

**VIRUSUL SARS-CoV-2. ASPECTE COMPARATIVE ALE METODELOR DE DETECȚIE****SARS-CoV-2 VIRUS. COMPARATIVE ASPECTS OF DETECTION METHODS****Walid Kansoun<sup>1,2</sup>, Anca Ilea<sup>1,2,3</sup>, Mihaela Badea<sup>1,3</sup>**<sup>1</sup>Universitatea Transilvania din Brașov, Facultatea de Medicina, Brașov, Romania<sup>2</sup>Spitalul Clinic de Urgență Brașov, Romania<sup>3</sup>Institutul de Cercetare-Dezvoltare al Universității Transilvania din Brașov, Centrul de cercetare fundamentală și strategii preventive în medicină, Brașov, Romania

walid.kansoun@gmail.com

*Autor corespondent: Walid Kansoun, email walid.kansoun@gmail.com***Abstract**

*Introduction.* During the COVID pandemic, there was a need for rapid and accessible detection of SARS-CoV-2 viral infections to assess the exact number of infected people worldwide to take appropriate medical measures.

*Objective/Aims:* The paper proposes an analysis of expert information regarding the particularities of the SARS-CoV-2 virus and the possibilities of detecting anti-SARS-CoV-2 antibodies and viral antigens.

*Materials and Methods:* Studies from the specialized literature that presented information about the working procedures and configurations of anti-SARS-CoV-2 antibody and viral antigen detection systems from the pandemic period and later were considered.

*Results:* RT-PCR testing, the current gold standard for the diagnosis of COVID-19, permits the detection of viral genetic material, a sensitive technique that allows rapid detection in the early phase of the virus. It has been identified that serological tests are recommended for the diagnosis of COVID-19 patients during the acute and early subacute phases. Rapid tests have been developed for the detection of viral antigens or human anti-SARS-CoV-2 antibodies in various biological samples, with a view to frequent monitoring of people working in environments with a high risk of infection.

*Conclusion:* In recent years, significant progress has been made in the field of cell biology, combining high-performance studies carried out in research laboratories with testing and validation of methods quickly implemented in the specialized laboratories of infectious diseases hospitals and not only but also with the development of rapid tests with the possibility of direct purchase by the population.

**Rezumat**

*Introducere:* În timpul pandemiei COVID s-a impus necesitatea detectării rapide și accesibile a infecțiilor virale cu SARS-CoV-2 pentru a evalua numărul exact de persoane infectate în toată lumea cu scopul de a lua măsurile medicale potrivite.

*Obiectivul principal al studiului:* Lucrarea își propune o analiză a informațiilor de specialitate privind particularitățile ale virusului SARS-CoV-2 și a posibilităților de detectare a anticorpilor anti-SARS-CoV-2 și a antigenelor virale.

*Material și metodă:* S-au considerat studii din literatura de specialitate care au prezentat informații despre metodele de lucru și configurațiile sistemelor de detecție a anticorpilor anti-SARS-CoV-2 și a antigenelor virale din perioada pandemiei și ulterior.

*Rezultate:* Testarea RT-PCR, standardul de aur actual pentru diagnosticarea COVID-19, favorizează detectarea materialului genetic viral, tehnică sensibilă și care permite detectarea rapidă și în fază incipientă a virusului. S-au identificat că teste serologice sunt recomandate pentru diagnosticarea pacienților COVID-19 în timpul fazei acute și subacute precoce. S-au dezvoltat teste rapide pentru detectarea antigenelor virale sau a anticorpilor umani anti-SARS-CoV-2 din diferite probe biologice, în vederea monitorizării frecvente a persoanelor care își desfășurau activitatea în mediile cu risc crescut de infecție.

*Concluzii:* În ultimii ani s-au realizat progrese semnificative în domeniul biologiei celulare, combinând studii performante realizate în laboratoarele de cercetare cu testări și validări de metode implementate rapid în laboratoarele de specialitate ale spitalelor de boli infecțioase și nu numai, dar și cu elaborarea de teste rapide cu posibilitatea de achiziționare directă de către populație.

**Key-words:** COVID-19, SARS-CoV-2 diagnostic, RT-PCR tests, serologic tests, rapid tests**Cuvinte cheie:** COVID-19, SARS-CoV-2 diagnostic, teste RT-PCR, teste serologice, teste rapide.

## Introducere

Sindromul respirator acut sever coronavirus 2 (SARS-CoV-2) este un coronavirus extrem de transmisibil și patogen care a apărut la sfârșitul anului 2019 responsabil pentru pandemia de boală respiratorie acută denumită (COVID-19), având consecințe asupra sănătății speciei umane și siguranței publice (Ge et al., 2023).

Potrivit unui studiu retrospectiv primul caz cunoscut de infecție datează din 8 decembrie 2019. Pe 31 decembrie 2019, Comisia Municipală de Sănătate din Wuhan a informat publicul despre un focar de pneumonie de cauză neidentificabilă, focarul fiind raportat ulterior la Organizația Mondială a Sănătății (OMS) (Wu & McGoogan, 2020).

În data de 11 februarie 2020, Comitetul internațional pentru taxonomia virusurilor a numit noul coronavirus „SARS-CoV-2”, iar OMS a denumit boala provocată de acest virus „COVID-19” (Coronaviridae Study Group, 2020).

OMS a declarat ulterior răspândirea noului coronavirus că fiind o pandemie la nivel Mondial cu peste 8,7 milioane de cazuri confirmate până în data de 21 iunie 2020 (Al Huraimel et al., 2020).

Din martie 2020, în timp ce COVID-19 în China a devenit eficient controlat de către autoritățile chineze, numărul cazurilor în Europa, SUA și alte regiuni a continuat să crească exponențial. Până în data de 11 august 2020, au fost raportate peste 20 de milioane de cazuri de infecție și 733.000 de decese în 216 de țări și regiuni de pe toate cele șase continente ale globului (Dong, Du & Gardner, 2020).

În timp, dezvoltarea și optimizarea unor metode de testare rapidă și accesibilă a devenit o necesitate pentru a evalua numărul exact de persoane infectate la nivel local/național/ mondial, cu scopul de a considera la nivelul populației măsurile cele mai potrivite de diagnosticare, tratament și urmărire a acestor persoane, ulterioară diagnosticării.

## Obiectivul principal al studiului

Lucrarea își propune o analiză a informațiilor de specialitate privind particularități ale virusului SARS-CoV-2 și a posibilităților de detectare a anticorpilor anti-SARS-CoV-2 și a antigenelor virale.

## Material și metodă

S-au considerat studii din literatura de

specialitate din ultimii 5 ani, care au prezentat informații despre metodele de lucru și configurațiile sistemelor de detecție a anticorpilor anti-SARS-CoV-2 și a antigenelor virale din perioada pandemiei și ulterior.

Studiile selectate și analizate au vizat în special metodele de diagnostic folosite pentru detecția genelor virale, anticorpilor anti-SARS-CoV-2 și antigenelor virale, considerând teste care au vizat atât aspecte structurale și genetice, dar și teste diagnostice, cu diferite principii de detecție.

S-au menționat și corelații clinice și paraclinice asociate pacientului cu COVID.

## Rezultate și discuții

### Probe biologice utilizate

Studiile din literatura de specialitate au indicat că SARS-CoV-2 poate fi detectat în salivă, sânge, spută și urină înainte de dezvoltarea pneumoniei virale, iar unii pacienți nu dezvoltă deloc pneumonie. Persoanele asimptomatice sunt surse potențiale de infecție cu SARS-CoV-2 și controlează dinamica de transmitere a focarului actual. Valoarea R0 SARS-CoV-2 a fost estimată între 1,5-3,5. În comparație cu valorile R0 ale altor coronavirusuri arată că diferența este nesemnificativă (Rothe et al., 2020).

Deși SARS-CoV-2 a fost detectat dintr-o varietate de produse biologice respiratorii, inclusiv tampoane de la nivelul gâtului, salivă orofaringiană posterioară, tampoane nazofaringiene, spută și lichid bronșic, încărcătura virală este mai mare în probele preluate de la nivelul tractului respirator inferior (Han et al., 2020). În plus, acidul nucleic viral a putut fi detectat în probele preluate din tractul intestinal sau din sânge, chiar și atunci când probele respiratorii au fost negative (Zhang W et al., 2020).

Încărcătura virală SARS-CoV-2 în probele preluate din căile respiratorii superioare este de obicei mai mare în prima săptămână de apariția a simptomelor, și prin urmare riscul de difuziune a virusului în căile respiratorii inferioare este foarte mare încă de la începutul infecției (Wölfel et al., 2020).

Perioada de incubație a SARS-CoV-2 este de la 1 la 12 zile. Însă perioada medie de incubație este de 4 zile (Guan et al., 2020). Încărcătura virală poate scădea încă de la debutul simptomatologic al bolii (Zou et al., 2020). De

aceea, rezultatele fals negative au fost frecvente atunci când s-au utilizat tampoane orale, fiind necesare mai multe metode de detectare pentru confirmarea diagnosticului de COVID-19 (Li, 2020).

### Aspecte structurale și genetice ale coronavirusurilor

Coronavirusurile fac parte din subfamilia de virusuri numită Coronavirine din familia Coronaviridelor, ce fac parte din ordinul Nidovirales (Cui et al., 2019). Inițial infecțiile cu coronavirus au fost considerate nepatogene pentru specia umană, însă la sfârșitul anilor 1960 au fost descoperite coronavirusurile umane 229 E și OC4 (Wan et al., 2020).

La specia umană, manifestarea bolii este de obicei respiratorie sau digestivă. Se cunosc șapte specii de coronavirus care provoacă infecții la om dintre care patru, HCoV 229E, HCoV NL63, HCoV HKU1 și HCoV OC43, au simptome asemănătoare unei răceli. Celelalte specii și anume SARS-CoV (sindromul respirator acut sever coronavirus), MERS-CoV (sindromul respirator din Orientul Mijlociu coronavirus) au origine zoonotică și provoacă boli respiratorii severe, iar în unele cazuri chiar moartea.

Virusul raportat de autoritățile naționale din China a fost identificat oficial de grupul de studiu al coronavirusului ca sindrom respirator acut sever coronavirus 2 (SARS-CoV-2), iar boala dată de acest patogen a fost denumită Coronavirus 19 (COVID-19) (Hasöksüz et al., 2020).

SARS-CoV-2 folosește același receptor ca SARS-CoV pentru a pătrunde în celula umană, receptorul fiind reprezentat de enzima de conversie a angiotensinei 2 (ACE2) (Hoffmann et al., 2020). Pe lângă ACE2 uman (hACE2), SARS-CoV-2 recunoaște și ACE2 de porc, dihor, maimuță Rhesus, pisică, pangolin, iepure și câine explicând astfel capacitatea acestui virus de a infecta diferite specii (Chandrashekar et al., 2020).

SARS-CoV-2 este un betacoronavirus nou ce împarte 79% din genomul său cu SARS-CoV și 50% cu MERS-CoV (Zhou et al., 2020). Organizarea genomului său este asemănătoare cu a altor beta-coronavirusuri. Cele șase cadre funcționale de citire deschisă (ORF) sunt aranjate de la 5' la 3': replicază (ORF1a / ORF1b), spic (S), înveliș (E), membrană (M) și nucleocapsidă (N). În plus conține șapte ORF intercalate între genele structurale (Chan et al., 2020).

Majoritatea proteinelor care codifică

SARS-CoV-2 au o lungime similară cu proteinele corespunzătoare din SARS-CoV. Dintre cele patru gene structurale, SARS-CoV-2 împarte mai mult de 90% de aminoacizi cu SARS-CoV, cu excepția genei S care diferă de cea prezentă în SARS-CoV (Zhou et al., 2020).

Proteina SARS-CoV-2 S are o dimensiune completă de 1273 aminoacizi, mai lungă decât cea a SARS-CoV (1.255 aminoacizi) și SARSr-CoV de lilieci cunoscute (1.245-1.269 aminoacizi). Este distinctă de proteinele S ale celor mai mulți membri din subgenul Sarbecovirus, împărțind asemănări ale secvenței de aminoacizi de 76,7-77,0% cu SARS-CoV de la civete și oameni, 75-97,7% cu coronavirusuri de liliac în același subgen și 90,7-92,6% cu coronavirusuri pangolinice (Zhou et al., 2020).

Pentru a evalua varietatea genetică a difritelor tulpini de SARS-CoV-2, The 2019 Novel Coronavirus Resource of China National Center for Bioinformation a sistematizat 77801 de secvențe genomice ale SARS-CoV-2 detectate la nivel global și a identificat un total de 15018 mutații, inclusiv 14.824 de polimorfisme mononucleotidice (Zhao et al., 2020).

### Diagnosticul de laborator

Pe lângă țintirea genomului, o altă abordare de diagnostic pentru SARS-CoV-2 a vizat detectarea anticorpilor produși de sistemul imunitar al persoanei infectate împotriva virusului (Li et al., 2020).

Diagnosticul de laborator și implicit confirmarea infecțiilor cu MERS-CoV include în general (i) detectarea moleculară a ARN-ului MERS-CoV; (ii) detectarea antigenului MERS-CoV; (iii) teste pentru a identifica răspunsul umoral la infecția anterioară MERS-CoV la om (Mackay & Arden, 2015).

### Analiza ARN viral prin metoda RT-PCR

Deteția genelor virale (acidul ribonucleic-ARN- viral) prin tehnica de reverstranscriptază prin reacția de polimerizare în lanț (RT-PCR) este considerată ca fiind cea mai eficientă metodă de diagnostic în infecția cu SARS-CoV-2.

Prin secvențierea ARN metagenomică și izolarea virusului din probele de lichid de lavaj pulmonar de la pacienții cu pneumonie severă, echipe independente de savanți chinezi au identificat că agentul cauzal al acestei boli emergente

este un betacoronavirus care nu era cunoscut până acum (Wu et al., 2020).

RT-PCR este o tehnică de diagnostic cu grad de sensibilitate ridicat utilizată pentru detectarea și cuantificarea copiilor de ARN specifice unei gene dintr-un produs biologic chiar și în probele cu concentrație mică de încărcătură genetică (Yüce et al., 2021). Concentrația produsului final de amplificare este direct proporțională cu cantitatea inițială a ARN-lui, cuantificarea realizându-se folosind un detector fluorescent specific genei prezente pe ARN-ul analizat (Doak & Zair, 2012).

Testarea moleculară prin PCR a acidului nucleic SARS-CoV-2 este considerată standardul de aur în diagnosticul infecției cu SARS-CoV-2 (Wang et al., 2020a; Wang et al., 2020b).

Diferite kituri de detectare a acidului nucleic viral care vizează genele ORF1b (inclusiv RdRp), N, E sau S sunt disponibile comercial. Iar în funcție de tehnologia folosită, timpul de detecție variază de la câteva minute la ore (Konrad et al., 2020).

Pe 10 ianuarie 2020, descoperirile genomice au fost făcute publice și secvențele au fost trimise în depozitul de secvențe al GenBan care este baza de date a secvențelor genetice, o colecție adnotată a tuturor secvențelor de ADN disponibile publicului (Wu et al., 2020). Punerea gratuită la dispoziție a întregii secvențe a genomului SARS-CoV-2 în bazele de date publice a făcut mai ușor pentru specialiști construirea primerilor și sondelor necesare efectuării diagnosticului de laborator al COVID-19. După identificarea virusului, OMS a recomandat reacția în lanț a polimerazei cu transcripție inversă în timp real (RT-PCR în timp real) ca abordarea de diagnostic de primă linie pentru detectarea infecției cu SARS-CoV-2 la pacienții suspecți (Corman et al., 2020).

Deși testarea prin RT-PCR este considerată metoda recomandată în diagnosticul de infecție cu SARS-CoV-2, aceasta are limitele sale neputând detecta infecția în fazele secundare ale bolii și poate fi o metodă inaccesibilă în unele părți ale lumii datorită aparatului complex necesar efectuării testului și prețului relativ ridicat față de alte metode de diagnostic.

În infecția cu SARS-CoV-2, datele au fost limitate cu privire la cea mai bună strategie pentru detectarea cazurilor prin gruparea probelor și evaluarea modului în care acestea influențează sensibilitatea analizei RT-PCR.

De aceea, o strategie urmată în acea perioadă a fost cea de *pooling*, introdusă de către Dorfman în 1943, strategia presupunând amestecarea probelor împreună pentru a efectua un singur test. Această strategie a fost utilă în identificarea facilă a tuturor probelor pozitive folosind mai puține teste de diagnostic (Xiong et al., 2019), cu economii semnificative pentru bugetele laboratoarelor de testare și reducerea presiunii pe personalul medical implicat în diagnosticare (Ramirez et al., 2023).

Studiul realizat de Simas și colab. folosind 1576 participanți (recrutați din comunitatea Universității Tufts), a prezentat o corespondență de 100% a probelor pooling testate față de cele ale testelor individuale respective (Simas et al., 2021).

Studiul a arătat limitări ale tehnicii de pooling din cauza sensibilității scăzute a probelor cu încărcătură virală scăzută din cauza diluției (Abdelrazik, Said & Abdelaziz, 2023).

Un alt dezavantaj al testării grupate este că toți indivizii din grupurile pozitive trebuie să fie retestați pentru a identifica individul pozitiv. Câteva abordări pot fi utilizate pentru a facilita acest lucru: indivizilor din grupurile pozitive li se poate cere să se întoarcă pentru retestare sau fiecare persoană furnizează două mostre cu al doilea tampon depozitat pentru retestare (Simas et al., 2021).

### Testele serologice

Majoritatea testelor serologice folosite în diagnosticul de SARS-CoV-2 se bazează pe principiul tehnicilor imunoenzimice (ELISA). ELISA este o metodă de testare care poate detecta și cuantifica proteine umane, anticorpi, antigene și alte peptide prin legarea acestora de un ligand specific prezent în sistemul de testare. Analiza finală poate fi de natură colorimetrică, chemiluminiscentă sau fluorescentă. Această metodă permite obținerea unor rezultate foarte specifice și sensibile într-un timp relativ scurt de 1-5 ore (Falzone et al., 2021).

SARS-CoV-2 poate fi diagnosticat indirect prin detectarea anticorpilor produși în sângele pacientului într-o anumită perioadă de timp de la infectare. Un dezavantaj este reprezentat de probabilitatea de apariție a reacțiilor încrucișate între anticorpii generați împotriva SARS-CoV-2 și anticorpii generați împotriva altor coronavirusuri. O frecvență ridicată a reacțiilor încru-



cișate s-a observat la testarea unor probe de plasmă prelevate de la mai mulți pacienți infectați cu SARS-CoV-2 (Lv et al., 2020).

Testele serologice SARS-CoV-2 care detectează anticorpi împotriva proteinei N sau S pot să completeze diagnosticul molecular, în special în fazele secundare ale bolii sau pot fi folosite pentru studii retrospective (Zhang W et al., 2020b). Cu toate acestea, amploarea și durata răspunsurilor imune sunt încă neclare, iar testele serologice disponibile dispun o sensibilitate și specificitate variabilă, fapt care trebuie luat în considerare atunci când se decide asupra testelor serologice și interpretarea rezultatelor lor sau utilizarea lor potențială în viitor pentru evaluarea răspunsului umoral. În plus, domeniul de legare a receptorilor (RBD), care este situat pe suprafața proteinei S, este de asemenea o țintă de interes pentru a detecta prezența anticorpilor specifici SARS-CoV-2 (Tai et al., 2020).

Mai multe studii depuse în MedXriv și BioXriv, au indicat că atât nivelurile anti-SARS-CoV-2-IgM, cât și IgG au crescut treptat odată cu fazele de infecție, IgM fiind detectat încă din ziua 3 de la infectare și atinge valori maxime între două și trei săptămâni (Long et al., 2020). În schimb, anticorpii IgG specifici SARS-CoV-2 pot fi prezenți încă din ziua 4 de la infectare și ating valorile maxime după 17 zile de la debutul infecției (Zhang B et al., 2020).

Cu toate acestea, un studiu a demonstrat că profilarea longitudinală a ambilor anticorpi la o populație de 63 de pacienți cu COVID-19 nu a prezentat o ordine cronologică specifică în ceea ce privește seroconversia IgM și IgG (Long et al., 2020), lucru care a fost observat și la pacienții infectați cu SARS-CoV și MERS-CoV (Hsueh et al., 2004). În plus, nu pare să existe vreo legătură între ratele de seroconversie și vârsta, genul sau durata internării în spital a pacienților infectați (Long et al., 2020).

Aceste descoperiri privind seroconversia anticorpilor specifici anti-SARS-CoV-2 împotriva proteinei virale S sugerează importanța detectării atât a anticorpilor IgM, cât și a IgG pentru a confirma o infecție pozitivă. Similar cu ceea ce a fost raportat pentru SARS-CoV și MERS-CoV, ambele niveluri de IgM și IgG par să fie corelate cu severitatea bolii, astfel pacienții cu o simptomatologie de COVID-19 mai severă prezintă valori mai ridicate de IgM și IgG (Okba

et al., 2020).

Studii de specialitate au evaluat diferite teste serologice SARS-CoV-2 disponibile, inclusiv ELISA (testele imunoenzimatic), LFA (testele imunologice cu flux lateral), CLIA (testele imunologice chemiluminescente) sau ECLIA (testele imunologice electrochimice). Această evaluare a avut ca scop identificarea unor teste de înaltă calitate pentru pacienții simptomatici. S-au identificat că teste serologice sunt recomandate pentru diagnosticarea pacienților COVID-19 în timpul fazei acute și subacute precoce, cu o utilitate limitată a IgM pentru diagnosticul serologic al SARS-CoV-2 (Coste et al., 2021).

### Testele rapide antigenice și anticorpice

Odată cu creșterea numărului de persoane cu o infecție suspectă de COVID-19, a devenit necesară adoptarea unor strategii de diagnostic mai rapide și mai ieftine pentru a desfășura o supraveghere mai extinsă a situației epidemiologice (Cerutti et al., 2020). Pentru a face față acestei situații de urgență, au fost dezvoltate diferite teste rapide pentru detectarea antigenelor virale sau a anticorpilor umani anti-SARS-CoV-2 din salivă, mucoasa nazală sau orofaringiană și din probele de sânge. Aceste teste au fost utilizate pentru monitorizarea frecventă a personalului care își desfășura activitatea în mediile cu risc crescut de infecție, cum ar fi școlile sau spitalele și pentru a pune la dispoziție strategii extinse de screening pentru populațiile în care se suspecta un nou focar de infecție (Albert et al., 2021).

Testele antigenice sunt construite în principal pe platforme bazate pe principiul de imunocromatografie (LFIA) pentru detectarea directă a proteinelor virale (teste rapide pentru detectarea antigenului) sau a anticorpilor umani împotriva antigenelor SARS-CoV-2 (teste rapide pentru detectarea anticorpilor). În ceea ce privește testele rapide pentru antigen, acestea permit identificarea indivizilor COVID-19 pozitivi prin detectarea nucleocapsidei SARS-CoV-2 sau a proteinelor Spike (antigene virale) în tampoane colectate de pe căile respiratorii superioare ale subiectului cu infecție suspectată (Diao et al., 2021). În mod similar, testele rapide pentru detectare de anticorpi utilizează același principiu LFIA; cu toate acestea, se analizează IgA umană sau IgG și IgM împotriva antigenelor SARS-CoV-2 (Carter et al., 2020).

Strategii noi de biodetecție utilizate pentru diagnosticarea COVID-19 au utilizat și diferite tipuri de biosenzori care se bazează în principal pe anticorpi și acizi nucleici, inclusiv aptameri (Rhouati et al., 2021).

În comparație cu metodele de diagnostic bazate pe RT-PCR, testele rapide pentru detecția antigenelor sau anticorpilor se caracterizează prin timpi de execuție de aproximativ 15-30 min, un cost mai redus și o procedură mai ușoară, care nu necesită prezența unui personal calificat (Pilarowski et al., 2021).

În general, testele rapide pentru detectarea antigenului și respectiv a anticorpilor sunt utilizate pe scară largă pentru strategii de screening pe populații largi. Însă acestea nu asigură un diagnostic precis al COVID-19, deci aceste teste trebuie întotdeauna reconfirmate prin RT-PCR.

Deși testele ce detectează anticorpii anti-SARS-CoV2 sunt mai rapide, utilizarea lor pentru diagnostic este limitată de faptul că durează câteva zile și uneori până la două săptămâni după ce are loc o infecție pentru ca anticorpii să fie detectabili. Prin urmare, testarea bazată pe anticorpi nu este o metodă fiabilă pentru diagnosticarea COVID-19. Cu toate acestea, ele pot fi utile pentru testarea populației cu scopul de a estima proporția populației imunizate și pentru identificarea indivizilor susceptibili infecției (Uddin et al., 2020).

### Concluzii

Apariția virusului SARS-CoV-2 a determinat dificultăți pentru alegerea metodei optime de diagnostic destul de dificilă în diferite perioade evolutive ale bolii.

Deoarece pandemia de COVID-19 s-a răspândit foarte rapid, a existat o cerere accentuată pentru punctele de îngrijire (Point of Care) ce efectuează testări rapide pentru detecția virusului. Însă, testarea RT-PCR, standardul de aur actual pentru diagnosticarea COVID-19 depinde de detectarea materialului genetic viral (ARN) dintr-un tampon nazofaringian sau o probă de spută, fiind o tehnică sensibilă și prin care se poate detecta virusul precoce în timpul infecției, în decurs de câteva ore (Wang et al., 2020b).

Tehnicile de diagnostic molecular sunt adecvate în comparație cu alte posibilități de testare sindromică, deoarece diagnosticul molecular vizează genomul sau proteomul agentului

patogen, propunând astfel această abordare ca o metodă specifică și fiabilă de diagnostic (Zhou et al., 2020).

### Bibliografie

- [1] Abdelrazik AM, Said MNE, Abdelaziz HM. Evaluation of pooling strategy of SARS-CoV-2 RT-PCR in limited resources setting in Egypt at low prevalence. *Comp Clin Pathol* 2023, 32, 375–381. <https://doi.org/10.1007/s00580-023-03445-6>
- [2] Al Huraimel K, Alhosani M, Kunhabdulla S, et al. SARS-CoV-2 in the environment: Modes of transmission, early detection and potential role of pollutions. *Sci Total Environ*, 2020: 744, 140946. Available at: [doi:10.1016/j.scitotenv.2020.140946](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140946).
- [3] Albert E, Torres I, Bueno F, et al. Field evaluation of a rapid antigen test (Panbio™ COVID-19 Ag Rapid Test Device) for COVID-19 diagnosis in primary healthcare centres. *Clin Microbiol Infect.* 2021, 27(3): 472.e7-472.e10. [doi: 10.1016/j.cmi.2020.11.004](https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.11.004)
- [4] Carter LJ, Garner LV, Smoot JW, et al. Assay Techniques and Test Development for COVID-19 Diagnosis. *ACS Cent Sci.* 2020, 6(5): 591-605. [doi: 10.1021/acscentsci.0c00501](https://doi.org/10.1021/acscentsci.0c00501).
- [5] Cerutti F, Burdino E, Milia MG, et al. Urgent need of rapid tests for SARS CoV-2 antigen detection: Evaluation of the SD-Biosensor antigen test for SARS-CoV-2. *J Clin Virol.* 2020, 132:104654. [doi: 10.1016/j.jcv.2020.104654](https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104654).
- [6] Chan JF, Yuan S, Kok KH, et al. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. *The Lancet*, 2020: 395(10223), 514-523. [doi:10.1016/S0140-6736\(20\)30154-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30154-9).
- [7] Chandrashekar A, Liu J, Martinot AJ, et al. SARS-CoV-2 infection protects against rechallenge in rhesus macaques. *Science*, 2020: 369(6505): 812-817. [doi: 10.1126/science.abc4776](https://doi.org/10.1126/science.abc4776).
- [8] Corman VM, Landt O, Kaiser M, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill.* 2020, 25(3): 2000045. [doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045](https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045).
- [9] Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The species. Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nature Microbiology*, 2020, 5(4), 536-544. [doi:10.1038/s41564-020-0695-z](https://doi.org/10.1038/s41564-020-0695-z).
- [10] Coste AT, Jatou K, Papadimitriou-Olivgeris M, et al, Comparison of SARS-CoV-2 serological tests with different antigen targets, *Journal of Clinical Virology*, 2021, 134, 104690, <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104690>.
- [11] Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nature Reviews Microbio-*

- logy, 2019, 17(3): 181-192. doi:10.1038/s41579-018-0118-9.
- [12] Diao B, Wen K, Zhang J, et al. Accuracy of a nucleocapsid protein antigen rapid test in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection. *Clin Microbiol Infect.* 2021, 27(2): 289.e1-289.e4. doi: 10.1016/j.cmi.2020.09.057.
- [13] Doak SH, Zaïr ZM. Real-time reverse-transcription polymerase chain reaction: technical considerations for gene expression analysis. *Methods in Molecular Biology*, 2012, 817, 251-270. doi:10.1007/978-1-61779-421-6\_13.
- [14] Dong E, Du H, Gardner L. An interactive web-based dashboard to track COVID-19 in real time. *The Lancet Infectious Diseases*, 2020, 20(5): 533-534. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30120-1.
- [15] Falzone L, Gattuso G, Tsatsakis A, et al. Current and innovative methods for the diagnosis of COVID-19 infection (Review). *Int J Mol Med.* 2021, 47(6):100. doi: 10.3892/ijmm.2021.4933.
- [16] Ge Y, Wu X, Zhang W. et al. Effects of public-health measures for zeroing out different SARS-CoV-2 variants. *Nat Commun* 2023, 14, 5270 <https://doi.org/10.1038/s41467-023-40940-4>
- [17] Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, et al. China Medical Treatment Expert Group for Covid-19. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med*, 2020, 382(18), 1708-1720. doi: 10.1056/NEJMoa2002032.
- [18] Han H, Luo Q, Mo F, et al. SARS-CoV-2 RNA more readily detected in induced sputum than in throat swabs of convalescent COVID-19 patients. *The Lancet Infectious Diseases*, 2020, 20(6), 655-656. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30174-2.
- [19] Hasöksüz M, Kiliç S, Saraç F. Coronaviruses and SARS-COV-2. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 2020, 50(SI-1):549-556. doi:10.3906/sag-2004-127.
- [20] Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, et al, SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*, 2020, 181(2): 271-280.e8. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.052.
- [21] Hsueh PR, Huang LM, Chen PJ, et al. Chronological evolution of IgM, IgA, IgG and neutralisation antibodies after infection with SARS-associated coronavirus. *Clin Microbiol Infect.* 2004, 10(12):1062-6. doi: 10.1111/j.1469-0691.2004.01009.x.
- [22] Konrad R, Eberle U, Dangel A, et al. Rapid establishment of laboratory diagnostics for the novel coronavirus SARS-CoV-2 in Bavaria, Germany, February 2020. *Eurosurveillance*, 2020, 25(9), 2000173. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.9.2000173.
- [23] Li Z, Yi Y, Luo X, et al. Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis. *J Med Virol*, 2020, 92(9), 1518-1524. doi:10.1002/jmv.25727.
- [24] Long QX, Deng HJ, Chen J, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in COVID-19 patients: the perspective application of serological tests in clinical practice. *medRxiv*, 2020, doi: 10.1101/2020.03.18.20038018.
- [25] Lv H, Wu NC, Tsang OT, et al. Cross-reactive Antibody Response between SARS-CoV-2 and SARS-CoV Infections. *Cell Rep.*, 2020, 31(9):107725. doi: 10.1016/j.celrep.2020.107725.
- [26] Mackay IM, Arden KE. MERS coronavirus: diagnostics, epidemiology and transmission. *Virology Journal*, 2015, 12, 222. doi:10.1186/s12985-015-0439-5.
- [27] Okba NMA, Müller MA, Li W, et al. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2-Specific Antibody Responses in Coronavirus Disease Patients. *Emerg Infect Dis.* 2020, 26(7):1478-1488. doi: 10.3201/eid2607.200841.
- [28] Pilarowski G, Lebel P, Sunshine S, et al. Performance Characteristics of a Rapid Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Antigen Detection Assay at a Public Plaza Testing Site in San Francisco. *J Infect Dis.* 2021, 223(7):1139-1144. doi: 10.1093/infdis/jiaa802.
- [29] Ramírez MT, Del Rosario C, Contreras E, et al. Evaluation of sample pooling for the detection of SARS-CoV-2 in a resource-limited setting, Dominican Republic. *Enferm Infecc Microbiol Clin (Engl Ed)*. 2023 Jan;41(1):29-32. doi: 10.1016/j.eimce.2022.11.00
- [30] Rhouati A, Teniou A, Badea M, et al. Analysis of Recent Bio-/Nanotechnologies for Coronavirus Diagnosis and Therapy. *Sensors (Basel)*. 2021 Feb 20;21(4):1485. doi: 10.3390/s21041485.
- [31] Rothe C, Schunk M, Sothmann P, Transmission of 2019-nCoV Infection from an Asymptomatic Contact in Germany. *N Engl J Med*, 2020, 382(10), 970-971. doi: 10.1056/NEJMc2001468.
- [32] Simas AM, Crott JW, Sedore C, et al. Pooling for SARS-CoV2 Surveillance: Validation and Strategy for Implementation in K-12 Schools. *Front Public Health*. 2021 Dec 17;9:789402. doi: 10.3389/fpubh.2021.789402
- [33] Tai W, He L, Zhang X, et al. Characterization of the receptor-binding domain (RBD) of 2019 novel coronavirus: implication for development of RBD protein as a viral attachment inhibitor and vaccine. *Cell Mol Immunol.* 2020, 17(6):613-620. doi: 10.1038/s41423-020-0400-4.
- [34] Uddin M, Mustafa F, Rizvi TA, et al. (2020). SARS-CoV-2/COVID-19: Viral Genomics, Epidemiology, Vaccines, and Therapeutic

- Interventions. *Viruses*, 12(5), 526. doi:10.3390/v12050526.
- [35] Wan Y, Shang J, Graham R. Receptor Recognition by the Novel Coronavirus from Wuhan: an Analysis Based on Decade-Long Structural Studies of SARS Coronavirus. *Journal of Virology*, 2020, 94(7): e00127-20. doi:10.1128/JVI.00127-20.
- [36] Wang D, Hu B, Hu C, et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*, 2020a, 323(11), 1061-1069. doi: 10.1001/jama.2020.1585.
- [37] Wang Y, Kang H, Liu X, et al. Combination of RT-qPCR testing and clinical features for diagnosis of COVID-19 facilitates management of SARS-CoV-2 outbreak. *J Med Virol*, 2020b, 92(6), 538-539. doi:10.1002/jmv.25721.
- [38] Wölfel R, Corman VM, Guggemos W. et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*, 2020, 581(7809), 465-469. doi: 10.1038/s41586-020-2196-x.
- [39] Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and Important Lessons from the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72,314 Cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA*, 2020, 323(13), 1239-1242. doi:10.1001/jama.2020.2648.
- [40] Xiong W, Ding J, He Y, et al. Improved matrix pooling. *Stat Methods Med Res*. 2019, 28(1): 211-222. doi: 10.1177/0962280217719914.
- [41] Yüce M, Filiztekin E, Özkaya KG. COVID-19 diagnosis - A review of current methods. *Biosensors and Bioelectronics*, 2021, 172, 112752. doi:10.1016/j.bios.2020.112752.
- [42] Zhang B, Zhou X, Zhu C. Immune phenotyping based on neutrophil-to-lymphocyte ratio and IgG predicts disease severity and outcome for patients with COVID-19. medRxiv, 2020, doi: 10.1101/2020.03.12.20035048.
- [43] Zhang W, Du RH, Li B, et al. Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes. *Emerg Microbes Infect.*, 2020, 9(1):386-389. doi: 10.1080/22221751.2020.1729071.
- [44] Zhao WM, Song SH, Chen ML, et al. The 2019 novel coronavirus resource. *Yi Chuan*, 2020, 42(2), 212-221. doi: 10.16288/j.ycz.20-030
- [45] Zhou P, Yang XL, Wang XG, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, 2020, 579(7798), 270-273. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7.
- [46] Zou L, Ruan F, Huang M, et al. SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients. *N Engl J Med*. 2020, 382(12):1177-1179. doi: 10.1056/NEJMc2001737.

**Contribuția autorilor:** conceptualizare WK, AI, MB; designul cercetării: WK, AI, validarea metodologiei: AI, MB; culegerea datelor: WK, AI, MB, analiza datelor și / sau interpretarea datelor: WK, AI, MB; scriere-pregătirea textului inițial WK, revizuire și editare: WK, AI, MB.

**Surse de finanțare:** niciuna

**Conflicte de interes:** autorii nu au conflicte de interes relevante pentru acest articol.