کشور و سپس به سراسر جهان گسترش یافت (۳) که این امر نشانگر سرعت انتشار بسیار بالای این ویروس بود. SARS-CoV-2 متعلق به خانواده کرونا ویریده (Coronaviridae) است، اعضای این خانواده ویروس‌های پوشش‌دار، دارای ژنوم RNA تک‌رشته‌ای با پلاریته مثبت می‌باشند. کورناویروس‌ها (CoV) در سطح جهان در انسان‌ها و بسیاری از گونه‌های مختلف حیوانات یافت می‌شوند. آن‌ها در ۴ زیر خانواده مختلف طبقه‌بندی می‌شوند (۴). زیر خانواده اورتوکرونا ویرینه (Orthocoronavirinae) بر اساس رابطه ژنومی و فیلوژنتیک، به چهار جنس آلفا(Alphacoronavirus)، بتا (Betacoronavirus)، گاما (Gammacoronavirus) و دلتا کرونا (Deltacoronavirus) ویروس تقسیم می‌گردد. آلفا و بتا کورناویروس‌ها (α ,β-CoV) قادرند پستانداران را آلوده کنند، درحالی‌که گاما و دلتا کورناویروس‌ها (γ-CoV, δ-CoV) در درجه اول پرندگان را آلوده می‌کنند(۵). ژنوم کورناویروس جدید (SARS-CoV-2) شباهت‌هایی با سایر β-CoV موجود در خفاش‌ها را نشان می‌دهد. SARS-CoV-2. با CoV RaTG13 خفاش ۹۶/۲درصد شباهت دارد، درحالی‌که دارای شباهت ۷۹/۵درصد با ویروس سارس (SARS-CoV) است. بنابراین می‌توان فرض کرد که ویروس در اصل از خفاش‌ها ناشی شده است و به‌مرورزمان به دیگر حیوانات و درنهایت به انسان منتقل شده است (۶). کورونا ویروس‌ها به دلیل سازمان‌دهی ژنومی خاص خود، بیش از ویروس‌های DNA دار مستعد جهش هستند. تا قبل از کشف کرونا ویروس جدید، کورونا ویروس‌های انسانی(HCoVs) شامل ۶ ویروس بودند و SARS-CoV-2 هفتمین ویروس انسانی این خانواده ویروسی محسوب می‌شود. محققان چینی منشأ کورناویروس جدید را خفاش‌ها اعلام کردند، اما میزبان‌های واسط SARS-CoV-2 هنوز دقیقاً مشخص نشده‌اند هرچند از پانگولین نوعی مورچه‌خوار نام برده شده است. توالی ژنومی SARS-CoV-2 نشان می‌دهد که این ویروس به‌طورکلی ۸۸ درصد شباهت با بتاکرونا ویروس‌های شناسایی‌شده در خفاش‌ها دارد، درحالی‌که میزان مشابهت آن با SARS-CoV در حدود ۷۹ درصد می‌باشد(۷). اعضای حیوانی و انسانی خانواده کروناویریده دارای قرابت‌های ژنتیکی و آنتی‌ژنیک بسیارمی باشند که در تشخیص می‌بایست به‌دقت موردتوجه قرار گیرد، در غیر این صورت امر تشخیص را دچار اشکال می‌نماید. با توجه به شیوع و گسترش بیماری کووید-۱۹در جهان و اعلام آن به‌عنوان یک پاندمی جهانی از طرف سازمان بهداشت جهانی و شیوع گسترده آن در کشور ما، شناسایی افراد آلوده به این ویروس برای مهار شیوع جهانی آن بسیار حائز اهمیت است. همچنین در مواردی که فرد سابقه مسافرت و یا سابقه تماس با بیمار مبتلا به کووید-۱۹ را داشته باشد و علائم بالینی آن حاکی از عفونت احتمالی با کرونا ویروس جدید است و یا جز کارکنان بهداشتی و درمانی بیماران مبتلا به کووید -۱۹ باشد، انجام تست‌های آزمایشگاهی از جهت شناسایی افراد آلوده و ایزولاسیون آن‌ها و تعیین سویه‌های جهش‌یافته ویروسی، در کنار محدود کردن سفرها به‌منظور کاهش انتقال عفونت‌ها، جلوگیری از تجمعات انسانی به‌ویژه در فضاهای بسته و رعایت فاصله‌گذاری اجتماعی و رعایت پروتکل‌های بهداشتی به‌ویژه زدن ماسک و شستن و ضدعفونی دست‌ها و کاهش تماس نزدیک با کارکنان مراقبت‌های بهداشتی از جهت جلوگیری انتقال انسان به انسان در جلوگیری از گسترش بیشتر بیماری امری اساسی است.

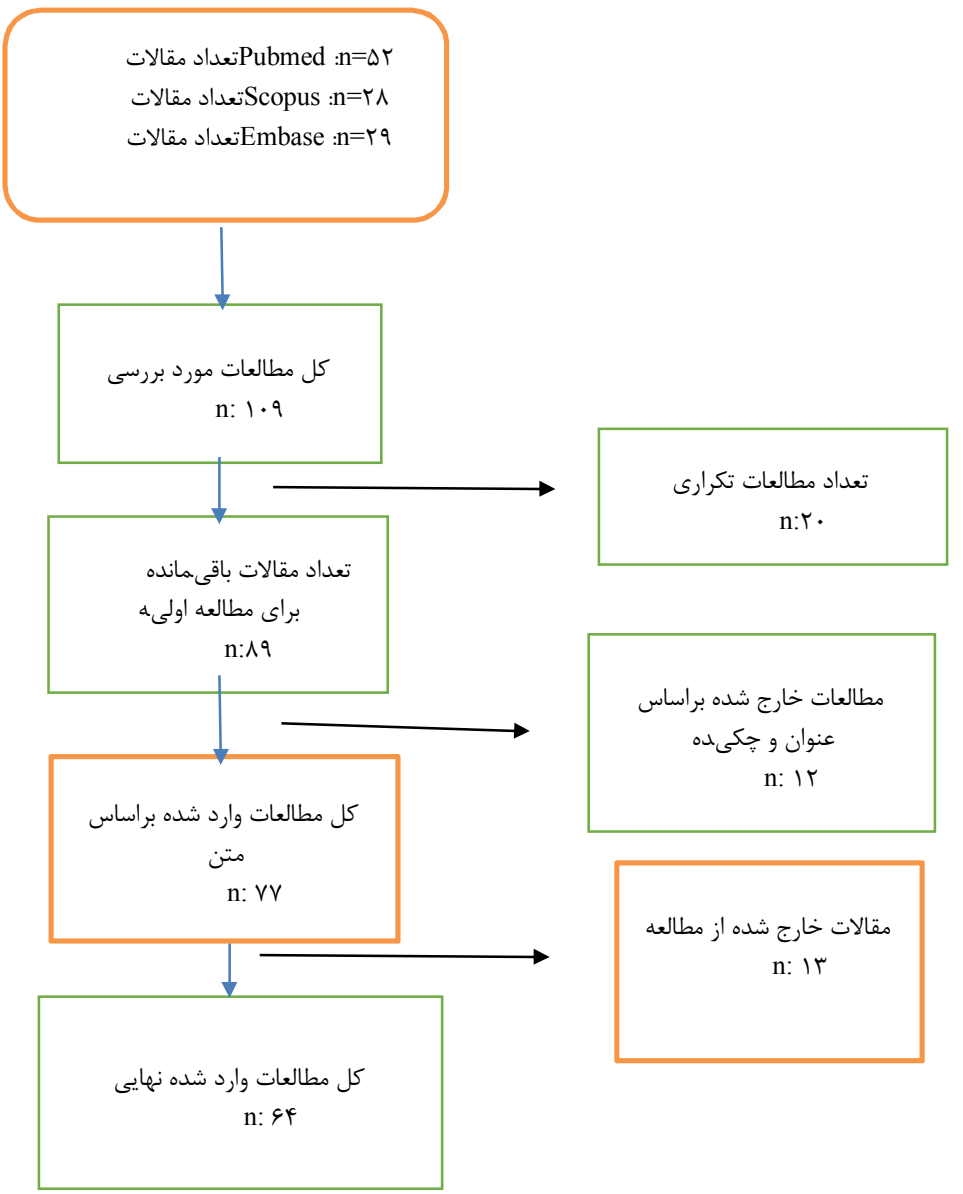
ازاین‌رو افراد و صاحب‌نظران زیادی در سراسر جهان در مورد ابعاد مختلف بیماری ازنقطه‌نظر تشخیص و نمونه‌گیری بیماری COVID-19 اظهارنظر نموده‌اند، که با توجه به پراکندگی و حجم زیاد این مطالب و همچنین چالش‌هایی در طریقه نمونه‌گیری و روش‌های تشخیصی بیماری COVID-19 وجود دارد ازجمله نوع روش تشخیصی، زمان و طریقه نمونه‌گیری، و حتی شرایط بالینی بیماری و سیستم ایمنی بیمار مواردی هستند که تأثیرگذار هستند. لذا بر آن شدیم در این مقاله این موارد را به بحث بگذاریم در ابتدا روش‌های مختلف تشخیصی را بیان می‌کنیم و مزایا و معایب هر روش را بیان کرده، سپس چالش‌های تشخیص را به بحث گذاشته، تا شاید این مطالب بتواند در حوزه‌های مختلف بالینی و نظام مراقبت و مدیریت بیماری مورداستفاده قرار بگیرد.

مواد و روش کار

در این مطالعه نظام‌مند مروری، تحقیقات انجام‌شده از آغاز سال ۲۰۰۳ تا ماه می ۲۰۲۰ به زبان انگلیسی درزمینه تشخیص افراد آلوده به ویروس SARS-CoV-2 و چالش‌های نمونه‌گیری موردبررسی قرار گرفتند. این مقالات نمایه شده با جستجوی کلمات کلیدی تشخیص آزمایشگاهی، نمونه‌گیری، COVID-19، SARS-CoV-2، در پایگاه‌های اطلاعاتی، PubMed، Scopus و Embace جستجو شدند، همچنین از موتور جستجوی Google scholar

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-05]

استفاده گردید. اطلاعات مرتبط با روش‌های تشخیص و چالش‌های موجود در زمینه تشخیص ویروس SARS-CoV-2 استخراج شدند. معیار ورود به مطالعه: برای ورود به مطالعه در ابتدا تمامی مقالات استخراج‌شده از پایگاه‌های نامبرده که شامل مطالعات تشخیصی مختص کرونا ویروس‌های انسانی باشد، جمع‌آوری و موردبررسی قرار گرفت، لیستی از چکیده مقالات توسط پژوهشگر تهیه شد و مقالاتی که در عنوان آن نمونه‌گیری و تشخیص آزمایشگاهی بیماری کووید-۱۹ (COVID-19) بود وارد لیست اولیه شد. مقالات تکراری و مقالاتی که فقط عنوان مرتبط داشت و محتوای آن غیر مرتبط بود و یا مطالعاتی دارای سوگیری بود، از مطالعه خارج شدند. سپس چک‌لیستی از اطلاعات لازم برای پژوهش شامل (نام پژوهشگر، عنوان مقاله، سال انجام، محل انجام، روش نمونه‌گیری و تشخیص و مزایا و معایب هر روش نمونه‌گیری و تشخیص موردبررسی قرار گرفت و وارد چک‌لیست نهایی شد و موردبررسی نهایی قرار گرفت. استراتژی جستجو در نمودار ۱ نشان داده شده است.



نمودار (۱): استراتژی جستجو در پایگاه‌های موردنظر

ویژگی‌های ژنومیک و آنتی‌ژنیک ویروس SARS-CoV-2:

SARS-CoV-2 یک ویروس پوشش‌دار (enveloped) و با سایز ژنوم بین ۲۶ تا ۳۲ کیلو باز است که جزء بزرگ‌ترین

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-05]

ویروس‌های با ژنوم RNA می‌باشد. کورناویروس‌ها دارای پروتئین‌های سطحی میخی شکل (spike) بر روی سطح پوشش با طول تا ۲۰ نانومتر می‌باشند (۸) این ویروس‌ها ظاهری مانند تاج خورشید دارند، که مشخصه کرونا ویروس‌ها است (۹). ژنوم این ویروس RNA تک‌رشته‌ای با سنس مثبت است، توالی ژنومی SARS-CoV-2حدود ۷۹ الی ۸۲ درصد همسانی با ویروس سارس انسانی (SARS-CoV) و حدود ۸۹ الی ۹۶ درصد با SARS خفاشی مانند CoVZXC21 دارد (۱۰). این ویروس دارای سخت‌ترین و پایدارترین پوشش‌ها در خانواده کروناویروس بوده و به نظرمی آید که SARS-CoV-2 بیشتر از سایر ویروس‌های هم‌خانواده خود، ازجمله SARS-CoV و MERS-CoV در مایعات بدن و محیط مقاوم می‌باشد (۱۱). ژنوم این ویروس دارای ۴ قالب روخوانی باز ((Open Reading Frameاست که قادر است پروتئین‌های ویروسی را کد کند. در انتهای '۵ ژنوم، ژن‌های orf1ab و orf1a قرار دارند که پروتئین‌های pp1ab و pp1a را به ترتیب کد می‌کنند. این ژن‌ها ۱۵ پروتئین غیر ساختمانیnsp1-nsp10 و nsp12-nsp16 را بیان می‌کنند. علاوه بر این در انتهای '۳ ژنوم ۴ ژن مربوط به پروتئین ساختاری قرار دارد که شامل: پروتئین نوکلئوکپسید (NP)، پروتئین spike(SP)، پروتئین انولوپ (EP) و پروتئین غشایی و ماتریکس (Membrane protein) را کد می‌کند (۱۲). پروتئین نوکلئوکپسید (NP)، (وزن مولکولی ۴۰ کیلو دالتون) که دارای دو domain می‌باشد و در تکثیر ویروس نقش داشته. پروتئین نوکلئوکپسید از فسفوپروتئین‌های ویروسی فراوان تشکیل‌شده که در طول عفونت تولید می‌شود. mRNA الگوی NP فراوان‌ترین RNA ویروسی است. پروتئین نوکلئوکپسید ایمنی‌زایی بالایی را ایجاد می‌کند و در طی دو هفته اول آلودگی، در نمونه‌های سرم و یا نمونه ادرار قابل‌ردیابی می‌باشد و بدین‌صورت می‌تواند در تشخیص این ویروس کمک کند. این نوکلئوکپسید، پروتئین بزرگی است که می‌تواند به روش ساندویچ الایزا شناسایی شود. پروتئین spike(SP)یا آنتی‌ژن S که این آنتی‌ژن به‌صورت زوائد میخی شکل بر روی قسمت خارجی انولوپ قرار گرفته است. پروتئین spike یک گلیکوپروتئین عمده (۱۸۰ کیلو دالتون) می‌باشد که خود دارای دو زیر واحد مجزا به نام‌های S1,S2 است. پروتئین S1 مسئول شناسایی رسپتورهای سطح سلول میزبان می‌باشد که به آن Receptor binding domain (RBD)می‌گویند. دومین S1 شامل دومین اتصال گیرنده ((RBDاست که به آنزیم مبدل آنژیوتانسین ۲ (ACE2) بر روی سلول‌های میزبان انسانی متصل می‌شود و دومین S2 واسطه ادغام غشای سلول‌های ویروسی و ورود ویروس می‌باشد. دومینS2 نیز از سه بخش تشکیل‌شده است: اکتودومین بزرگ، دومین TM مفرد و دومینCT . بعد از اتصال پروتئین اسپایک SARSCoV-2 به گیرنده ACE2 بر روی سلول‌های میزبان، پروتئین S به‌وسیله پروتئاز سلول میزبان شکسته می‌شود و دومین S2 برای ادغام غشا و ورود ویروس آشکار می‌شود (۱۳). علاوه بر SARS-CoV-2، SARS-CoV نیز از طریق ACE2 سلول‌های میزبان وارد سلول می‌شود، که طبق یافته‌های یک مطالعه نشان داد که میل اتصال بین اکتودومین اسپایک SARS-CoV-2 و ACE2 انسانی تقریباً ۱۰-۲۰ برابر بیشتر از میل اتصال بین اکتودومین اسپایک SARS-CoV و ACE2 انسانی است. این میل اتصالی بالا به گیرنده، ممکن است ورود ویروس به سلول‌های ریوی را تسهیل کرده و منجر به انتقال بیشتر فردبه‌فرد از طریق تماس مستقیم یا غیرمستقیم با قطرات تنفسی بیماران مبتلا به COVID-19 شود(۱۴) . آنتی‌ژن spike در ساخت واکسن نقش اساسی دارد، درواقع آنتی‌بادی علیه این آنتی‌ژن به‌ویژه قسمت دومین اتصال گیرنده(RBD)، می‌تواند نقش محافظت‌کننده در ابتلا به بیماری را داشته باشد. پروتئین S ویروس SARS-CoV-2 زنجیره‌ای متشکل از ۱۲۵۵ اسیدآمینه است که ۲۰ الی ۲۷ درصد با آنتی‌ژن S سایر کرونا ویروس‌ها شباهت دارد.پروتئین انولوپ(EP) نوع دیگری از پروتئین‌های ساختاری است که در مونتاژ و گردهمایی (assembly) و رهاسازی (release) ذره ویروسی نقش داشته همچنین در بیماری‌زایی ویروس هم نقش مهمی را داراست. پروتئین غشایی (Membrane protein) یا آنتی‌ژن M دارای ۳ domain است که در بین غشا قرار می‌گیرد و به ویروس شکل می‌دهد و به نوکلئوکپسید متصل می‌شود.

اکنون‌که توالی ویروس شناخته شده است مسیر برای تولید پروتئین‌های موردنیاز از جهت تولید کیت‌های تشخیصی فراهم شده است. در حال حاضر از آنتی‌ژن‌های N و S برای تولید آنتی‌بادی‌های مختلف برای به‌کارگیری در ساخت کیت‌های تشخیصی با روش ایمنواسی به‌طور گسترده استفاده می‌شود. اتصال مناسب آنتی‌بادی‌های سرم بیمار با آنتی‌ژن‌های به‌کاررفته در کیت به جهت شکل فضایی پروتئین حائز اهمیت است، گاهی ممکن است آنتی‌بادی‌ها به‌طور کامل به آنتی‌ژن متصل نشوند و منجر به ایجاد جواب منفی کاذب گردد. مطالعات انجام گرفته است نشان داده شده است که پروتئین اسپایک Covid-19 می‌تواند توسط آنتی‌بادی مونوکلونال (CR3022) شناخته شود. همچنین امروزه کیت‌های تشخیصی الایزا با استفاده از NP پروتئین که قدرت ایمنی‌زایی بالایی دارد، به شکل تجاری ساخته شده است (۱۵). البته لازم به ذکر است که کیت‌هایی که در ساخت آن‌ها تنها از پروتئین NP استفاده شده است، قادر به پایش موارد واکسینه شده نمی‌باشند و برای اندازه‌گیری آنتی‌بادی‌های حاصل از واکسیناسیون می‌بایست از

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-05]

کیت‌هایی استفاده نمود که در ساخت آن‌ها از آنتی‌ژن‌های spike به‌ویژه قسمت دومین اتصال گیرنده ((RBD استفاده شده باشد.

معیارهای تشخیصی بیماری COVID-19:

به‌طورکلی معیارهای تشخیصی بیماری COVID-19 به سه دسته تقسیم می‌شود:

- بر اساس علائم بالینی
- بر اساس یافته‌های رادیولوژیک
- بر اساس تست‌های آزمایشگاهی

علائم بالینی در این بیماری غیراختصاصی می‌باشد و به‌راحتی قابل افتراق از سایر پنومونی‌های اکتسابی نیست. بنابراین یافته‌های رادیولوژیک و تست‌های آزمایشگاهی در تشخیص و پیگیری بیماری نقش مهمی دارند.

علائم بالینی:

در مطالعات انجام‌شده دوره نهفتگی و یا کمون کرونا ویروس جدید به‌طور میانگین ۵ روز و با دامنه بین ۴ الی ۷ روز ذکر شده است. ولیکن با توجه به تعریف دوره نهفتگی که از زمان برخورد شخص با ویروس تا زمان بروز علائم بالینی می‌باشد این مدت‌زمان با توجه به گزارش سازمان بهداشت جهانی ۱۰-۱۴ روز است (۱۶). کروناویروس SARS-CoV-2 به دلیل وجود گیرنده ACE2در سلول‌های دستگاه تنفسی فوقانی توانایی تکثیر در این قسمت را دارد. لذا افراد آلوده، مقادیر زیادی از ویروس در دستگاه تنفسی فوقانی خود تولید می‌شود که این امر منجر به انتشار بیشتر این ویروس و درگیری سایر اعضا می‌شود. درحالی‌که، کروناویروس SARS در طول این دوره مقدماتی به‌راحتی قابلیت انتقال ندارد و بیشترین انتقال زمانی رخ می‌دهد که فرد بیمار، علائم بیماری را از خود نشان می‌دهد (۱۷). علائم و نشانه‌های رایج می‌تواند شامل: تب، سرفه، خستگی، تنگی نفس، دردهای عضلانی، لرز، گلودرد، سردرد، درد قفسه سینه و علائم گوارشی است (۱۸، ۱۹). در نتیجه تظاهرات عفونت COVID-19 بسیار غیراختصاصی است این علائم می‌تواند در عفونت با عوامل متعددی شکل گیرد و مشترک بین بیماری‌های مختلف همچون آنفولانزا باشد بنابراین، آزمایش‌های تشخیص اختصاصی برای این عفونت جهت تأیید موارد مشکوک بیماران لازم است(۲۰).

یافته‌های رادیولوژیک:

اسکن توموگرافی کامپیوتری قفسه سینه (CT Scan) به‌عنوان یک ابزار تشخیصی مکمل می‌تواند عمل کند و به پزشکان این امکان را می‌دهد که عفونت SARS-COV-2 را در موارد منفی کاذب RT-PCR به‌طور مؤثر تشخیص دهند. حساسیت سی‌تی‌اسکن به‌ویژه در تشخیص پنومونی ویروس SARS-COV-2 بسیار بالاتر از RT-PCR می‌باشد، مطالعات نشان داده که پنومونی ویروسی ناشی از SARS-CoV-2 توسط CT-Scan در روز ۷ بیماری اما توسط روش RT-PCR در روز ۱۴ تشخیص داده شده است. این در حالی است که اختصاصیت کم‌تری نسبت به RT-PCR دارد و ممکن است با پنومونی‌های دیگر اشتباه گرفته شود. در نتیجه در منطقه‌ای با تعداد موارد زیاد COVID-19 ممکن است CT-ابزار تشخیصی بهتر در مقایسه با RT-PCR باشد (۲۱).

تشخیص آزمایشگاهی:

سازمان بهداشت جهانی به‌منظور جلوگیری از انتشار بیشتر عفونت، علاوه بر شناسایی بیماران بر لزوم اهمیت آزمایش موارد مشکوک، برای شناسایی افراد آلوده به SARS-CoV-2 نیز تأکید کرده است تا بتوان موارد مشکوک را هرچه سریع‌تر شناسایی و قرنطینه نمود (۲۲). موارد مشکوک شامل افرادی هستند که دارای علائم تنفسی و تب و یا دارای سابقه تماس نزدیک با فرد مبتلا می‌باشند، و بر اساس نظر (WHO) شناسایی این افراد بسیار حائز اهمیت است. با توجه به اینکه SARS-COV-2 قابلیت آلوده سازی تمام افراد در تمام سنین را دارد و می‌تواند منجر به انتقال ویروس حتی قبل از بروز علائم بالینی شود، لذا در برنامه‌های کنترلی، بررسی افراد بدون علامت نیز باید در دستور کار قرار داده شود. کارکنان نظام سلامت، بهداشت، درمان و کادر آزمایشگاهی به‌خصوص کادر درمانی در حین مراقبت‌های طولانی‌مدت از بیماران در مجموعه‌های بالینی، جزء اولویت‌های بررسی‌های آزمایشگاهی ازنظر SARS-COV-2 می‌باشند و می‌بایست به‌طور دوره‌ای موردبررسی آزمایشگاهی قرار گیرند (۲۳). امروزه چندین روش کلی برای تشخیص عفونتSARS-CoV-2 وجود دارد، ازجمله: آزمایشات روتین (بیوشیمی و هماتولوژی)، آزمایش‌های مولکولی مبتنی بر تشخیص ژنوم ویروس، آزمایشات سریع نقطه مراقبت (Rapid point-of-care tests) مانند تست‌های سریع آنتی‌ژن که سازمان بهداشت جهانی بیشتر برای تشخیص کووید- ۱۹ تنها در موارد تحقیقاتی مجاز شمرده است، آزمایش تشخیص آنتی‌بادی برای شناسایی عفونت مرحله فعلی و گذشته (حاد و مزمن)، کشت سلولی که به‌طورمعمول برای اهداف تشخیصی انجام نمی‌شود و بیشتر جنبه تحقیقاتی دارد و توالی یابی به‌ویژه برای شناسایی سویه‌های جهش‌یافته ویروسی، درنهایت استفاده از این تست‌ها امکان تشخیص زودهنگام را به پزشکان می‌دهد تا مداخلات لازم را برای بیمارانی که در معرض خطر عوارض جدی‌تر COVID-19 هستند مانند گروه‌های خطر، قرار دهند. و یا اینکه اطلاعات اپیدمیولوژیک لازم را، برای کنترل همه‌گیری در اختیار مدیران سیستم بهداشتی قرار دهند (۲۴). بنابراین تست‌های تشخیصی اختصاصی آزمایشگاهی از جهت شناسایی ویروس SARS-COV-2 در دو گروه اصلی طبقه‌بندی می‌شوند، یک گروه تست‌های مبتنی بر تشخیص

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-05]

مولکولی بر پایه PCR و دیگری تست‌های سنجش ایمنی و سرولوژیک می‌باشد. اگرچه تست‌های مولکولی بر پایه PCR عمده‌ترین روش تشخیص آزمایشگاهی SARS-COV-2 می‌باشد ولیکن حساسیت و ویژگی‌شان نامشخص است، به‌ویژه نوع نمونه بالینی، روش جمع‌آوری و کیفیت نمونه بالینی و زمان جمع‌آوری نمونه می‌تواند از حساسیت تست بکاهد. بااین‌حال در حال حاضر، تشخیص بیماری کووید-۱۹ با تشخیص مولکولی ژنوم RNA توسط آزمایشگاه‌های تشخیص مولکولی با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز رونویسی معکوس (RT-PCR)، تأیید شده است (۲۵).

جمع‌آوری نمونه‌ها:

اساس تشخیص ویروسی SARS-CoV-2 شامل جمع‌آوری نمونه صحیح از بیمار در زمان مناسب است. ویروس SARS-COV-2 را می‌توان از انواع نمونه‌های تنفسی فوقانی و تحتانی ازجمله سوآپ بینی (سواپ نازوفارینکس) سوآپ گلو (سواپ اوروفارنکس)، خلط و مایع برونش شناسایی کرد. بااین‌حال، ژنوم SARS-CoV-2 RNA تنها در ۶۳ درصد از نمونه‌های سوآپ بینی (سواپ نازوفارینکس) و ۳۲ درصد از نمونه‌های سوآپ‌های گلو تشخیص داده می‌شود که به‌طور قابل‌توجهی درصد وجود RNA ویروس، در سوآپ‌های گلو پایین‌تر از سوآپ‌های نازوفارینکس می‌باشد. مراکز کنترل و پیشگیری از بیماری‌های ایالات‌متحده (CDC) توصیه می‌کند تا برای تشخیص این ویروس سوآپ تنفسی فوقانی جمع‌آوری شود ولیکن جمع‌آوری نمونه سوآپ‌های گلو اولویت پایین‌تری دارد، و در صورت جمع‌آوری، باید در همان لوله سوآپ بینی قرار داده و نگهداری شود (۲۶). آسپیره‌های نازوفارنکس نیز نمونه‌های مناسبی برای تشخیص کرونا ویروس‌های انسانی (HCoV) در ابتدای بیماری هستند زیرا ویروس در ابتدا در نازوفارنکس کلونیزه می‌شود. برای بالا بردن حساسیت در تشخیص SARS-CoV، MERS-CoV، و SARS-CoV-2، جمع‌آوری و آزمایش هر دو نمونه تنفسی فوقانی و تحتانی [خلط، مایع لاواژ برونکوآلوئولار [(BAL) توصیه می‌شود (۲۷). بااین‌حال، جمع‌آوری خلط و به‌ویژه BAL از طریق برونکوسکوپی برای کارکنان مراقبت‌های بهداشتی از طریق ایجاد قطرات آئروسل خطرساز بوده و خطر ایمنی زیستی را افزایش می‌دهد. لذا در این موارد استفاده صحیح از تجهیزات محافظت شخصی توسط کارکنان مراقبت‌های بهداشتی اهمیت دارد. علاوه بر این برونکوسکوپی روشی کاملاً فنی است که نیاز به کادر درمانی ماهر دارد و ممکن است در بسیاری از نقاط جهان در دسترس نباشد اما نمونه‌های تنفسی فوقانی به‌راحتی جمع‌آوری می‌شوند. RNA های ژنومیک ویروس‌های SARS-CoV و MERS-CoV از نمونه‌های مدفوع، ادرار و خون نیز تشخیص داده می‌شود، اگرچه معمولاً با اطمینان کم‌تری نسبت به نمونه‌های تنفسی می‌باشد (۲۸). RNA ویروس COVID-19 تقریباً دو هفته پس از شروع علائم به‌طور مداوم در مدفوع تشخیص داده می‌شود و نمونه‌های رکتال در بیماران آلوده به SARS-CoV-2 مثبت گزارش شده است (۲۹). بر اساس مطالعه یفیی چن و همکارانش وجود RNA ویروسی در مدفوع حتی بعد از منفی شدن سواب فارنژیال ممکن است مدت‌ها باقی بماند و به‌عنوان یک عامل در انتقال ویروس باشد (۳۰). برای بالا بردن حساسیت بیشتر در تشخیص COVID-19 آندمیک، نمونه‌های تنفسی فوقانی باید در چند روز اول شروع علائم جمع‌آوری شود. در بین بیماران بستری که نیازی به استفاده از ونتیلاتور ندارند، سطح COVID-19 RNA در دستگاه تنفسی فوقانی معمولاً در هفته اول پس از شروع علائم به اوج خود می‌رسد. در میان موارد بیماری شدید که بیمار نیاز به ونتیلاتور دارد، سطح RNA در نمونه‌های دستگاه تنفسی تحتانی بین هفته‌های ۲ و ۳ به اوج خود می‌رسد. میزان مثبت RNA در ۷-۱۰ روز پس از شروع علائم در نمونه‌های دستگاه تنفسی فوقانی به اوج خود رسیده و پس‌ازآن به‌طور پیوسته کاهش‌یافته، درحالی‌که میزان مثبت RNA در نمونه‌های دستگاه تنفسی تحتانی در بیش از ۳ هفته پس از شروع بیماری باقی می‌ماند. بهتر است در روزهای نخست نمونه‌گیری به‌طور مکرر انجام شود، زیرا با گذشت زمان در طی روزهای آغازین، احتمال حضور SARS-CoV-2 در نازوفارنکس افزایش می‌یابد. از این نمونه‌های تنفسی به‌ویژه سواب نازوفارینکس می‌توان برای انجام تست‌های سریع آنتی‌ژن هم استفاده نمود. نمونه سرم بیمار ازجمله نمونه‌های دیگری است که بیشتر برای اندازه‌گیری سطح آنتی‌بادی IgM,IgG بیمار مورداستفاده قرار می‌گیرد و کاربردهای مختلفی در تشخیص و سیر درمان بیماری دارد. مطالعات انجام‌شده بر روی سرم بیماران نشان می‌دهد تنها ۱۵درصد از بیماران بستری در معرض ذات‌الریه دارای RNA قابل‌تشخیص در سرم می‌باشند. درنهایت نمونه‌های جمع‌آوری‌شده برای تشخیص آزمایشگاهی HCoV ها تا ۷۲ ساعت باید در دمای یخچال نگهداری شوند ولیکن برای نگهداری طولانی‌مدت می‌بایست در دمای منفی ۷۰ درجه سانتی‌گراد منجمد شوند (۳۱).

ملاحظات ایمنی در هنگام نمونه‌گیری و انجام آزمایشات:

در مواردی که فرد سابقه مسافرت یا قرار گرفتن در معرض بیمار مبتلا به COVID-19 را داشته باشد و علائم بالینی آن حاکی از عفونت احتمالی با کرونا ویروس جدید است، در این صورت باید نمونه‌گیری تحت شرایط ایمنی زیستی سطح ۳ (BSL-3)انجام شود. جهت جداسازی ویروس از نمونه‌های بالینی، ابتدا باید نمونه با استفاده از لایزین یا روش مناسب دیگری، ضدعفونی شود (۳۲)(۳۷). دستورالعمل‌های ایمنی زیستی، مرکز کنترل بیماری‌ها (CDC) در

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-05]

ایالات‌متحده بیانگر این است که آزمایشات روتین تشخیصی بر روی نمونه‌های مشکوک یا تأیید شده بیماران SARS-CoV-2، می‌تواند در یک آزمایشگاه با سطح ایمنی زیستی -۲ (BSL-2) با استفاده از اقدامات احتیاطی استاندارد انجام شود (۳۳).

روش‌های آزمایشگاهی تشخیصی:

کشت سلول:

جداسازی HCoVs در کشت سلولی به دلیل عدم وجود رده سلولی مجاز، طولانی شدن زمان رسیدن به نتایج، نیاز به نیروی کار متخصص و عدم وجود ضدعفونی تجاری، روش کشت به‌طورمعمول برای اهداف تشخیصی انجام نمی‌شود.SARS-CoV و MERS-CoV و SARS-CoV-2 در سلول‌های میمون اولیه و رده‌های سلولی مانند Vero و LLC-MK2 رشد می‌کنند، اما کشت سلول نباید برای تأیید موارد مشکوک در آزمایشگاه‌های تشخیصی معمول به دلایل ایمنی زیستی انجام شود. بااین‌حال، جداسازی ویروس در کشت سلولی برای تهیه واکسن‌ها بسیار مهم است(۳۴).

روش‌های ایمونواسی (سنجش ایمنی):

چندین روش ایمونولوژیکی سرولوژی توسط شرکت‌های تجاری، برای تشخیص پروتئین‌های ویروسی SARS-CoV-2 و آنتی‌بادی‌ها در سرم یا پلاسما ایجاد شده است. بیشترین استفاده از نشانگرهای زیستی که برای تشخیص عفونت SARS-CoV-2 در تست‌های سنجش ایمنی تجاری مانند تست‌های ایمونواسی جریان جانبی سریع (LFIA)، ایمنی سنجی لومینیسانس شیمیایی خودکار (CLIA: Clinical Laboratory Improvement Amendments)، enzyme-linked)ELISA immunosorbent assay) و سایر روش‌ها، هدف قرار داده می‌شود آنتی‌بادی‌های IgM، IgG و IgA هستند که در افراد مشکوک از هفته دوم عفونت ویروسی تولید می‌شوند (۳۵).

سرولوژی:

سنجش‌های سرولوژیک به‌طور روزمره برای تشخیص عفونت‌های COVID-19 مورداستفاده قرار نمی‌گیرند. این آزمایش‌ها مبتنی بر خون هستند و به‌ویژه برای تعیین آنتی‌بادی‌ها برای تشخیص بیماران مبتلا به کرونا ویروس‌های جدید و نوظهور، مانند بیماری COVID-19 از اهمیت ویژه‌ای برخورداراست. در مواردی که، بیماران مبتلا در مرحله اولیه بیماری هستند ممکن است نتایج سایر تست‌ها به‌صورت منفی ظاهر شود (۳۶)، درحالی‌که می‌توان به‌وسیله روش سرولوژی نشان داد که این بیماران با ویروس مواجهه داشته و پاسخ ایمنی ایجاد کرده‌اند. در این موارد روش سرولوژی به‌عنوان یک ابزار تشخیصی مکمل استفاده می‌شود. آزمایشات سرولوژیکی، همچنین می‌تواند برای شناسایی افرادی که در پلاسما درمانی می‌توانند به‌عنوان دهنده آنتی‌بادی‌های درمانی و یا پیشگیری‌کننده باشند، موردتوجه قرار گرفته است. از طرف دیگر، سنجش‌های سرولوژیکی، برای درک اپیدمیولوژی بروز-COVID 19 و تشخیص افراد با عفونت‌های بدون علامت، بسیار مهم هستند(۳۴). تست‌های سرولوژیکی انواع مختلفی دارند که شامل: ۱)آزمایشات خنثی‌سازی، اندازه‌گیری میزان آنتی‌بادی بیمار علیه ویروس در آزمایشگاه می‌تواند بیانگر این باشد که آیا فرد آنتی‌بادی فعال و کاربردی در پاسخگویی به ویروس دارد یا خیر ۲)روش ایمونوفلورسانس با نمایش سیگنال فلورسنت در زمانی که آنتی‌بادی‌های فرد با پروتئین‌های ویروسی واکنش می‌دهند می‌تواند نمایانگر این باشد که آیا بیمار آنتی‌بادی علیه پاتوژن دارد یا نه ۳)و تست‌های الایزا که جزء سریع‌ترین تست‌های تشخیصی نسبت به سایر روش‌ها می‌باشد (۲۴).

آزمایش سریع آنتی‌ژن:

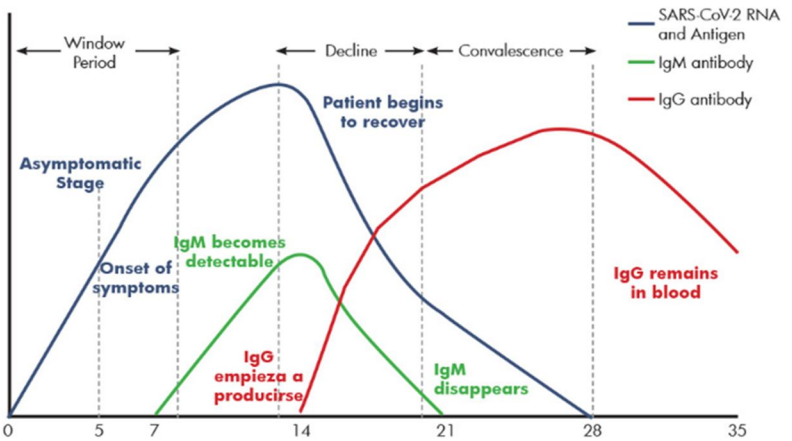
آزمایش سریع آنتی‌ژن در زمان کم و با هزینه پایین انجام می‌شود (۳۴). روش ایمونوکروماتوگرافی فلورسانس یک روش دقیق، سریع و ساده برای تشخیص پروتئین نوکلئوکپسید SARS-CoV-2 در سوآپ نازوفارنکس برای تشخیص COVID-19 است (۳۷). ایمونوگلوبولین G به‌عنوان معرف تشخیص، رویکردی است که ممکن است باعث افزایش حساسیت تست‌های سریع آنتی‌ژن برای ویروس‌های تنفسی باشد. در این روش آنتی‌بادی‌های مونوکلونال به‌طور خاص علیه SARS-CoV-2 بکار گرفته می‌شود. بهترین زمان جمع‌آوری نمونه‌ها، هنگامی است که تیترهای ویروسی بالاتر می‌باشد. در این صورت ممکن است حساسیت تشخیصی آزمایش‌های آنتی‌ژن سریع برای HCoV ها را بهبود بخشد (۳۸).

اندازه‌گیری میزان آنتی‌بادی:

مطالعات نشان می‌دهد که آنتی‌بادی IgM در روز پنجم پس از شروع بیماری و IgG دو هفته پس از شروع بیماری ظاهر می‌شوند. (۳۹). ایمونوگلوبولین M (IgM) را می‌توان از ۱۰ تا ۳۰ روز پس از عفونت COVID-19 در نمونه‌های بیماران تشخیص داد، درحالی‌که IgG را می‌توان از ۲۰ روز به بعد تشخیص داد. پاسخ آنتی‌بادی IgM زودتر از IgG شروع می‌شود، اما پس‌ازآن کاهش می‌یابد و از بین می‌رود. از طرف دیگر، IgG می‌تواند پس از عفونت برای مدت طولانی ادامه یابد و ممکن است نقش محافظتی داشته باشد (شکل ۱). در مطالعات انجام‌شده مشاهده‌شده که سطحIgG و آنتی‌بادی‌های نوترالیزان در تعداد زیادی از افرادی که از عفونت SARS-CoV-2بهبود یافته‌اند، طی ۲-۳ ماه پس از عفونت کاهش یافته است. محققان توصیه می‌کنند که برای تسهیل در تشخیص عفونت‌های COVID-19، هنگامی‌که یک نمونه سواپ نازوفارنکس به‌طور نامناسب جمع‌آوری شود علاوه بر سنجش‌های مولکولی نظیر واکنش زنجیره‌ای پلی مراز (PCR)، از روش سرولوژی نیز استفاده

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-05]

شود(۳۴). جدول ۱ نشان‌دهنده افزایش ایمنوگلوبولین‌ها در طول بیماری کورناویروس جدید و نیز نتایج حاصل از PCR می‌باشد که مطابق این جدول در مرحله اولیه شروع عفونت و پیش بالینی که هنوز ایمنوگلوبولین‌ها ظاهر نشده‌اند، نتیجه حاصل از PCR گویای آلودگی فرد به این ویروس عفونی می‌باشد. بنابراین به‌منظور تشخیص بهتر، استفاده از روش سرولوژی و مولکولی نیاز است. روش‌های تشخیصی مبتنی بر آنتی‌بادی دارای محدودیت و مزیت‌هایی می‌باشد. با توجه به اینکه تولید آنتی‌بادی ضد COVID-19 کند صورت می‌گیرد و زمان بر است، لذا این مورد به‌عنوان یک محدودیت برای این تست تشخیصی می‌باشد و برای تشخیص اولیه بهتر است ازاین‌روش استفاده نشود . از مزایای روش نامبرده می‌توان به پایداری آنتی‌بادی‌ها در مقایسه با ژنوم ویروس اشاره کرد، این امر سبب می‌شود در هنگام ذخیره سازی و حمل و نقل، نمونه‌ها کم‌تر آسیب دیده و آزمایشات مبتنی بر تشخیص آنتی‌بادی نتایج منفی کاذب کم‌تری داشته باشند. علاوه بر این، بزرگ‌ترین مزیت این روش در توانایی تشخیص عفونت‌های گذشته می‌باشد (۴۰). ازاین‌رو با انجام نمونه‌برداری تصادفی برای سنجش آنتی‌بادی از عموم مردم، نهادهای بهداشت عمومی می‌توانند سطح واقعی در معرض قرار گرفتن مردم به ویروس و در نتیجه مصونیت جامعه را بهتر تخمین بزنند. بنابراین سیستم‌های بهداشتی با شناساسی کانون‌های جغرافیایی ایمن و نیز پرخطر می‌توانند منابع بیشتری را برای جلوگیری یا مدیریت بیماری اختصاص دهند. از دیگر مزایای استفاده از تست‌های آنتی‌بادی، دسترسی بهتر نسبت به تست‌های مولکولی می‌باشد. لازم به ذکر است که یکی دیگر از موارد کاربرد تست‌های آنتی‌بادی در تشخیص افرادی که قبلاً به COVID-19 مبتلا و ایمن شده‌اند، از افراد غیر ایمن در هنگام استفاده از واکسن می‌باشد، که این کار از طریق اندازه‌گیری آنتی‌بادی‌های نوترالیزان افراد ممکن می‌گردد(۴۱). از دیگر موارد کاربرد تست‌های آنتی‌بادی، بررسی پاسخ به واکسن و پایش واکسیناسیون در جمعیت‌های واکسینه شده می‌باشد.



شکل (۱): وضعیت علائم بالینی و مقدار آنتی‌بادی‌ها در طول عفونت کورناویروس جدید (SARS-CoV-2)(۴۲)

جدول (۱): تفسیر نتایج تست‌های آنتی‌بادی و PCR در عفونت با کرونا ویروس جدید (SARS-CoV-2)(۴۲)

تفسیر	IgG	IgM	PCR	تست تشخیصی مناسب
منفی، بیمار فاقد ایمنی، احتمال ریسک بیماری	-	-	-	تمامی تست‌ها -
مرحله پیش بالینی یا بالینی کم‌تر از ۷ روز	-	-	+	تست مولکولی (PCR) +
فاز حاد عفونت ۷ تا ۱۰ روز	-	+	+	تست سرولوژی و PCR +
فاز فعال عفونت بیش از ۷-۱۰ روز (کاهش بار ویروس). تکرار تست PCR	-	+	-	تست سرولوژی +
فاز فعال عفونت بیش از ۱۴ روز (کاهش بار ویروس)	+	+	-	تست سرولوژی +
فاز فعال عفونت (پیش آگهی احتمالی خوب برای IgG)	+	+	+	تست سرولوژی و PCR +
فاز نهایی، عفونت بیش از ۱۴ روز (یا عود احتمالی)	+	-	+	تست سرولوژی و PCR +
عفونت گذشته و بهبود یافته	+	-	-	تست سرولوژی +

PCR (Polymerase chain reaction): واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-05]

تست‌های سریع:

تست‌های سریع می‌تواند بر پایه تست‌های سریع آنتی‌ژن، تست‌های سریع سرولوژیک برای آنتی‌بادی‌های IgG یا IgM و یا تست‌های مولکولی باشد. برجسته‌ترین تست سریع RT-PCR، آزمایش Xpress SARS-CoV-2 توسط شرکت Cepheid، ایالات‌متحده است که با استفاده از سیستم بنچ مارک GenXpert، فقط در ۴۵ دقیقه نتیجه می‌دهد. این یک آزمایش مولکولی سریع و خودکار نقطه مراقبت (point of care= POC) است که امکان تشخیص کیفی COVID-19 را در سواب نازوفارنکس، نمونه شستشوی بینی یا نمونه‌های آسپیره شده از افراد مشکوک فراهم می‌کند. آزمایش فقط به مدت‌زمان یک دقیقه برای آماده سازی نمونه نیاز دارد، که از فناوری کارتریج Xpress Cepheid استفاده می‌کند و مناطق مختلف ژنوم ویروسی را هدف قرار می‌دهد. همچنین مجوز استفاده به‌صورت اورژانسی از سازمان غذا و دارو (FDA) را دریافت کرده است. آزمایش —Abbott_ID Now COVID-19 جدیدترین روش است که COVID-19 را فقط در ۵ دقیقه شناسایی می‌کند. این آزمایش یک POC مولکولی است و از فناوری تقویت اسید نوکلئیک isothermal برای تشخیص کیفی RNA ویروسی برای تشخیص COVID-19 استفاده می‌کند. این آزمایش را می‌توان در هر مکان، مانند بیمارستان‌ها، درمانگاه‌ها انجام داد. آزمایش مولکولی به‌منظور شناسایی ژن RNA پلیمراز وابسته به RNA (RdRp) می‌باشد و می‌توان از نمونه‌های سواب های گلو، بینی، نازوفارنکس و دهان و حلق و بینی استفاده کرد. این کیت اخیراً مجوز FDA و EUA را دریافت کرده است و به‌عنوان یک دستاورد قابل‌توجه در سراسر جهان مشاهده می‌شود (۳۴). جدا از تشخیص مولکولی، چندین آزمایش سریع POC مبتنی بر LFIA توسط چندین شرکت تولید شده است که امکان شناسایی آنتی‌بادی IgM و IgG در پاسخ به عفونت SARS-COV-2 را در افراد مورد نظر را فراهم می‌کند. یکی از برجسته‌ترین تست‌های سریع، تست سریع COVID-19 است که توسط BioMedomics، امریکا ساخته شده است و آنتی‌بادی‌های IgM و IgG را تنها در ۱۰ دقیقه در افراد مورد نظر تشخیص می‌دهد. این تست به حداقل حجم نمونه، یعنی ۲۰ میکرولیتر خون سرانگشت یا ۱۰ میکرولیتر سرم ویا پلاسما نیاز دارد. این امر به هیچ ابزاری یا کارمند آموزش دیده احتیاج ندارد، بنابراین می‌تواند در هر مکان و زمان به‌ویژه در کشورهای درحال‌توسعه با منابع کم مراقبت‌های بهداشتی مورد استفاده قرار گیرد. این روش برای کارکنان مراقبت‌های بهداشتی در جهت شناسایی سریع افراد مشکوک به COVID-19 ایده آل است(۴۳). از آزمایشات سریع می‌توان به‌عنوان روش(In vitro diagnostics) IVDمکمل روش‌های RT-PCR موجود استفاده کرد، که می‌تواند به تشخیص بسیار بهتری از COVID-19 منجر شود .گزارش‌های اخیر از بسیاری از کشورهای اروپایی حاکی از آن است که اکثر تست‌های سریع برای COVID-19 تهیه شده از چین در بیش از ۷۰درصد موارد برای COVID-19 عملکرد خوبی نداشته‌اند . علاوه بر این، ازآنجاکه IgM و IgG فقط می‌توانند حدود دو هفته پس از شروع عفونت در خون پدیدار شوند، نیازبه سایر موارد نشان‌دهنده بیماری در مراحل اولیه عفونت وجود دارد. یکی از آزمایشات که پیشرفت شگفت آوری را داشته، آزمایشات CLIA IgM, IgG DZ-Lite SARS-CoV-2 است که توسط Diazyme در ایالات‌متحده آمریکا ساخته شده است و مجوز سازمان غذا و داروی امریکا و اروپا (FDA EUA) را دریافت کرده است. این آزمایشات بر اساس روش سنجش ایمنی لومینیسانس شیمیایی (CLIA) انجام شده و بر روی آنالایزر خودکار شیمیایی Diazyme DZ-Lite 3000 Plus با توان ۵۰ تست در ساعت قابل‌اجرا می‌باشد. مهم‌ترین مزیت آنالیزهای CLIA خودکار مبتنی بر سنجش COVID-19 در مقایسه با آزمایشات سریع LFIA، توان بسیار بالای تعداد نمونه‌هایی است که قابل تجزیه‌وتحلیل هستند و همچنین توانایی انجام آزمایشات بالینی بیشتر، مانند پروتئین C واکنشی (CRP)، که می‌بایست درافراد مشکوک به COVID-19 حتماً کنترل شود (۴۴). همچنین چندین کیت تشخیصی سریع، توسط سازندگان و شرکت‌های تجاری مختلف تولید و به بازار عرضه شده است که بیشتر آن‌ها تشخیص ایمونو گلوبولین های IgG و IgM تولید شده در افراد را، در پاسخ به عفونت COVID-19 هدف قرار می‌دهند(جدول ۲) (۳۵). هر یک از این کیت‌های تشخیصی جهت شناسایی کورناویروس جدید نیازمند، نمونه‌های بالینی متنوعی است که دارای اختصاصیت و حساسیت متفاوتی می‌باشد. ازاین‌رو سازندگان این کیت‌های تشخیصی توصیه می‌کنند که نتایج نباید به‌عنوان تنها معیار تشخیص COVID-19 در نظر گرفته شود و باید همراه با سایر اطلاعات بالینی (و گاهی نتایج اپیدمیولوژیک و / یا سایر نتایج آزمایشگاهی) در دسترس پزشک تفسیر شود. برای مثال در کیت تشخیصی سریع IgG/IgM GICA (2019-nCoV)، از نتایج آزمایش این محصول نمی‌توان به‌عنوان پایه‌ای برای تشخیص استفاده کرد یا در کیت تشخیصی دیگر تحت عنوان SARS-CoV-2 IgM/IgG Antibody به دلیل همولیز، لیپمی و آلودگی میکروبیولوژیکی به‌راحتی می‌توانند نتیجه آزمایش را تحت تأثیر قرار دهند و علاوه بر این بیماران دارای نقص ایمنی، HIVمثبت و یا دریافت کنندگان پیوند که پاسخ ایمونولوژیک آن‌ها مختل شده است لذا نتایج آن‌ها می‌تواند منجر به تشخیص نادرست شود.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-05]

ازاین‌رو به‌منظور غلبه برمحدودیت های تکنیکی فعلی، می‌بایست یک روش تقویت مولکولی جایگزین شود.-Loop mediated isothermal amplification (LAMP) یک روش تقویت اسید نوکلئیک جدید است که DNA را با ویژگی، راندمان و سرعت بالا در شرایط ایزوترمال تقویت می‌کند. در این روش از مجموعه‌ای از چهار آغازگر (پرایمر) ویژه طراحی شده و DNA پلیمراز با فعالیت جابجایی رشته استفاده می‌شود (۴۵). برای سنتز DNA هدف تا ۱۰۹ نسخه در کم‌تر از یک ساعت در دمای ثابت ۶۵ درجه سانتی‌گراد ایجاد می‌کند. LAMP از ویژگی و حساسیت بالایی برخوردار است و انجام آن نیز ساده است. ازاین‌رو این تست تبدیل به یک روش تقویت ایزوترمال بسیار محبوب در زیست شناسی مولکولی، با کاربرد در تشخیص پاتوژن شده است. LAMP برای تولید یک الگوی تک‌رشته‌ای نیاز به ترموسیکلر ندارد. فن آوری LAMP در مقایسه با PCR با ثبات و حساس‌تر در تشخیص است. اعتقاد بر این است که سنجش LAMP می‌تواند یک نامزد بالقوه برای سیستم درمان ازنقطه‌نظرتشخیص COVID-19 باشد.

حساسیت تست سریع COVID-19 IgM / IgG سریع ۸۸/۶۶ درصد است که انتظار می‌رود کم‌تر از حساسیت تست‌ها بر اساس سنجش‌های واکنش LAMP باشد(۴۶). مشابه دستگاه iHealth Alignکه توسط iHealth ، ایالات‌متحده، برای سنجش قند خون مبتنی بر گوشی‌های هوشمند استفاده می‌شود. دستگاه الکتروشیمیایی POC مبتنی بر تلفن‌های هوشمند برای تشخیص نشانگرهای زیستی SARS-CoV-2 می‌تواند برای آزمایش سریع در مقیاس بزرگ در افراد مشکوک به COVID-19 در نقطه نیاز بسیار مفید باشد، تلفن‌های هوشمند در همه جا موجود است و از باتری داخلی بهره می‌برند و مجهز به ظرفیت ذخیره سازی بزرگ، قدرت پردازش پیشرفته هستند. علاوه بر این، آن‌ها دارای سیستم موقعیت یابی جهانی (GPS) برای برچسب گذاری مکانی جزئی از داده‌ها، اتصال به اینترنت و قابلیت ذخیره نتایج پردازش شده در حافظه داخلی دستگاه و همچنین یک صفحه نمایش بزرگ هستند. (۶، ۳۵).

جدول (۲): مقایسه روش‌های تشخیصی آنتی‌بادی(۴۷-۴۹)

مدت‌زمان انجام آزمایش	مقدار نمونه	نوع نمونه پیشنهادی	اختصاصیت	حساسیت	نوع کیت تشخیصی
۱۵-۱۰ دقیقه	۱۰ میکرولیتر	خون، سرم، پلاسما	٪۹۹،۸	٪۸۹/۵۶	(2019- nCoV) IgG/IgM GICA
۲۰-۱۵ دقیقه	۱۰ میکرولیتر سرم یا پلاسما؛ 20 میکرولیتر خون نوک انگشت یا خون	سرم، پلاسما، خون، خون انگشت	٪۹۶	٪۸۲	تست سریع آنتی‌بادی SARS-CoV-2, IgM / IgG
۲۰-۱۵ دقیقه	۱۰ میکرولیتر سرم یا پلاسما؛ ۲۰ میکرولیتر خون کامل	سرم، پلاسما، خون	٪۹۹/۲	٪۹۴/۱	NADAL® COVID-19 IgG/IgM Test
۲۰-۱۵ دقیقه	10میکرولیتر سرم یا پلاسما؛ 20 میکرولیتر خون نوک انگشت یا خون	سرم، پلاسما، خون، خون انگشت	٪۹۵/۱۰	٪۹۴/۱۰	تست تک مرحله کورناویروس جدید و تست آنتی‌بادی IgM/IgG

IgG: ایمونوگلوبولین G

IgM : ایمونوگلوبولین M

روش‌های مولکولی:

مهم‌ترین تست‌های مولکولی بر پایه تست‌های واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمرازPCR () می‌باشد. تست PCR جهت شناسایی اسید ریبونوکلئیک ویروسی (RNA) کروناویروس جدیداستفاده می‌شود. در این روش از نمونه‌های تنفسی فوقانی و تحتانی استفاده می‌شود. نمونه‌های تنفسی تحتانی همچون خلط و یا لاواژ برونکوآلوئولار بهتر از سواب های اوروفارنژیال یا نازفارنژیال در نظر گرفته می‌شود اما به دست آوردن آن‌ها دشوارتر است و معمولاً این بیماران دارای سرفه‌های خشک و بدون خلط می‌باشند. لازم به ذکر است اگرچه نمونه‌های تنفسی بیش‌ترین بازده را دارند اما ویروس می‌تواند در نمونه‌های دیگر ازجمله مدفوع و خون نیز تشخیص داده شود (۳۴). بیشترین روش مورد تأیید برای تشخیص COVID-19 بر اساس روش RT-PCR است که در سطح جهانی برای مقابله با بیماری همه گیر به کار گرفته شده است. این تست‌ها می‌تواند با تعیین توالی (sequencing)تأیید نهایی شود. ژن‌های ویروسی که تاکنون برای استفاده در آزمایشات مولکولی هدف قرار گرفته‌اند شامل: ژن‌هایN ، E، S و ژن آنزیم RNA پلیمراز وابسته به RNA (RdRP)و ORF1a / b هستند. به زبان ساده، شناسایی نواحی اختصاصی کووید -۱۹ در این ژنها بیانگر آلودگی فرد با ویروس SARS-CoV-2 و یا ابتلا به بیماری کووید -۱۹ است(50) (۵۱).

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-05]

این روش‌ها ژن‌هایORF1a / b ، ORF1b-nsp14، RdRp، S، E یا N از SARS-CoV-2 را هدف قرار می‌دهند. البته لازم به ذکر است برخی ازاین‌روش‌ها غیراختصاصی هستند که می‌توانند هم SARS-CoV-2 و هم سایر بتاکرونا ویروس‌های مرتبط مانند SARS-CoVرا تشخیص دهند، همچنین تست‌های مولکولی پان کرونا ویروس نیز موجود است که هر ویروس متعلق به خانواده کرونا را تشخیص می‌دهد. روش‌های ملکولیRT-PCR شامل انواع تک مرحله‌ای ودومرحله می‌باشد.از مزایای روش تک مرحله‌ای پرایمر اختصاصی‌تر است، سریع تنظیم می‌شود، چون آزمایش در یک لوله انجام می‌شود احتمال آلودگی و از بین رفتن RNA کاهش می‌یابد. برای بالا بردن حساسیت بیشتر در تشخیص COVID-19 آندمیک، نمونه‌های تنفسی فوقانی باید در چند روز اول شروع علائم جمع‌آوری شود.مراحل آزمایش شامل موارد زیر است: (i)جمع‌آوری نمونه. (ii) بسته بندی (ذخیره سازی) و حمل نمونه‌های بالینی . (iii)انتقال نمونه به آزمایشگاه و ارائه اطلاعات موردنیاز (IV) .انجام آزمایش در آزمایشگاه که شامل مراحل مختلف مانند: استخراج ژنوم RNA، ساخت DNA مکمل، انجام آزمایش RT_PCR و انجام آزمایشات تاییدی مانند آزمایشات تعیین توالی است (v) .گزارش نتایج. روش RT-PCR به تجهیزات آزمایشگاهی پیشرفته‌ای نیاز دارد که اغلب در یک آزمایشگاه مرکزی قرار دارد که می‌بایست سطح ایمنی زیستی ۲ و یا بالاتررا دارا باشد (۴۶، ۵۲). از تست‌های مولکولی می‌توان جهت شناسایی کورناویروس جدید (SARS-CoV-2) از طریق تشخیص ژن‌های انولوپ (E) و RNA پلی مراز وابسته به RNA (RdRp) بهره برد. سنجش ژن E برای غربالگری خط اول مورد استفاده قرار گرفته، درحالی‌که از ژن RdRp برای آزمایش تأییدیه استفاده می‌شود(۳۵، ۴۵، ۵۳). بر اساس یافته‌های مطالعات انجام شده می‌توان گفت که نوع نمونه بالینی و زمان نمونه‌گیری بر حساست تست RT-PCR اثر می‌گذارد. در بیمارانی که به ونتیلاتور متصل هستند نمونه BAL توصیه می‌شود، درحالیکه در افرادی که ابتدای بیماری هستند نمونه نازوفارنکس توصیه می‌شود، اما به هر دلیلی اگر گرفتن نمونه نازوفارنکس ممکن نبود از نمونه اوروفارنکس می‌توان استفاده کرد. در افرادی که علائم بالینی COVID-19 و تست CT مثبت دارند ولی جواب PCR با نمونه‌گیری اروفارنکس منفی می‌شود توصیه می‌شود چند روز بعد نمونه نازوفارنکس گرفته شود(۵۴). در کل در افرادی که علائم بالینی مثبت به اضافه تست CT مثبت دارند بایستی حداقل دو نمونه بالینی از دو مکان از بیمار (سواپ نازوفارنکس و اروفارنکس) گرفته شود. با توجه به اینکه این ویروس توسط گلیکوپروتیئن‌های خود که همان Spike است به رسپتورهای سلول‌های ریه ACE2 متصل می‌شود، بعد از گذشت تنها چند روز سطح وسیعی از سلول‌های ریه آلوده می‌شود و سیستم ایمنی بدن جهت مقابله با ویروس وارد عمل شده و به منطقه هجوم می‌آورد و طوفان سایتوکاینی را ایجاد می‌کند و در واقع دیگر سیستم دفاعی بدن با ویروس درگیر نیست بلکه با بافت ریه درگیر می‌شود، سیستم ایمنی دچار سردرگمی شده و پاسخ اتوایمیون ایجاد می‌کند، نوتروفیلها آنزیم‌های زیادی به بیرون پمپ می‌کند و هم سلول آلوده و هم سلول سالم ریه را از بین می‌برد، Tcell ها نیز دستور مرگ برنامه ریزی شده به سلول‌های سالم و آلوده می‌دهند و منجر به تخریب سطح وسیعی از بافت ریه می‌شود و لایه حفاظتی ریه که همان سلول‌های اپیتلیالی هستند از بین می‌رود. در این مرحله تعداد ویروس بسیار کاهش می‌یابد چرا که دیگر سلول سالمی جهت اتصال و فیوژن باقی نمانده است. در این زمان است که با توجه به اینکه CT بیمار مثبت است و علائم بالینی هم دارد اما نتایج تست RT-PCR به‌صورت کاذب منفی می‌شود(۵). در روش RT-PCR به دلیل اینکه این تست در آزمایشگاهی با سطح ایمنی زیستی بالا و توسط افراد مجرب باید انجام شود، در نتیجه ناگزیر به ذخیره سازی نمونه در یخچال و انتقال آن به آزمایشگاه مورد نظر می‌باشیم، در این میان احتمال از بین رفتن ژنوم RNA کرونا ویروس جدید وجود دارد که این خود از حساسیت تست می‌کاهد. در نتیجه زمان لازم برای به دست آوردن نتایج حداکثر ۲ یا ۳ روز می‌باشد. در شرایط اورژانس که با شیوع COVID-19 روبرو هستیم، این فرایند وقت گیر نه تنها بسیار نامطلوب است، بلکه ازآنجایی‌که کار با ویروس نیاز به ایمنی زیستی سطح بالا را دارد نیز برای پرسنل آزمایشگاهی خطرناک است. بعلاوه، روش‌های تجاری مبتنی بر PCR گران هستند و به تخصص فنی بستگی دارند، همچنین قابل‌ذکر است وجود RNA یا DNA ویروسی همیشه نشان‌دهنده بیماری حاد نیست در روش RT-PCR ژنوم ویروس شناسایی می‌شود ولی این روش توانایی شناسایی ویروس زنده و فعال را ندارد (۴۶). همچنین بدیهی است که سنجش زنجیره پلیمراز معکوس (RT-PCR) قادر به تشخیص COVID-19 در مراحل اولیه عفونت نیست، و گزارش‌هایی مبنی برگزارش موارد منفی کاذب در دو هفته ابتدای بیماری وجود دارد. دلیل نتایج منفی کاذب در تست RT-PCR می‌تواند به دلیل نمونه‌گیری نامناسب و عدم جذب اسید نوکلئیک در نمونه‌های بالینی باشد و یا مقدار کم و ناکافی مواد سلولی برای تشخیص باشد و یا در آزمایشگاه فرایند استخراج ژنومی به درستی صورت نگرفته باشد و یا در آزمایشگاه در مراحل مختلف شرایط تست PCR استاندارد نباشد و یا به دلیل مهار کننده‌ها واکنش موفقیت آمیز نباشد . بنابراین، نیاز به توسعه روش‌های بهتری در شرایط آزمایشگاهی است که بتواند عفونت COVID-19 را به‌طور قابل اعتمادتری در افراد، حتی در مراحل اولیه تشخیص دهد (۳۵). استفاده از تست RT-

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-05]

PCR دارای مزایا و معایبی در روند تشخیص می‌باشد. لذا برای بهبود تشخیص نیاز به نمونه‌گیری با کیفیت بالا می‌باشد. در کنار اینکه انجام این تست نیاز به کارشناسان مجرب و آزمایشگاه‌های تخصصی استاندارد با سطح ایمنی زیستی بالا دارد. (۲۷).

آزمایش ترکیبی Ab/RT-PCR:

مطالعات نشان می‌دهد که آزمایش ترکیبی Ab/RT-PCR تعداد منفی کاذب را نسبت به RT-PCR به تنهایی کاهش می‌دهد. ترکیب دو روش آنتی‌بادی تام (IgG, IgM, IgA)و RT-PCR حساسیت تشخیص را از ۶۰ درصد (در مورد PCR) به بیشتر از ۸۰ درصد افزایش می‌دهد. تشخیص دقیق افراد آلوده به-SARS-CoV 2برای مهار شیوع جهانی بیماری COVID-19 ضروری است. با توجه به مطالبی که گفته شد، سنجش‌های تشخیصی فعلی مبتنی بر RT-PCR قوی نیستند، زیرا چندین گزارش مبنی بر آلودگی با ویروس SARS-CoV-2که با روش RT-PCR تشخیص داده نشده است، وجود دارد. علاوه بر این، این آزمایشات را تنها می‌توان در آزمایشگاه‌های مرکزی مجهز و توسط کارشناسان ماهر انجام داد. بنابراین، این آزمایشات ازنظر کاربردی محدود هستند و نمی‌توانند به‌صورت گسترده به‌ویژه در کشورهای درحال‌توسعه، مناطق دور افتاده و مناطقی که دارای آزمایشگاه‌های غیر متمرکز هستند، مورد استفاده قرار بگیرند. آزمایشات سریع LFIA و خودکار CLIA برای IgMو IgG می‌تواند آزمایش موجود RT-PCR را برای تشخیص عفونت با ویروس مولد COVID-19 را تکمیل کند. با این وجود، قبل از استفاده از آن‌ها برای تشخیصCOVID-19 ، نیاز به ارزیابی دقیق عملکرد بالینی آزمایش‌های تجاری وجود دارد. اکتشاف نشانگرهای زیستی همچنین می‌تواند نقش مهمی در شناسایی نشانگرهای زیستی جدید که در مراحل اولیه عفونت-SARS-CoV 2درگیر هستند بازی کند. آزمایش Abbott ID Now — COVID-19 که اخیراً توسعه یافته و عفونت با SARS-CoV-2 را در ۵ دقیقه تشخیص می‌دهد، یک دستاورد قابل‌توجه است و می‌تواند نقش متحول کننده‌ای در آزمایشات تشخیصی COVID-19 داشته باشد. تلاش‌های مداوم بیشتر منجر به دستیابی به روش‌های قابل اعتماد، قوی، سریع و آسان برای پیاده‌سازی تشخیص آزمایشگاهی و تشخیص هوشمند برایCOVID-19 می‌شود. برای واکنشی مؤثر در بهداشت عمومی در مورد همه‌گیری‌های مهم و جهان‌شمول هنوز شکاف دانشی قابل‌توجهی در تحقیقات بهداشتی وجود دارد که بسیار مهم و حائز اهمیت است. این امر نیاز به سرمایه گذاری همه ملت‌ها در تحقیقات بهداشتی و تبدیل شدن آن به‌عنوان جزء لاینفک سیستم‌های مراقبت بهداشتی را نشان می‌دهد (۳۵).

مقایسه عملکرد روش‌های مختلف آزمایشگاهی برای تشخیص بیماری کووید-۱۹ بر اساس مطالعات انجام شده در جدول ۳ آورده شده است.

جدول (۳): مقایسه عملکرد روش‌های مختلف آزمایشگاهی برای تشخیص بیماری کووید-۱۹ بر اساس مطالعات انجام شده

روش تشخیصی	مدت‌زمان انجام تست	اختصاصیت	دقت	مزایا	معایب	رفرنس
تشخیص بر مبنای اسید نوکلئیک	۶-۴ ساعت	٪۹۶	دقت ضعیف، درصد دقیق آن مشخص نشده است	حساسیت بالا، امکان عملکرد در مقیاس بزرگ	نیاز به کارشناسان حرفه‌ای و آموزش دیده مجرب، تجزیه‌وتحلیل داده‌های دشوار، گران قیمت، دقت کم‌تر، نتایج منفی کاذب یا مثبت کاذب	(۵۵، ۵۶)
تشخیص بر مبنای تعیین توالی ژن	نامشخص	ضعیف	ضعیف	پیدا کردن ارزیابی ویروس، شناسایی جهش	نیاز به کارشناسان حرفه‌ای و آموزش دیده مجرب، وقت گیر، هزینه بر و تجزیه‌وتحلیل پیچیده هستند.	(57)
تشخیص برمبنای آنتی‌بادی	۱۵ دقیقه	٪۹۰/۶۳	٪۸۸/۶۶	دردسترس بودن، بدون نیاز به متخصص	دوره پنجره طولانی، دشواری در تشخیص به‌موقع، تشخیص تنها پس از عفونت، بعد از ۳ تا ۶ روز برای IgM و ۸ روز برایIgG	(58, 59)
تشخیص برمبنای آنتی‌ژن	۳۰-۱۵ دقیقه	ضعیف	ضعیف	دسترسی راحت	غیر قابل اعتماد	(55)
تشخیص بالینی	۲ روز	مشخص نشده	ضعیف	یافتن بیماری از طریق تصویربرداری	نیاز به متخصصان و پرسنل آموزش دیده، مشکلات در تشخیص زودهنگام	(60)

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-05]

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به گستردگی جهانی کرونا ویروس جدید (SARS-CoV-2) تشخیص سریع و زودهنگام افراد آلوده و تهیه نمونه مناسب جهت درمان به‌موقع بیماران و کنترل همه‌گیری از اهمیت بسیاربالای برخوردار می‌باشد.

هرچند روش‌های تشخیص متعددی برای تشخیص عفونت با ویروس SARS-CoV-2 وجود دارد ولیکن از زمان شیوع عفونت SARS-CoV-2، سنجش real-time RT-PCR نقش مهمی در تشخیص بالینی و بررسی موارد مشکوک داشته است. از طرفی با توجه به رشد سریع و تقاضای بسیار زیاد برای انجام آزمایش برای تعداد زیادی از بیماران مشکوک و بدون علامت و یا بیماریابی فعال برای افراد با سابقه تماس نزدیک، نیاز فراوان برای روش‌های تشخیصی سریع، ساده، حساس و دارای تکرار پذیری به وجود آمده است. از طرفی با ظهور سویه‌های جهش‌یافته و انجام واکسیناسیون در ابعاد گسترده همگام با افزایش تعداد روش‌ها و کیت‌های موجود برای شناسایی SARS-COV-2، چالش‌های تشخیصی بسیاری به وجود آمده است.

روش‌های تصویربرداری جدید مانندCT اسکن قفسه سینه، که برای غربالگری اولیه عفونت‌های ریوی مورد استفاده قرار می‌گیرد، می‌تواند نشانگر شدت و مرحله بیماری نیز باشد و به‌طور گسترده به‌عنوان یک روش تشخیصی بالینی کارآمد پذیرفته شده است(۶۱، ۶۲)اگرچه در تشخیص بیماری کووید-۱۹ از علائم کلینیکی، آزمایشات روتین خون و سی‌تی‌اسکن کمک گرفته می‌شود ولیکن تشخیص آزمایشگاهی بیماری کووید-۱۹ در حال حاضر به چهار روش عمده متکی است: تست‌های مولکولی مبتنی بر تشخیص ژنومیک به‌ویژه روش real-time RT-PCR ، تست‌های سنجش ایمنی که اصطلاحاً روش‌های سرولوژی نامیده می‌شود و مبتنی بر تشخیص کلاس‌های مختلف آنتی‌بادی است، تست‌های تشخیصی آنتی‌ژن‌های ویروسی و آزمایشات تعیین توالی برای تأیید تشخیص و همچنین تعیین سویه‌های جهش‌یافته. برای اولین بار روش تعیین توالی ژنومی برای تشخیص ویروس عامل بیماری در مراحل اولیه شیوع COVID-2019 استفاده شد. به‌طورمعمول، قطعه‌ای از ژنوم و یا ژنوم کامل SARS-CoV-2 از بیماران جمع‌آوری شد و در مناطق ترمینال، توالی یابی و تکثیر شد. تجزیه‌وتحلیل فیلوژنتیک ژنوم ها برای تمایز SARS-CoV-2 از ویروس‌های دیگر مورد استفاده قرار گرفت(۱۱) از معایب این روش این است که بسیار گران و پیچیده بوده و به‌ویژه برای تعداد زیادی از نمونه‌ها مفید نمی‌باشد. سپس، روش‌های RT-PCR که اساساً بر روی ژن‌های ویروسی کار می‌کنند، به‌طور گسترده‌ای برای شناسایی RNA ویروسی مورد استفاده قرار گرفتند، اگرچه RT-PCR استاندارد طلایی برای تشخیص اسید نوکلئیک است، اما عملکرد آن‌ها برای تجزیه‌وتحلیل نمونه به غلظت کافی از RNA ویروسی در نمونه بیمار نیاز دارد. این می‌تواند یک عیب اساسی باشد زیرا غلظت RNAویروسی در نمونه بیمار ثابت نیست و نمی‌توان مقدار آن‌ها را کنترل کرد تا تجزیه‌وتحلیل نمونه برآورده شود. عواملی مانند نوع نمونه، زمان نمونه‌گیری و کیفیت نمونه ازنظر مواد سلولی به شدت می‌تواند روی غلظت RNA تأثیر بگذارد و گاهی منجر به نتایج منفی کاذب گردد. اگرچه بهترین نمونه جهت شناسایی ویروس در روزهای نخستین، سواب نازوفارنکس و در روزهای آتی، نمونه‌های گرفته شده از دستگاه تنفس تحتانی می‌باشد ولیکن نمونه‌های متعددی همچون سواب گلو و مدفوع نیز می‌تواند جهت شناسایی استفاده شود ولی به‌طور قابل‌توجهی درصد جداسازی RNA ویروسی در این نمونه‌ها کاهش می‌یابد. نکته دیگری که می‌تواند در کیفیت نمونه مؤثر باشد نحوه انتقال نمونه است، ازآنجایی‌که ویروس SARS-CoV-2 یک RNA ویروس می‌باشد، ژنوم RNA آن نسبت به شرایط محیطی از خود حساسیت بیشتری نشان می‌دهد که این می‌بایست در انتقال و نگهداری مناسب نمونه‌ها مد نظر قرار داده شود.

از طرف دیگر روش RT-PCR آنقدر حساس است که گاهی اوقات می‌تواند منجر به نتایج مثبت کاذب در نتیجه آلودگی محیطی در هنگام نمونه‌گیری و یا انجام آزمایشات نیز شود. لذا آلودگی متقاطع یا واکنش متقابل یکی دیگر از اشکالات عمده مرتبط با-RT PCRمی‌باشد، که می‌تواند منجر به تعدادی از نتایج منفی کاذب و یا مثبت کاذب شود. بر این اساس در مواردی، در بیماران در معرض خطر ابتلا به عفونت SARS-CoV-2، شواهد CT قفسه سینه از پنومونی ویروسی ممکن است قبل از نتایج آزمایشRT-PCR ، مثبت شود(۶۳).. بنابراین، ترکیب استراتژی‌های مختلف تشخیصی برای آزمایش نمونه‌های عفونی و همبستگی کامل با نتایج سی‌تی‌اسکن و تجزیه‌وتحلیل دقیق آنان می‌تواند در توضیح مربوط به نتایج کاذب، در تشخیص مبتنی بر RT-PCR کمک کند . پس از مشکلات نمونه‌گیری و پردازش نمونه‌ها، مشکل اصلی دیگر مرتبط با روش RT-PCR پیچیدگی در عملیات است زیرا در این روش تشخیصی، برای انجام مراحل پیچیده استخراج RNA و PCR به کارشناسان آموزش دیده مجرب و بسیار واجد شرایط احتیاج است. علاوه بر این، مشخص شده است که در هنگام جمع‌آوری و پردازش نمونه‌ها، امکان آلودگی تکنسین‌ها و پزشکان و گسترش بیماری و ایجاد یک محیط آلوده برای جامعه وجود دارد، لذا نیاز به آزمایشگاه‌هایی با ایمنی زیستی بالا، به‌کارگیری تجهیزات حفاظت

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-05]

شخصی مناسب و به‌کارگیری مناسب روش‌های آسپتیک آزمایشگاهی وجود دارد (۶۴).

در کنار تمامی این موارد، یکی از مزایای تشخیص مولکولی بیماری کووید-۱۹ مبتنی بر روش RT-PCR، امکان محاسبه کمی میزان بار ویروسی (viral load) است. ازآنجایی‌که مقدار بار ویروسی بیشتر، با افزایش خطر انتقال و شدت بیماری همراه است، لذا تعداد ویروس در بدن بیماران COVID-19با شدت عفونت و مرگ‌ومیر آنان دارای ارتباط است، در واقع یک رابطه مستقل بین بار ویروسی بالا و مرگ‌ومیر وجود دارد. بر این اساس تعیین بار ویروسی و تعداد ویروس در نمونه بیماران به پزشک در طبقه‌بندی بیماران مبتلا و انتخاب روش‌های درمانی مناسب کمک می‌کند (۵۳).

سنجش‌های سرولوژیکی از سال ۲۰۰۱ به دلیل کارایی در یافتن منبع عفونت، در برابر روش‌های مولکولی، به یک مزیت تبدیل شده‌اند. تشخیص سرولوژی مبتنی بر آنتی‌بادی با زمان اعلام نتیجه سریع در مقایسه با RT-PCR هزینه کم‌تری دارد. در حال حاضر کیت‌های مختلفی با روش‌های ELISA با موفقیت آماده شده‌اند تا آنتی‌بادیهای اصلی IgM و IgG را در برابر نوکلئوکپسیدها و پروتئینهای ویروسی شناسایی کنند (۷).. بااین‌حال، نقطه ضعف اصلی این روش‌ها این است که تشخیص مبتنی بر سرولوژی در تشخیص به‌موقع ویروس کرونا غیر ممکن است. روش‌های مولکولی و سرولوژی مورد بحث در این بررسی، دارای مزایای خاص و معایب ذاتی خود هستند و جدول ۳ مزایا و معایب این روش‌ها را با یکدیگر مقایسه می‌نماید. مطالعات نشان می‌دهد که آزمایش ترکیبی آنتی‌بادی / مولکولی (Ab/RT-PCR) تعداد منفی کاذب را نسبت به روش RT-PCR به تنهایی کاهش می‌دهد. ترکیب دو روش آنتی‌بادی تام (IgG, IgM, IgA)و RT-PCR حساسیت تشخیص را از ۶۰ درصد (در مورد PCR) به بیشتر از ۸۰ درصد افزایش می‌دهد.

در مطالعه‌ای که چائویان و همکارانش در سال ۲۰۲۰ انجام دادند، از یک روش رونویسی معکوس LAMP (RT-LAMP) برای شناسایی SARS-CoV-2 در افراد مبتلا به COVID-19 استفاده کردند. این روش در مقایسه با روش RT-PCR بسیار آسان است و نیازی به پرسنل ماهر یا ابزار تخصصی ندارد. علاوه بر این روش RT-LAMP می‌تواند تشخیص را در مدت‌زمان ۶۰ دقیقه انجام دهد، که سریع‌تر از روش RT-PCR است(۱۰).

بر اساس نتایج به دست آمده توصیه می‌گردد، برای رفع چالش‌های به وجود آمده در تشخیص دقیق COVID-19بهتر است تنها به تشخیص اسید نوکلئیک به تنهایی و یا در پاره‌ای از موارد به نتایج حاصل از انجام یک بار تست بسنده نکنیم. و شاید بهتر باشد با ترکیب روش‌ها و آزمایشات مختلف امر تشخیص انجام شود.

لذا ترکیب روش‌های تشخیصی مبتنی بر آنتی‌ژن، آنتی‌بادی (IgG, IgM, IgA) با روش مولکولی RT-PCR به همراه نتایج حاصل از سی‌تی‌اسکن می‌تواند کمک موثری در شناسایی افراد آلوده بنماید. بنابراین به‌منظور تشخیص سریع و مؤثر، علاوه بر نوع نمونه بالینی، نحوه صحیح نمونه‌گیری، و انتقال به طریق مناسب نمونه، انتخاب روش مناسب و نوع کیت تشخیصی می‌تواند در صحت شناسایی تشخیص بسیار تأثیرگذار باشد. بطوریکه پیشنهاد می‌گردد، برای انتخاب کیت‌های تشخیصی، علاوه بر دقت در حساسیت، اختصاصیت و تکرار پذیری از کیت‌هایی استفاده کرد که قادر به شناسایی سویه‌های جهش‌یافته نیز باشد.

از طرف دیگر، تشخیص دقیق و زودهنگام افراد آلوده به SARS-CoV-2، برای مهار شیوع جهانی بیماری کووید-۱۹ و کنترل اپیدمی حاصل از آن، بسیار مهم است. ازآنجایی‌که بیماری کووید- ۱۹ تبدیل به یک تهدید بالینی برای جمعیت عمومی و پرسنل مراقبت‌های بهداشتی در سراسر جهان شده است. ازاین‌رو نیاز به ساخت، توسعه و استفاده از تست‌های سریع با کارایی بالا، به دلیل سهولت در نمونه‌گیری، سرعت بالا و اعلام نتایج سریع در تشخیص بیماران و افراد در تماس با آنان به شدت احساس می‌گردد، چرا که این کیت‌ها می‌توانند در آینده در غربالگری‌ها، بیماریابی‌های فعال و بررسی گسترده وضعیت ایمنی پس از واکسن مورد استفاده قرار گیرند.

تشکر و قدردانی

با تشکر و قدر دانی از تمامی اعضا کادر درمانی و بهداشتی و تمامی آحاد جامعه و جامعه بشری که در امر کنترل این بیماری جانفشانی نمودند و با آرزوی شادی و آرامش برای روح‌های پاک مدافعان سلامت.

References:

1. Escalera-Antezana JP, Lizon-Ferrufino NF, Maldonado-Alanoca A, Alarcón-De-la-Vega G, Alvarado-Arnez LE, Balderrama-Saavedra MA, et al. Clinical features of cases and a cluster of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in Bolivia imported from Italy and Spain. TRAVEL MED INFECT DI 2020: 101653.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-05]

2. Ge H, Wang X, Yuan X, Xiao G, Wang C, Deng T, et al. The epidemiology and clinical information about COVID-19. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2020: 1.
3. Dong X, Cao Yy, Lu Xx, Zhang Jj, Du H, Yan Yq, et al. HFNC 2019. Allergy 2020.
4. Padhi A, Kumar S, Gupta E, Saxena SK. Laboratory Diagnosis of Novel Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Infection. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19, J Res Health Sci , Springer; 2020. p. 95-107.
5. Moccia F, Gerbino A, Lionetti V, Miragoli M, Munaron L, Pagliaro P, et al. COVID-19-associated cardiovascular morbidity in older adults: a position paper from the Italian Society of Cardiovascular Researches. JCR 2020: 1-29.
6. Cheng MP, Papenburg J, Desjardins M, Kanjilal S, Quach C, Libman M, et al. Diagnostic testing for severe acute respiratory syndrome–related coronavirus-2: A narrative review. Ann Intern Med 2020.
7. Zhou P, Yang X-L, Wang X-G, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. Nature 2020;579(7798): 270-3.
8. Luan J, Jin X, Lu Y, Zhang L. SARS-CoV-2 spike protein favors ACE2 from Bovidae and Cricetidae. J Med Virol 2020.
9. Valencia DN. Brief review on COVID-19: the 2020 pandemic caused by SARS-CoV-2. Cureus 2020;12(3).
10. Yan C, Cui J, Huang L, Du B, Chen L, Xue G, et al. Rapid and visual detection of 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) by a reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay. Clin Microbiol Infect. 2020.
11. Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. lancet. 2020;395(10224): 565-74.
12. Wu A, Peng Y, Huang B, Ding X, Wang X, Niu P, et al. Genome composition and divergence of the novel coronavirus (2019-nCoV) originating in China. CELL HOST MICROBE. 2020.
13. Walls AC, Park Y-J, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Veesler D. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. Cell. 2020.
14. Wrapp D, Wang N, Corbett KS, Goldsmith JA, Hsieh C-L, Abiona O, et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. Science. 2020;367(6483): 1260-3.
15. Yuan M, Wu NC, Zhu X, Lee C-CD, So RT, Lv H, et al. A highly conserved cryptic epitope in the receptor binding domains of SARS-CoV-2 and SARS-CoV. Science. 2020;368(6491): 630-3.
16. Tavakoli A, Vahdat K, Keshavarz M. Novel coronavirus disease 2019 (COVID-19): an emerging infectious disease in the 21st century. ISMJ. 2020;22(6): 432-50.
17. Heymann DL, Shindo N. COVID-19: what is next for public health? Lancet. 2020;395(10224): 542-5.
18. Pang J, Wang MX, Ang IYH, Tan SHX, Lewis RF, Chen JI-P, et al. Potential rapid diagnostics, vaccine and therapeutics for 2019 novel coronavirus (2019-nCoV): a systematic review. Clin Med. 2020;9(3): 623.
19. Moghissi K, Dixon K, Gibbins S. Does PDT have potential in the treatment of COVID 19 patients? Photodiagnosis Photodyn Ther. 2020: 101889.
20. Kim ES, Chin BS, Kang CK, Kim NJ, Kang YM, Choi J-P, et al. Clinical course and outcomes of patients with severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection: a preliminary report of the first 28 patients from the Korean cohort study on COVID-19. J Korean Med Sci. 2020;35(13).
21. Burhan E, Prasenohadi P, Rogayah R, Isbaniyah F, Reisa T, Dharmawan I. Clinical Progression of COVID-19 Patient with Extended Incubation Period, Delayed RT-PCR Time-to-positivity, and Potential

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-05]

Role of Chest CT-scan. Acta Med Indones. 2020;52(1): 80.

22. Eze EC, Chenia HY, El Zowalaty ME. Acinetobacter baumannii biofilms: effects of physicochemical factors, virulence, antibiotic resistance determinants, gene regulation, and future antimicrobial treatments. Infect. Drug Resist. 2018;11: 2277.
23. Wu F, Zhao S, Yu B, Chen Y-M, Wang W, Song Z-G, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. Nature. 2020;579(7798): 265-9.
24. Carter LJ, Garner LV, Smoot JW, Li Y, Zhou Q, Saveson CJ, et al. Assay techniques and test development for COVID-19 diagnosis. J Am Chem Soc; 2020.
25. Waller JV, Allen IE, Lin KK, Diaz MJ, Henry TS, Hope MD. The Limited Sensitivity of Chest Computed Tomography Relative to Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 Infection: A Systematic Review on COVID-19 Diagnostics. Invest Radiol. 2020.
26. Tutar U, Çelik C, Karaman İ, Ataş M, Hepokur C. Anti-biofilm and antimicrobial activity of Mentha pulegium L essential oil against multidrug-resistant Acinetobacter baumannii. Trop J Pharm Res 2016;15(5): 1039-46.
27. Chan JF-W, Yip CC-Y, To KK-W, Tang TH-C, Wong SC-Y, Leung K-H, et al. Improved molecular diagnosis of COVID-19 by the novel, highly sensitive and specific COVID-19-RdRp/Hel real-time reverse transcription-PCR assay validated in vitro and with clinical specimens. J. Clin. Microbiol. 2020;58(5).
28. Ye Q, Wang B, Mao J, Fu J, Shang S, Shu Q, et al. Epidemiological analysis of COVID-19 and practical experience from China. J Med Virol. 2020.
29. Holshue ML, DeBolt C, Lindquist S, Lofy KH, Wiesman J, Bruce H, et al. First case of 2019 novel coronavirus in the United States. N Engl J Med. 2020.
30. Long Q-X, Liu B-Z, Deng H-J, Wu G-C, Deng K, Chen Y-K, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. Nat Med. 2020: 1-4.
31. Richards JJ, Reed CS, Melander C. Effects of N-pyrrole substitution on the anti-biofilm activities of oroidin derivatives against Acinetobacter baumannii. Bioorg Med Chem Lett. 2008;18(15): 4325-7.
32. Singh R, Nadhe S, Wadhwani S, Shedbalkar U, Chopade BA. Nanoparticles for control of biofilms of Acinetobacter species. Materials. 2016;9(5): 383.
33. Ohadi M, Forootanfar H, Dehghannoudeh G, Eslaminejad T, Ameri A, Shakibaie M, et al. Antimicrobial, anti-biofilm, and anti-proliferative activities of lipopeptide biosurfactant produced by Acinetobacter junii B6. Microb Pathog. 2020;138: 103806.
34. Loeffelholz MJ, Tang Y-W. Laboratory diagnosis of emerging human coronavirus infections–the state of the art. Emerg Microbes Infect. 2020;9(1): 747-56.
35. Vashist SK. In vitro diagnostic assays for COVID-19: recent advances and emerging trends. MDPI; 2020.
36. Krüttgen A, Cornelissen CG, Dreher M, Hornef M, Imöhl M, Kleines M. Comparison of four new commercial serologic assays for determination of SARS-CoV-2 IgG. J Clin Virol. 2020: 104394.
37. Muzammil S, Khurshid M, Nawaz I, Siddique MH, Zubair M, Nisar MA, et al. Aluminium oxide nanoparticles inhibit EPS production, adhesion and biofilm formation by multidrug resistant Acinetobacter baumannii. Biofouling. 2020;36(4): 492-504.
38. Bruning A, Aatola H, Toivola H, Ikonen N, Savolainen-Kopra C, Blomqvist S, et al. Rapid detection and monitoring of human coronavirus infections. New Microbes New Infect. 2018;24: 52-5.
39. Long Q-X, Tang X-J, Shi Q-L, Li Q, Deng H-J, Yuan J, et al. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. Nat. Med. 2020: 1-5.
40. Bastos ML, Tavaziva G, Abidi SK, Campbell JR, Haraoui L-P, Johnston JC, et al. Diagnostic accuracy

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-05]

of serological tests for covid-19: systematic review and meta-analysis. BMJ. 2020;370.

41. Yan Y, Chang L, Wang L. Laboratory testing of SARS-CoV, MERS-CoV, and SARS-CoV-2 (2019-nCoV): Current status, challenges, and countermeasures. J Med Virol . 2020;30(3): e2106.
42. Babapour E, Haddadi A, Mirnejad R, Angaji S-A, Amirmozafari N. Biofilm formation in clinical isolates of nosocomial Acinetobacter baumannii and its relationship with multidrug resistance. Asian Pac J Trop Biomed. 2016;6(6): 528-33.
43. Deeks JJ, Dinnes J, Takwoingi Y, Davenport C, Leeflang MM, Spijker R, et al. Diagnosis of SARS-CoV-2 infection and COVID-19: accuracy of signs and symptoms; molecular, antigen, and antibody tests; and routine laboratory markers. Cochrane Database Syst Rev. 2020(4).
44. Lin D, Liu L, Zhang M, Hu Y, Yang Q, Guo J, et al. Evaluations of the serological test in the diagnosis of 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) infections during the COVID-19 outbreak. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2020: 1-7.
45. Ching L, Chang SP, Nerurkar VR. COVID-19 Special Column: Principles Behind the Technology for Detecting SARS-CoV-2, the Cause of COVID-19. Hawaii J Health Soc. 2020;79(5): 136.
46. Nguyen T, Duong Bang D, Wolff A. 2019 novel coronavirus disease (COVID-19): paving the road for rapid detection and point-of-care diagnostics. Micromachines. 2020;11(3): 306.
47. Zhou P, Yang X-L, Wang X-G, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. Discovery of a novel coronavirus associated with the recent pneumonia outbreak in humans and its potential bat origin. BioRxiv. 2020.
48. Xiao AT, Gao C, Zhang S. Profile of specific antibodies to SARS-CoV-2: the first report. J. Infect. 2020.
49. Ramachandran R, Sangeetha D. Antibiofilm efficacy of silver nanoparticles against biofilm forming multidrug resistant clinical isolates. J Pharm Innov. 2017;6(11, Part A): 36.
50. Yueying W, Song W, Zhao Z, Chen P, Liu J, Li C. The Impacts of Viral Inactivating Methods On Quantitative RT-PCR for COVID-19. Virus Res. 2020: 197988.
51. Yip CC, Ho CC, Chan JF, To KK, Chan HS, Wong SC, et al. Development of a Novel, Genome Subtraction-Derived, SARS-CoV-2-Specific COVID-19-nsp2 Real-Time RT-PCR Assay and Its Evaluation Using Clinical Specimens. Int J Mol Sci. 2020;21(7).
52. Yip CC-Y, Ho C-C, Chan JF-W, To KK-W, Chan HS-Y, Wong SC-Y, et al. Development of a novel, genome subtraction-derived, SARS-CoV-2-specific COVID-19-nsp2 real-time RT-PCR assay and its evaluation using clinical specimens. Int J Mol Sci. 2020;21(7): 2574.
53. Awadasseid A, Wu Y, Tanaka Y, Zhang W. Initial success in the identification and management of the coronavirus disease 2019 (COVID-19) indicates human-to-human transmission in Wuhan, China. Int J Biol Sci. 2020;16(11): 1846.
54. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. N Engl J Med. 2020.
55. Becherer L, Borst N, Bakheit M, Frischmann S, Zengerle R, von Stetten F. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP)–review and classification of methods for sequence-specific detection. Anal. Methods. 2020;12(6): 717-46.
56. Tripathy S, Kabir R, Arafat SY, Saxena SK. Futuristic Technologies for Advanced Detection, Prevention, and Control of COVID-19. Diagnostic Strategies for COVID-19 and other Coronaviruses: Springer; 2020. p. 161-73.
57. Yin C. Genotyping coronavirus SARS-CoV-2: methods and implications. Genomics. 2020;112(5): 3588-96.
58. Bryant JE, Azman AS, Ferrari MJ, Arnold BF, Boni MF, Boum Y, et al. Serology for SARS-CoV-2:

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-05]

apprehensions, opportunities, and the path forward. Sci Immunol. 2020;5(47).

59. Deeks JJ, 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).
60. 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): 568-76.
61. Salehi S, Abedi A, Balakrishnan S, Gholamrezanezhad A. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): a systematic review of imaging findings in 919 patients. AJR Am J Roentgenol. 2020;215(1): 87-93.
62. Garg M, Gupta P, Maralakunte M, Kumar-M P, Sinha A, Kang M, et al. Diagnostic accuracy of CT and radiographic findings for novel coronavirus 2019 pneumonia: Systematic review and meta-analysis. Clin Imaging. 2020.
63. Lan L, Xu D, Ye G, Xia C, Wang S, Li Y, et al. Positive RT-PCR test results in patients recovered from COVID-19. JAMA. 2020;323(15): 1502-3.
64. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Euro Surveill. 2020;25(3): 2000045.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-05]

Original Article

CHALLENGES OF LABORATORY SAMPLING AND DIAGNOSIS OF SARS-COV-2 VIRUS OF DISEASE (COVID-19)

Ashraf Bakhshi Mofrad Kashani[1], Masoumeh Asalani Mehr [2], Parisa Abedi Elkhichi [3]*

Received: 21 January, 2021; Accepted: 07 October, 2021

Abstract

Background & Aims: Given the prevalence of SARS-CoV-2 worldwide, it is essential to identify people infected with the virus and determine its different types to control the global outbreak of COVID-19. The results of the studies are controversial, so this study examines these diagnostic challenges, including the types of diagnostic methods, the type and time of sampling, and even the clinical condition of the disease.

Materials & Methods: In this systematic review, studies conducted from 2003 to May 2020 in English on the challenges of laboratory sampling and diagnostics of coronaviruses and SARS-CoV-2 virus were reviewed. These articles were obtained by searching for keywords in databases, PubMed, Scopus and Embace as well as Google scholar search engine and duplicate articles were removed from the study.

Results: In the initial search, 98 articles were extracted that after eliminating duplicates and evaluating the title and abstract, finally 64 articles had the necessary conditions for review and were included in the study. The results of the studies showed that, although RT-PCR is the gold standard for the diagnosis of Covid-19 disease, but it requires a sufficient concentration of viral RNA in the patient sample for proper evaluation of the sample. Since the concentration of viral RNA in the patient sample is not constant, this can affect the results obtained. Although the best sample to detect the virus in the first days is the nasopharyngeal swab and in the following days, samples taken from the lower respiratory tract, but also numerous samples such as throat swabs and feces can also be used for identification. However, the percentage of viral RNA isolation in these samples is significantly reduced.

Conclusion: Due to the global prevalence of Covid-19 disease, early diagnosis of patients, quarantine and timely treatment are of great importance in controlling the epidemic. The use of correct diagnostic tests allows physicians to perform immediate interventions for patients. Although molecular diagnosis is the best method, studies show that it is better not to be satisfied with the results of an experiment and to use a combination of different methods and tests to solve diagnostic challenges.

Keywords: Laboratory Diagnosis, Sampling, NAAT, COVID-19 ،SARS-CoV-2

Address: Dr. Masoumeh Aslanimehr, Medical Microbiology Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran
Tel: +982833336001-3162
Email: dr.aslanimehr@gmail.com

SOURCE: STUD MED SCI 2021: 32(3): 174 ISSN: 2717-008X

[1] *PhD Student in Bacteriology, Department of Microbiology, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran*
[2] *Medical Microbiology Associate Professor Qazvin University of Medical Sciences Research Center, Qazvin, Iran (Corresponding Author)*
[3] *PhD Student in Bacteriology, Department of Microbiology, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran*

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-05]