الاختبارات التشخيصية لفيروس كورونا-سارس-2

إرشادات مبدئية

11 أيلول/سبتمبر 2020

منظمة الصحة العالمية

مقدمة

تقدم هذه الوثيقة إرشادات مبدئية للمختبرات والجهات المعنية الأخرى المشاركة في تشخيص فيروس كورونا المسبِّب للمتلازمة التنفسية الحادة الوخيمة-2 (فيروس كورونا-سارس-2). وتغطي الاعتبارات الرئيسية لجمع العينات، واختبارات تضخيم الحمض النووي (NAAT)، والمستضدات (Ag)، وكشف الأجسام المضادة (Ab)، وضمان الجودة. وستُحَدَّث هذه الوثيقة إذا توفرت معلومات جديدة. ويمكن إرسال التعقيبات إلى العنوان WHElab@who.int.

التغييرات عن الإصدار السابق

تَغَيَّرَ عنوان هذه الإرشادات المبدئية من "الفحوص المختبرية لمرض كوفيد-19 في الحالات البشرية المشتبه فيها" إلى "الاختبارات التشخيصية لفيروس كورونا-سارس-2". وأضيفت إلى الوثيقة معلومات أساسية إضافية ذات صلة وخوارزميات تشخيصية سريرية. وعلاوةً على ذلك، تم تحديث الإرشادات بنتائج جديدة مستمدة من المواد المطبوعة وأفضل الممارسات.

وثائق منظمة الصحة العالمية ذات الصلة

وضعت منظمة الصحة العالمية إرشادات مبدئية وموجزات تقنية لمساعدة واضعي السياسات والمختبرات على إجراء اختبارات للكشف عن فيروس كورونا-سارس-2. وتغطي هذه الوثائق استراتيجية الفحوص المختبرية [1]، وأداة التقييم المختبري [2]، وإرشادات للسلامة البيولوجية المختبرية بشأن مرض فيروس كورونا (كوفيد-19) [3]، وإرشادات بشأن استخدام اختبارات تشخيص المناعة في نقاط الرعاية [4]، والكشف عن المستضدات في تشخيص العدوى بفيروس كورونا-سارس-2 باستخدام المقايسات المناعية السريعة [5]، وإرشادات بشأن استقصاءات التجمعات [6]، والترصد في مجال الصحة العمومية لمواجهة كوفيد-19 [7] والاعتبارات التشغيلية المتعلقة بترصد مرض كوفيد-19 باستخدام الشبكة العالمية لترصد الأنفلونزا والتصدي لها [8]. وبالإضافة إلى ذلك، يمكن استخدام بروتوكولات التقصّي المبكر [9] من قِبَل البلدان لتنفيذ الدراسات الوبائية وتعزيز فهم أنماط انتقال العدوى، وشدة المرض وانتشاره، والسمات السريرية وعوامل خطورة العدوى بفيروس كورونا-سارس-2.

معلومات أساسية عن فيروس كورونا-سارس-2

تم تنبيه منظمة الصحة العالمية لأول مرة إلى مجموعة حالات إصابة بالتهابات رئوية غير معروفة المسبِّبات في ووهان بجمهورية الصين الشعبية يوم 31 كانون الأول/ديسمبر 2019. وتمت تسمية الفيروس مبدئيًا بفيروس كورونا المستجد 2019 (2019-nCoV).

وفي وقت لاحق، أطلقت اللجنة الدولية لتصنيف الفيروسات (ICTV) على الفيروس اسم فيروس كورونا-سارس-2 [10]. ويشار إلى أن كوفيد-19 هو اسم المرض الذي يسببه فيروس كورونا-سارس-2.

ويصنَّف فيروس كورونا-سارس-2 ضمن *فيروس كورونا بيتا* (جُنَيس *فيروس ساربيكو*) من عائلة *كورونا فيريداي* [11]. وهو فيروس مغلف، موجب الاستشعار، من فصيلة الأحماض النووية الريبية (RNA) الأحادية الطاق مع جينوم بحجم 30 كيلو قاعدة [10]. ولدى الفيروس آلية

لتدقيق الحمض النووي الريبي تحافظ على معدل الطفرة منخفضاً نسبياً. ويتم ترميز الجينوم للدلالة على البروتينات غير الهيكلية (بعضها ضروري في تكوين المركب المنتسخ المتماثل) ، وأربعة بروتينات هيكلية (حسكة (S) ، مغلف (E) ، غشاء (M) ، قُفَيصة مُنَوَاة (N)) وبروتينات ملحقة مفترضة [12–14]. ويرتبط الفيروس بمُستقبِل إنزيم تحويل أنجيوتنسين 2 (ACE2) لدخول الخلية [15–17].

وفيروس كورونا–سارس–2 هو سابع فيروس تاجي يتم تحديده ويُعرَف أنه يصيب البشر (HCoV). وأربعة من هذه الفيروسات، HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-HKU1, HCoV-OC43، متوطنة وموسمية وتميل إلى التسبب في مرض تنفسي خفيف. أما الفيروسان الآخران فهما فيروس كورونا الحيواني المصدر المسبب لمتلازمة الشرق الأوسط التنفسية الأكثر فتكاً (MERS-CoV) ، وفيروس كورونا من النوع 1 المسبب للمتلازمة التنفسية الحادة الوخيمة (SARS-CoV-1). وفيروس كورونا–سارس–2 هو الأكثر شبهاً من الناحية الوراثية بفيروس كورونا–سارس–1، وكلا الفيروسين ينتمي إلى جُنَيس *فيروس ساربيكو* المندرج ضمن جنَس *فيروس كورونا بيتا* [11]. غير أنه لا يُعرَف حالياً أن فيروس كورونا–سارس–1 ينتشر بين المجموعات البشرية.

ويمكن أن تتراوح المظاهر السريرية للعدوى بفيروس كورونا–سارس–2 من عدوى غير مصحوبة بأعراض إلى اعتلال شديد [18–27]. وتختلف معدلات الوفيات لكل بلد [28]. ويمكن أن يساعد التشخيص المختبري المبكر للعدوى بفيروس كورونا–سارس–2 في التدبير العلاجي السريري ومكافحة الفاشية. وقد تشمل الاختبارات التشخيصية الكشف عن الفيروس نفسه (الحمض النووي الريبي الفيروسي أو المستضدات) أو الكشف عن استجابة الإنسان المناعية للعدوى (الأجسام المضادة أو الواسمات الحيوية الأخرى).

وبينما اتسع نطاق فهمنا لفيروس كورونا–سارس–2 بسرعة، لا يزال هناك الكثير من المسائل المعلقة التي تحتاج إلى معالجة. وتشجع منظمة الصحة العالمية على إجراء البحوث وتبادل النتائج مما قد يسهم في تحسين توصيف فيروس كورونا–سارس–2 [29, 30].

معلومات أساسية عن الكشف عن الحمض النووي الريبي لفيروس كورونا– سارس–2

يستند التأكيد القياسي لحالات العدوى الحادة بفيروس كورونا–سارس–2 إلى الكشف عن متواليات فيروسية متفردة بواسطة اختبارات تضخيم الحمض النووي، مثل تفاعل البوليميراز المتسلسل بالانتساخ العكسي في الوقت الحقيقي (rRT-PCR). وتشمل أهداف المقايسات مناطق على الجينات E وRdRP وN وS.

وبعد إصابة فرد ما بالفيروس، يبلغ متوسط الوقت الذي يستغرقه ظهور الأعراض (فترة الحضانة) ما بين 5 و6 أيام، بما يتراوح بين يوم إلى 14 يوماً بعد التعرض [31–35]. وربما أمكن الكشف عن الفيروس في الجهاز التنفسي العلوي (URT) قبل بدء ظهور الأعراض بيوم إلى 3 أيام. ويبلغ تركيز فيروس كورونا–سارس–2 في الجهاز التنفسي العلوي أعلى معدل له حوالي وقت ظهور الأعراض، ثم ينخفض تدريجياً بعد ذلك [36–42]. وتفيد بعض الدراسات بارتفاع الأحمال الفيروسية في المرضى المعتلين بشدة مقارنةً بالمرضى الذين يعانون من اعتلال خفيف، في حين لا تفيد دراسات أخرى بمثل هذه الاختلافات [36, 43-49]. ويزداد وجود الحمض النووي الريبي الفيروسي في الجهاز التنفسي السفلي (LRT)، وفي البراز بالنسبة لمجموعة فرعية من الأفراد، خلال الأسبوع الثاني من المرض [38]. وفي بعض المرضى قد يكون الحمض النووي الريبي الفيروسي قابلاً للكشف عنه فقط لعدة أيام، بينما يمكن اكتشافه في مرضى آخرين لعدة أسابيع، وربما أشهر [44, 50-60]. ويشار إلى أن وجود الحمض النووي الريبي الفيروسي لمدة طويلة لا يعني بالضرورة إعداءً طويل الأمد. وبصف العديد من الدراسات الترابط بين انخفاض الإعداء وما يلي: "1" ازدياد عدد الأيام المنقضية منذ ظهور الأعراض وزوالها، "2" انخفاض الحمل الفيروسي في إفرازات الجهاز التنفسي [37, 61-64] ، "3" زيادة الأجسام المضادة التحييدية [37,61]. ويمكن الاطّلاع على مزيد من المعلومات حول هذا الموضوع في الوثيقة المعنونة معايير إخراج مرضى كوفيد–19 من العزل [65].

وقد تكون إفرازات الجهاز التنفسي متغايرة تماماً في تركيبها، وربما اختلفت أيضاً كفاية جهود أخذ العينات، مما قد يؤدي أحياناً إلى نتائج سلبية كاذبة لتفاعل البوليمراز التسلسلي [40, 42, 58, 66-74]. وفي المرضى الذين يُشتبَه بشدة في إصابتهم بعدوى فيروس كورونا–سارس–2 وتكون مسحات الجهاز التنفسي العلوي سلبية لديهم، يمكن الكشف عن الحمض النووي الريبي الفيروسي في إفرازات الجهاز التنفسي السفلي، مثل البلغم أو غسل القصبات والأسناخ [70, 71, 75, 76]. وقد تبيّن أن مسحات البراز أو المستقيم كانت إيجابية للحمض الرّيبي النووي

لفيروس كورونا-سارس-2 في مجموعة فرعية من المرضى، مع بعض الدراسات التي تشير إلى أن هذه الإيجابية طويلة الأمد مقارنةً بمثيلتها في عينات الجهاز التنفسي [70, 71, 75, 76]. وفي بعض المرضى، تم الإبلاغ عن كشف الحمض الرّيبي النووي لفيروس كورونا-سارس-2 في عينات الدم، وتشير بعض الدراسات إلى أن الكشف في الدم يرتبط بشدّة المرض، بيد أن هناك حاجة إلى إجراء المزيد من الدراسات حول هذا الارتباط المحتمل [75, 78-81]. وفي عينات السوائل الفموية (مثل اللعاب المستحثّ) [28, 49, 82-88]، تختلف معدلات الكشف المفاد عنها مقارنةً بعينات الجهاز التنفسي العلوي من نفس المريض اختلافاً كبيراً، إلى جانب محدوديّة البيانات المتاحة حول كفاية الكشف عن فيروس كورونا-سارس-2 في الغرغرة/غسولات الفم [85]. ومن المحتمل أن تكون الاختلافات اللافتة للنظر في حساسية تقييمات السوائل الفموية راجعة إلى اختلافات كبيرة في تقنيات الجمع والنقل والتخزين، فضلاً عن تقييم مختلف مجموعات الاختبار. وفي بعض الأحيان، يمكن الكشف عن فيروس كورونا-سارس-2 في سوائل العين لدى المرضى الذين تظهر عليهم علامات التهاب الملتحمة وبدونها [89-93]. ولم تكتشف بعض الدراسات فيروس كورونا-سارس-2 في البول [28, 49, 82-88]، بينما تمكّن البعض الآخر من اكتشاف الحمض الرّيبي النووي الفيروسي في البول لدى عدد محدود من المرضى [57 ,95]. وأفادت إحدى الدراسات عن عدة مرضى لديهم عينّات إيجابيّة من السائل المنوي [96]. وبالإضافة إلى ذلك، ورد ذكر كشف إيجابي عن الحمض الرّيبي النووي في الأنسجة الدماغية [97] والسوائل النخاعية [98] ضمن تقارير إفراديّة. وهكذا، يمكن الكشف عن فيروس كورونا-سارس-2 في مجموعة واسعة من سوائل وأحياز الجسم الأخرى، ولكن يتم اكتشافه في أغلب الأحيان في مواد الجهاز التنفسي، وبالتالي، تظل عينات الجهاز التنفسي هي نوع العينة المفضلة للتشخيص.

المبادئ التوجيهيّة للفحوص المختبريّة

ينبغي أن يستند قرار الاختبار إلى عوامل سريرية ووبائية على حد سواء. راجع الإرشادات المبدئية المعنونة التدبير العلاجي السريري لمرض كوفيد-19 [99] ، واستقصاءات التجمعات [6] والترصد في مجال الصحة العمومية لمواجهة كوفيد-19 [7].

ويمثّل جمع عينات مناسبة بسرعة من المرضى الذين يُشتبَه بشدّة في إصابتهم بعدوى فيروس كورونا-سارس-2، والتشخيص المختبري الدقيق لهم، أولويتّين لدعم التدبير العلاجي السريري للمرضى وتدابير مكافحة العدوى. ونظراً للتعقيد الذي يتّسم به أخذ عيّنات كافية والتحليل المختبري وتفسير النتائج، ينبغي أن يقوم مشغِّلون مدرَّبون وأكفاء بعملية الجمع والتشخيص المختبري.

وقد لا تظهر على الأفراد المصابين بفيروس كورونا-سارس-2 أعراض (حالات بدون أعراض)، أو قد يعانون من اعتلال خفيف جداً (قليل الأعراض)، أو قد يصابون بمرض كوفيد- 19 بدرجة معتدلة إلى وخيمة [18-26]. ويأتي أقوى دليل على العدوى الفيروسية من اكتشاف شُدَف الفيروس، مثل البروتينات أو الأحماض النووية، من خلال الاختبارات الفيروسية. وقد تكون نتائج اختبار الأفراد المصابين بالعدوى إيجابيّة للأحماض النووية الفيروسية أو البروتينات الفيروسية دون أعراض (غير مترافقة بأعراض)، أو قبل ظهور الأعراض (سابقة للأعراض)، وطوال فترة المرض (مصحوبة بأعراض). وبالنسبة لأولئك المصابين بمرض كوفيد-19، يمكن أن تكون الأعراض واسعة النطاق عند التجلّي الأوّلي للمرض. وقد تظهر على الأفراد أعراض خفيفة جداً، مع التهاب رئوي ظاهر واعتلالات حمويّة/إنتان وبدرجة أقل شيوعاً مصحوبةً بالتهاب مَعِدي معوي أو أعراض عصبية [99]. وإذا تطلّب التدبير العلاجي للحالات ذلك، ينبغي أيضاً اختبار المرضى لتبيُّن أيّ مسبّبات أمراض أخرى، كما هو موصى به في المبادئ التوجيهية للتدبير العلاجي السريري المحلي، ولكنّ هذا لا ينبغي أبداً أن يؤخّر اختبارات فيروس كورونا-سارس-2 [99,100]. وقد تم الإبلاغ عن حالات عدوى بفيروس كورونا-سارس-2 مرافقة مع مسبّبات أمراض أخرى، وبالتالي فإن ظهور نتائج اختبار إيجابية لمسبّبات أمراض أخرى لا يستبعد الإصابة بكوفيد-19 والعكس بالعكس [27, 101-109]. وأفيد بحالات نتائج إيجابية كاذبة لاختبار الأجسام المضادة لحمى الضنك باستخدام اختبار تشخيص سريع (RDT) لحمى الضنك في مرضى كوفيد-19 [110,111]. وهناك أيضاً خطر ظهور نتائج إيجابيّة كاذبة أو نتائج سلبيّة كاذبة لفيروس كورونا-سارس-2، إن لم يتم إجراء الاختبارات باستخدام مقايسات كافية أو إذا لم تُنَفَّذ في ظل ظروف مناسبة.

جمع العيِّنات وشحنها وتخزينها

إجراءات السلامة أثناء جمع العيِّنات

يراعى ضمان الالتزام الصارم من قِبَل العاملين الصحيين القائمين بجمع العيِّنات السريريّة من الحالات المشتبه فيها بالمبادئ التوجيهية للوقاية من العدوى ومكافحتها (IPC) وارتداء معدات الحماية الشخصية (PPE) المناسبة، انظر أيضاً إرشادات منظمة الصحة العالمية المبدئيّة بشأن الوقاية من العدوى ومكافحتها أثناء تقديم الرعاية الصحية [7].

ويجب ضمان وجود إجراءات تشغيلية موحدة (SOP) وافية وتدريب الموظفين على جمع العيّنات وتعبئتها وشحنها وتخزينها بشكل مناسب. ويُفترَض أن كل العينات المأخوذة لإجراء استقصاءات قد تكون مصابة بفيروس كورونا-سارس-2 وغيره من مسبّبات الأمراض. انظر أيضاً إرشادات منظمة الصحة العالمية المبئية بعنوان السلامة البيولوجية المختبرية بشأن فيروس كورونا-سارس-2 [3]. وينبغي اتباع المبادئ التوجيهية المحلية، بما فيها ما يتعلق بالموافقة المستنيرة، لجمع العينات واختبارها وتخزينها وإجراء بحوث بشأنها.

العيّنات المطلوب جمعها

تعتمد العينة المثلى على التجليّات السريريّة والوقت المنقضي منذ بدء ظهور الأعراض. وكحد أدنى، ينبغي جمع عينات من الجهاز التنفسي.

عينات الجهاز التنفسي

- **عينات الجهاز التنفسي العلوي** كافية لاختبار حالات العدوى في المراحل المبكرة، وخاصةً في الحالات العديمة الأعراض أو الخفيفة. وقد ثبت أن اختبارات مسحات مجمّعة بلعوميّة أنفيّة وفمويّة بلعوميّة من فرد واحد تزيد من حساسية الكشف عن فيروسات الجهاز التنفسي وتحسّن موثوقيّة النتيجة [60, 86, 112-114]. ويمكن الجمع بين مسحتين فرديّتين في أنبوب تجميع واحد أو يمكن أخذ مسحة بلعوميّة أنفيّة وفمويّة بلعوميّة مجمّعة [115]. وقد وجدت بضع دراسات أن المسحات البلعوميّة الأنفيّة الفرديّة تسفر عن نتيجة أكثر موثوقيّة من المسحات الفمويّة البلعوميّة .[40, 75, 76, 114]
- **عينات الجهاز التنفّسي السفلي** يُنصَح بها إذا جُمِعت في وقت لاحق من مسار مرض كوفيد-19 أو لدى مرضى أُخِذت منهم عينات سلبية من الجهاز التنفسي العلوي وهناك شك سريري قوي في إصابتهم بكوفيد-19 [70, 71, 75, 76, 86]. ويمكن أن تتكون عينات الجهاز التنفسيّ السفلي من البلغم، إذا نتج بشكل عفوي (لا يُنصَح بالبلغم المستحث لأن هذا يشكل خطرًا متزايدًا لانتقال الهباء الجوي [99])، و/أو شُفاطة داخل الرغامى أو غسل قصبي سنخي في المرضى الذين يعانون من أمراض تنفسية أكثر وخامة. وينبغي توخي الحذر بسبب ارتفاع مخاطر تزذيذ الأيروسولات؛ ولذلك يلزم التقيُّد الصارم بإجراءات الوقاية من العدوى ومكافحتها أثناء أخذ العيّنات. وينبغي تقييم دواعي استعمال الإجراءات الاجتياحية من قِبَل طبيب.

وقبل تنفيذ أساليب أخرى لأخذ عينات من الجهاز التنفسي أو السوائل الفموية، يجب أن يجتاز أسلوب أخذ العيّنات أولاً اختبار التثبُّت من الصلاحية في المختبر لمجموعات المرضى المستهدفين.

جمع العينات بطريقة مُبَسّطة ومُحَسَّنة

يزداد الطلب على جمع العيّنات بطريقة مُبسّطة ومُحَسّنة للكشف عن فيروس كورونا-سارس-2. وقد أُجرِيَت دراسات على مسحة مُجَمّعة فمويّة بلعوميّة ومن المنخرين/الأنف [116,117]، ودراسات أخرى على مسحات من المَحارَة الأَنْفِيَّة المُتَوَسِّطَة [120-118] أو أسفل الأنف أو المنخرين [120,121] أو مسحة من اللسان [120] إما من قِبَل شخص مدرَّب على أخذ العيّنات أو عن طريق الاعتيان الذاتي. وبينما يبيّن بعض هذه الدراسات أن أداء تلك النُهُج جيد إلى حد معقول، تركز هذه الدراسات في الغالب على مجموعات محددة من المرضى كما أن أحجام عيناتها محدودة. وقبل أن يمكن التوصية بتنفيذ هذه البدائل على نطاق واسع، يلزم إجراء مزيد من التقييم والتثبُّت من صحتها لتحديد مؤشرات استخدام طرق التجميع هذه كبدائل مناسبة.

وهناك حالات محددة يمكن فيها أن يكون جمع مسحات أنفية بلعومية وفموية بلعومية إشكالياً، مثل الفحص الجماعي في المدارس أو دور التمريض، خاصةً عندما يشكل كبار السن المصابون بالخرف أو الأطفال الصغار موضوعاً له. وفي هذه السيناريوهات، يمكن أن تكون السوائل الفموية عينة مناسبة، لأن أساليب الجمع تكون أقل توغّلاً ولقلّة خطر تعرّض الآخرين عند الجمع، مقارنةً بجمع عينات من الجهاز التنفسي العلوي.

وتختلف أساليب جمع السوائل الفموية اختلافاً واسعاً: من السوائل الفموية البلعومية الخلفية/اللعاب المأخوذ عن طريق البصق أو إسالة اللعاب، أو جمع السوائل الفموية باستخدام سحّاحة أو قطع إسفنجية خاصة. ويشار إلى أن الغرغرة بمحاليل ملحية بديل آخر تمت دراسته. وتتسم حساسية هذه العينات بنطاق أداء واسع مقارنةً بأخذ عينات بلعومية أنفية و/أو فموية بلعومية [28, 49, 82, 83, 85-88, 122-125]. ونظراً لتنوع أساليب الجمع وخطوات المعالجة، يجب على المختبرات أن تجمع بيانات الأداء الخاصة بها فيما يرتبط بأسلوب الجمع المحلي وفي المجموعات ذات الصلة لأغراض الاختبار. وفي الوقت الحالي، لا توصي منظمة الصحة العالمية باستخدام اللعاب باعتباره نوع العينات الوحيد للتشخيص السريري الروتيني. وإذا كان الغرض من أساليب الجمع غير القياسيّة هو أن تُستخدَم لتشخيص مسبّبات أمراض تنفّسيّة أخرى، فإن الكشف عن هذه العوامل الممرِضة يجب أن يكون جزءاً من إجراء التحقّق.

عينات البراز

بدءاً من الأسبوع الثاني لظهور الأعراض وما بعده، يمكن النظر في إجراء اختبار تضخيم الحمض النووي لعينات البراز في الحالات التي تكون فيها نتائج الجهاز التنفسي العلوي والجهاز التنفسي السفلي سلبية ويظل الاشتباه السريري في الإصابة بعدوى كوفيد-19 قائماً [126]. وعند اختبار البراز، يراعى ضمان التحقق من صحة أسلوب الاستخراج المقصود واختبار تضخيم الحمض النووي لهذا النوع من العينات.

عينات ما بعد الوفاة

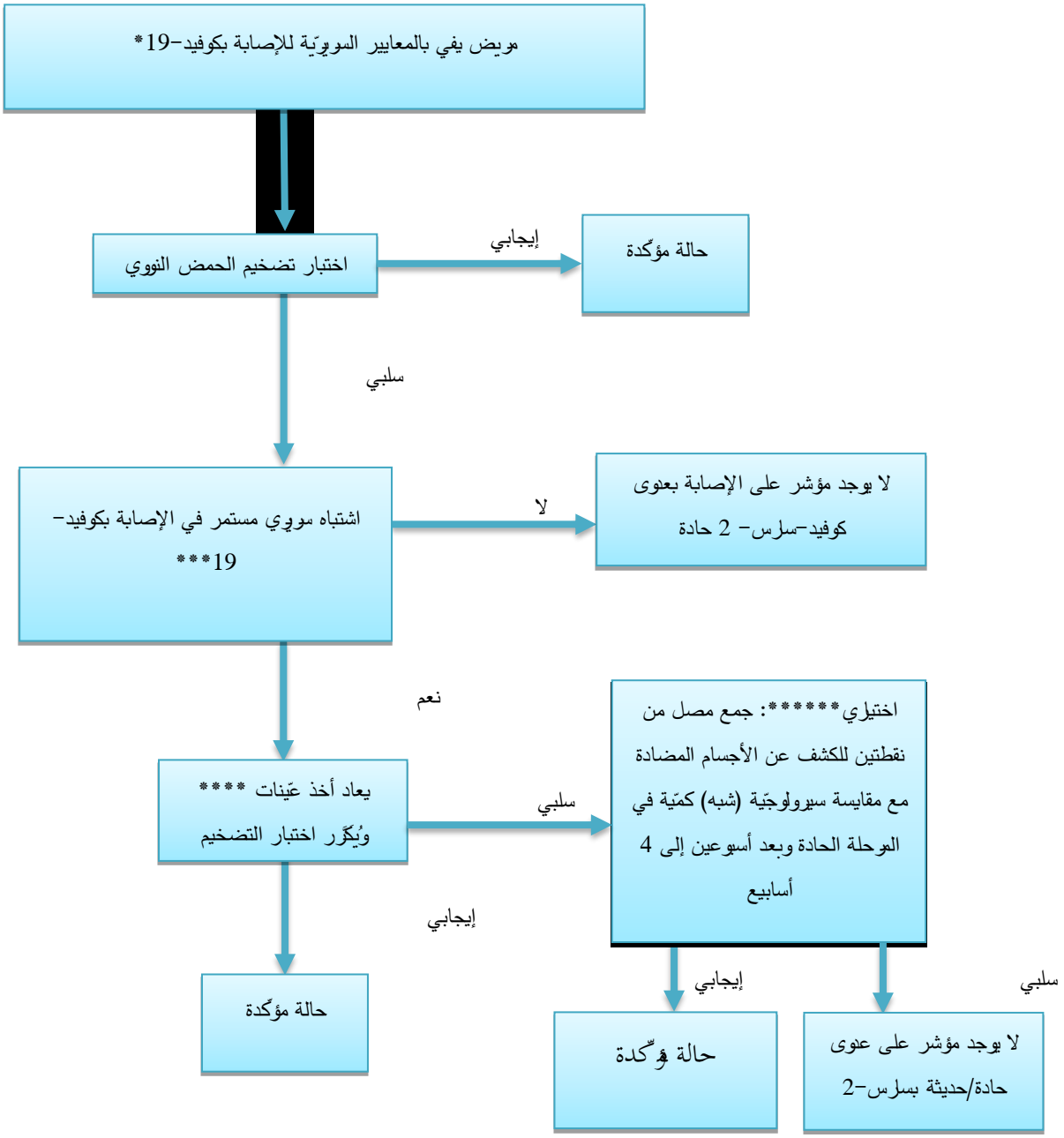
إذا كان الشخص متوفى، يُنظَر في أخذ مسحة بعد الوفاة أو خزعة إبرة أو عينات أنسجة من تشريح الجثة، بما في ذلك أنسجة الرئة لإجراء مزيد من الاختبارات الباثولوجيّة والميكروبيولوجيّة [127-133].

العينات المصليّة

إذا تم الحصول على نتائج سلبيّة لاختبار تضخيم الحمض النووي من مريض يُشتبَه بشدة في إصابته بعدوى كورونا-سارس-2، يمكن جمع عينة مصلية مزدوجة. ويمكن استخدام عينة واحدة مأخوذة في المرحلة الحادة وواحدة في مرحلة النقاهة بعد أسبوعين إلى 4 أسابيع لكشف انقلاب تفاعلية المصل أو ارتفاع عيارات الأجسام المضادة. ويمكن استخدام هاتين العينتين بأثر رجعي لتحديد ما إذا كان الفرد قد أصيب بكوفيد-19، وخصوصاً عندما يتعذّر الكشف عن العدوى باستخدام اختبار تضخيم الحمض النووي.

انظر الشكل 1 للاطّلاع على خوارزميّة تشخيص الحالات التي تتطلّب رعاية سريريّة ويُشتبَه في أنها مصابة بكوفيد-19.

الشكل 1: مخطط سير العمل التشخيصي للكشف عن الإصابة بعدوى فيروس كورونا-سارس-2 حادة لدى الأفراد الذين يُشتبَه سريريًا في إصابتهم بكوفيد-19



* التدبير العلاجي السريري لكوفيد-19 (إرشادات مبدئية)، منظمة الصحة العالمية [99].

** إذا كان سيتم إدماج الكشف عن المستضدات في خوارزمية الاختبارات، فإن الكيفية التي يلزم بها القيام بذلك تتوقف على حساسية وخصوصية اختبار المستضدات وعلى انتشار العدوى بفيروس كورونا-سارس-2 في مجموعة الاختبارات المستهدفة. لمزيد من المعلومات، انظر القسم أدناه حول "الاختبارات التشخيصية السريعة على أساس الكشف عن المستضدات" والإرشادات المحددة بعنوان إرشادات مبدئية بشأن الكشف عن المستضدات في تشخيص الإصابة بعدوى فيروس كورونا-سارس-2 باستخدام المقايسات المناعية السريعة [5].

*** يمكن أن تكون فحوى الاشتباه السريري المستمر، على سبيل المثال، هي عدم وجود مسبّبات واضحة أخرى، أو وجود صلة وبائية، أو نتيجة سريرية موحية (علامات إشعاعية نمطية مثلاً).

**** اختيار نوع العينة سوف يعتمد على التجلّي السريري، انظر القسم المعنون "العينات المطلوب جمعها". ويشار إلى أن زيادة عدد العينات الخاضعة للاختبار ستزيد من حساسية اختبارات كوفيد-19. وقد تكون هناك حاجة إلى أكثر من عينتين في بعض الحالات للكشف عن فيروس كورونا-سارس-2 [73].

***** لتفسير السيرولوجيا المصلية، انظر القسم المعنون "تنفيذ وتفسير اختبارات الأجسام المضادة في المختبر السريري". ولا يمكن استخدام السيرولوجيا المصليّة كوسيلة تشخيص قائمة بذاتها لحالات العدوى الحادة بفيروس كورونا-سارس-2 والتدبير العلاجي السريري لها.

تعبئة وشحن العينات السريرية

ينبغي أن تصل العينات المطلوبة لكشف الفيروس إلى المختبر في أسرع وقت ممكن بعد أخذها. ومن الضروري أن تتم مناولة العينات بشكل صحيح أثناء النقل وفي المختبر. وللاطّلاع على إرشادات بشأن هذا الموضوع، انظر المرفق 1.

ويتعيّن أن يتم نقل العينات داخل الحدود الوطنية بما يتماشى مع اللوائح الوطنية المنطبقة. وينبغي أن يتم النقل الدولي للعينات التي قد تحتوي على فيروس كورونا–سارس–2 باتّباع اللوائح النموذجية للأمم المتحدة، المواد البيولوجية، الفئة باء (الأمم المتحدة 3373)، وأية لوائح أخرى معمول بها تبعاً لطريقة النقل.

ويمكن الاطّلاع على مزيد من المعلومات في إرشادات منظمة الصحة العالمية بشأن اللوائح المتعلقة بنقل المواد المعدِية 2019–2020 [134]، وفيما يخص فيروس كورونا–سارس–2 تحديداً إرشادات بشأن السلامة البيولوجية المختبرية [3]، وتعليمات الشحن [135].

ويراعى الحفاظ على خطوط اتصال مفتوحة وفعالة مع المختبر وتقديم جميع المعلومات المطلوبة. وينبغي وسم العينات بالعلامات الصحيحة، وإرفاقها باستمارة لطلب التشخيص (انظر المرفق 2 للاطّلاع على قالب نموذجي لاستمارة الطلب، بما في ذلك الحد الأدنى من المعلومات السريرية المطلوبة). ومن شأن تنبيه المختبر قبل إرسال العينات وتوفير المعلومات الأساسية الجوهرية مع طلب التشخيص أن يسمح بتجهيز العينات والإبلاغ عن النتائج بشكل سليم وفي الوقت المناسب.

ممارسات السلامة البيولوجية في المختبر

ينبغي للمختبرات التي تجري اختبارات لفيروس كورونا–سارس–2 أن تلتزم التزاماً صارماً بممارسات السلامة البيولوجية المناسبة. ويتعين أن يتم فحص العينات السريرية التي قد تحتوي على فيروس كورونا–سارس–2 في مختبرات مجهّزة تجهيزاً مناسباً من قِبَل موظفين مدرَّبين على الإجراءات التقنية وإجراءات السلامة ذات الصلة. ويجب اتّباع المبادئ التوجيهية الوطنية بشأن السلامة البيولوجية في المختبرات في جميع الظروف. وتحتاج مناولة العينات لأغراض الاختبارات الجزيئية باستخدام تفاعل البوليميراز المتسلسل بالانتساخ العكسي القياسي إلى مرافق تتمتع بمستوى السلامة البيولوجية (BSL) 2 أو ما يعادله مع استخدام خزانة للسلامة البيولوجية (BSC) أو جهاز احتواء أوّلي يوصى به لتداول العيّنة قبل تعطيلها.

وتحتاج محاولات عزل الفيروس في مجال زراعة الخلايا إلى مرافق تتمتع بمستوى السلامة البيولوجية 3 كحد أدنى. وعند إجراء زراعة فيروسية على عينات سريرية يُحتَمَل أن تكون إيجابية لفيروس كورونا–سارس– 2 لأغراض أخرى، يجب إجراء تقييم للمخاطر متبوعاً بتدابير وإجراءات السلامة المطلوبة [136].

وقد تسمح اعتبارات محددة لمتطلبات السلامة البيولوجية بإجراء بعض المقايسات في نقاط الرعاية (POC) أو قرب المرضى خارج خزانات السلامة البيولوجية، بمراجعة اللوائح المحلية، بعد إجراء تقييم للمخاطر، وعند وضع تدابير كافية للتخفيف من المخاطر. ولمزيد من التفاصيل بشأن السلامة البيولوجية المختبرية، انظر الإرشادات المبدئية المحددة للسلامة البيولوجية المختبرية [3]. وللاطّلاع على المبادئ التوجيهية العامة للسلامة البيولوجية المختبرية، انظر دليل منظمة الصحة العالمية للسلامة البيولوجية المختبرية، الطبعة الثالثة [136].

اختبارات فيروس كورونا-سارس-2

اختبار تضخيم الحمض النووي

ينبغي، حيثما أمكن، إخضاع حالات العدوى النشطة المشتبه في إصابتها بفيروس كورونا-سارس-2 لاختبار تضخيم الحمض النووي، على سبيل المثال تفاعل البوليميراز المتسلسل بالانتساخ العكسي. ويتعيّن أن تستهدف مقايسات اختبار تضخيم الحمض النووي جينوم فيروس كورونا-سارس-2. وبما أنه لا توجد حالياً دورة معروفة لفيروس كورونا-سارس-1 على الصعيد العالمي، فإن متوالية فيروس ساربيكو المحددة هي أيضاً هدف معقول. وفيما يخص المُقايسات التجارية، يجب أن يتم تفسير النتائج وفقًا لتعليمات الاستخدام. وتتألف عمليات التشخيص المثلى من مقايسة لاختبار تضخيم الحمض النووي ذات هدفين مستقلين على الأقل على جينوم فيروس كورونا-سارس-2، ومع ذلك، في المناطق التي ينتشر فيها ذلك الفيروس على نطاق واسع، يمكن اعتماد خوارزمية بسيطة ذات هدف تمييزي واحد. وعند استخدام مقايسة ذات هدف واحد، من المستحسن أن تكون هناك استراتيجية موضوعة لرصد الطفرات التي قد تؤثر على الأداء. ولمزيد من التفاصيل، انظر القسم أدناه بعنوان "معلومات أساسية عن رصد الطفرات في البادئات الممهّدة والمجسّات".

معلومات أساسية عن رصد الطفرات في مناطق البادئات المُمَهِّدة والمجسّات

نظراً لأن فيروس كورونا-سارس-2 يواصل اكتساب تغيرات وراثية بمرور الوقت، فإن عدم التطابق بين البادئات المُمَهِّدة و/أو المِجَسّات ومواقع الربط المقابِلة داخل جينومات ذلك الفيروس قد يقلل من حساسية اختبار تضخيم الحمض النووي. وحيثما كان ذلك ممكناً، يلزم رصد أوجه عدم التطابق بين البادئات المُمَهِّدة والمِجَسّات بسبب طفرات فيروس كورونا-2-سارس، وتقييم تأثيرها. ومن خلال الاختبار الروتيني لجميع العينات باستخدام مجموعتين مختلفتين من البادئات المُمَهِّدة/ المِجَسّات التي تستهدف المناطق المجينية المختلفة، يمكن الحد من خطر النتائج السلبية الكاذبة. وتتوفر عدة أدوات لرصد الطفرات ذات الصلة، بما في ذلك عمليات البحث التي تجرى بواسطة GISAID (المبادرة العالمية بشأن تبادل جميع بيانات الأنفلونزا) وغيرها من الأدوات بما في ذلك PrimerCheck (مركز إيراسموس الطبي)، و PrimerScan (المركز الأوروبي للوقاية من الأمراض ومكافحتها) و CoV-GLUE (اتحاد الجينومات الوراثية لكوفيد-19 بالمملكة المتحدة، ومركز البحوث الفيروسية الطبية التابع لجامعة غلاسغو MRC). وتسمح أدوات Primercheck وCOV-GLUE للباحثين باستخدام بيانات المتواليات الخاصة بهم بصورة سرية كمدخلات. ويشار إلى أن الطفرات في البادئات المُمَهِّدة/المِجَسّات لا تؤدي جميعها إلى تغييرات كبيرة في الأداء. ولا تكفي التوقّعات الافتراضية *In silico* بشأن كفاءة الربط لتحديد التأثير الكمي لعدم التطابق على حساسيّة اختبار تضخيم الحمض النووي، لذلك من الضروري إجراء مقارنة تجريبيّة لحساسيّة المقايسة في كلٍّ من مُستَفرَدات الفيروسات المتغيّرة والمرجعيّة. وفيما يخصّ المقايسات التجاريّة، من الضروري تَتَبُّع الوقائع المحتملة للأداء دون المستوى الأمثل. وعليكم بإبلاغ الشركة المصنِّعة للمقايسة ومنظمة الصحة العالمية بأي شواغل قد تواجهكم بشأن مقايسة معيّنة.

وقد أصبح العديد من مقايسات تفاعل البوليميراز المتسلسل بالانتساخ العكسي التي تجرى على النطاقين الداخلي والتجاري متاحة وتم التحقق من صحة العديد منها بشكل مستقل [143-137]. وترد في المرفق 3 بعض الاعتبارات لاختيار اختبار تضخيم الحمض النووي المناسب للمختبر. والقليل من أنظمة اختبار تضخيم الحمض النووي لديه القدرة على إجراء اختبارات مؤتمتة بالكامل تشمل معالجة العينات وكذلك القدرة على استخراج الحمض النووي الريبي والتضخيم والإبلاغ. وتوفر مثل هذه الأنظمة إمكانية إجراء الاختبارات في مواقع ذات قدرة مختبرية محدودة، وتتيح تسريع وقت التجهيز عند استخدامها لإجراء الاختبارات قرب المرضى. وتتوفر الآن بيانات التحقق من صحة بعض هذه المقايسات [144]. وعند تنفيذ هذه المقايسات في بيئات محددة، ينبغي تدريب الموظفين الذين يؤدون الاختبار تدريباً مناسباً، ويتعين تقييم الأداء في تلك البيئات المحددة، ويجب أن يكون هناك نظام موضوع لرصد الجودة. وثمة أساليب إضافية قيد التطوير أو في طور التسويق التجاري يمكن أن تكون قيّمة لأغراض التضخيم/الكشف، مثل CRISPR (استهداف متكررات قصيرة التواتر متكتلة بانتظام)، وتكنولوجيات تضخيم الحمض النووى المتساوي الحرارة (على سبيل المثال التضخيم المتساوي الحرارة مقروناً بالانتساخ العكسي (RT-LAMP)، ومقايسات الصفائف المجهرية

الجزيئية [147-145]. ويُشجَّع على التحقق من الأداء التحليلي والسريري لهذه المقايسات، وإثبات فائدتها التشغيلية المحتملة، وسرعة تبادل البيانات، فضلاً عن الاستعراض التنظيمي في حالات الطوارئ لاختبارات جيدة الأداء قابلة للتصنيع، وذلك لزيادة إمكانية إجراء اختبارات فيروس كورونا-سارس 2.

وثمة حاجة إلى تفسير دقيق لنتائج اختبار تضخيم الحمض النووي الإيجابية الضعيفة، حيث بيّنت بعض المقايسات أنها تنتج إشارات خاطئة عند القيم العالية للتصوير الشّعاعي الطبقي بالحاسوب Ct. ومتى تَبيَّنَ أن نتائج الاختبار غير صالحة أو مشكوك فيها، ينبغي معاودة أخذ عينات من المريض وإعادة الاختبار. وإذا لم تتوفر عينات إضافية من المريض، يتعين إعادة استخراج الحمض النووي الريبي من العينات الأصلية وإعادة اختبارها من قبل موظفين ذوي خبرة عالية. ويمكن تأكيد النتائج من خلال اختبار بديل لتضخيم الحمض النووي أو عن طريق تتبُّع متواليات الفيروس إذا كان الحمل الفيروسي مرتفعًا بما فيه الكفاية. وتُحَث المختبرات على التماس تأكيد مختبري مرجعي لأي نتائج غير متوقعة.

ولا تستبعد نتيجة سلبية واحدة أو أكثر بالضرورة الإصابة بعدوى فيروس كورونا-سارس-2 [74-66 ,58 ,42 ,40]. ويمكن أن يؤدي عدد من العوامل إلى نتيجة سلبية لدى الفرد المصاب، بما في ذلك:

- رداءة نوعية العينة، لاحتوائها على القليل جداً من المواد الخاصة بالمريض؛
- أن العينة قد جُمِعَت في وقت متأخر من مسار المرض، أو أن العينة أُخِذَت من حيز جسدي لم يكن يحتوي على الفيروس في ذلك الوقت المحدد؛
- أن العينة لم تتم مناولتها و/أو شحنها بشكل مناسب؛
- أسباب تقنية متأصلة في الاختبار، مثل تثبيط تفاعل البوليمراز التسلسلي أو طفرة الفيروس.

وفيما يخص التدبير العلاجي للحالات السريرية، يرد وصف لخوارزمية اختبار مقترحة في الشكل 1.

بدائل استخراج الحمض الرّيبي النووي

يتطلب معظم سير العمل التشخيص الجزيئي التقليدي استخراج الحمض الرّيبي النووي قبل إجراء اختبار تفاعل البوليميراز المتسلسل بالانتساخ العكسي. ومع ذلك، فإن هناك نقصاً عالمياً في لوازم الاستخراج التجارية بسبب جائحة كوفيد-19. وقد يوفر تفاعل البوليميراز المتسلسل بالانتساخ العكسي مباشرةً من المسحات البلعومية الأنفية بديلاً طارئاً أو مؤقتاً لاستخراج الحمض الرّيبي النووي، ولكن القيود على حجم المدخلات، فضلاً عن زيادة خطر تدهور الحمض الرّيبي النووي وتثبيط تفاعل البوليمراز التسلسلي يمكن أن تؤدي إلى فقدان حساسية المقايسة [149, 148]. وقد تؤثر المعالجة الحرارية قبل تجهيز العينة على جودة الحمض الرّيبي النووي [149,150]. ومن بين العوامل الأخرى التي قد تؤثر على جودة الحمض الرّيبي النووي والتي ينبغي تقييمها قبل التنفيذ إضافة المنظفات، ووسائط النقل، وحجم العينات المستخدمة، وإنزيم البوليميراز المستخدم [154-151 ,148]. وينبغي أيضاً النظر في آثار سير عمليات الاستخراج البديل على السلامة البيولوجية. ويتعين على المختبرات التي تنظر في طرق بديلة تتجاوز الحاجة إلى استخراج الحمض الرّيبي النووي أن تتحقق من صحة بروتوكولاتها بدقة وأن تجري تقييماً للمخاطر يزن الفوائد مقابل المخاطر، قبل دمج هذه البروتوكولات في سير عمل التشخيص.

تجميع العينات لإجراء اختبار تضخيم الحمض النووي

يمكن أن يؤدي تجميع العينات من أفراد متعددين إلى زيادة القدرة التشخيصية للكشف عن فيروس كورونا–سارس–2 عندما لا يلبي معدل الاختبارات الطلب في بعض البيئات [159–155]. وهناك عدة استراتيجيات لتجميع العينات. فإذا كانت النتيجة المجمّعة سلبية، تُعتبَر جميع العينات الفردية في المُجَمَّع سلبية. وإن كانت اختبارات المجمّع إيجابية فإن خطوات المتابعة تعتمد على الاستراتيجية، ولكن بشكل عام تحتاج كل عينة إلى الخضوع لاختبارات فردية (إزالة تشوّش صورة المُجَمَّع) لتحديد العينة أو العينات الإيجابية. وثمة نهج آخر وهو التجميع المصفوفي. ويعني ذلك أن المجمّعات تُوضَع لكل صف ولكل عمود، وتُختبَر بواسطة تفاعل البوليمراز التسلسلي، ويحدِّد الموضع في المصفوفة العينات الإيجابية دون إجراء اختبارات إضافية إذا كان الانتشار منخفضاً بما فيه الكفاية. وتبعاً لمدى قوة أسلوب اختبارات المصفوفة في السياق المعين، قد يكون من المستحسن رغم ذلك إعادة اختبار العينات الإيجابية المحددة بغرض التأكّد. ويمكن النظر في تجميع العينات في شكل مجموعات سكانية بمعدل انتشار متوقع منخفض/شديد الانخفاض لعدوى فيروس كورونا–سارس–2، ولكن ليس بالنسبة للحالات أو الأفواج الأكثر عرضة للإصابة بذلك الفيروس. ولا يوصى بالاستخدام الروتيني لتجميع العينات من أفراد متعددين في مجال الرعاية السريرية ولأغراض تَتَبُّع المخالطين. وقد أُجرِيَت دراسات لتحديد العدد الأمثل لتجميع العيّنات واستراتيجيات تجميع التصاميم في بيئات مختلفة للفاشية [162-160 ,156].

وقبل أن يتسنى تنفيذ أي بروتوكولات لتجميع العينات، يجب التحقق من صحتها في الفئات والسياقات المناسبة. وقد يؤدي انتهاج استراتيجية اختبارات غير ملائمة إلى تفويت حالات أو إلى أخطاء مختبرية أخرى قد تؤثر بدورها سلباً على التدبير العلاجي للمريض وإجراءات مراقبة الصحة العمومية. وبالإضافة إلى ذلك، يجب النظر في خطر التلوث المتبادل والزيادة المحتملة في تعقيد وحجم أعباء العمل. ومن أجل القيام بتجميع موثوق به، يعدّ التشغيل الآلي الملائم أمراً أساسياً (مثل نظم التحكم الآلي، والبرامجيات التي تدعم الخوارزميات لتحديد العينات الإيجابية، ونظم المعلومات المختبرية، والأعمال الوسيطة التي يمكن تفعيلها مع تجميع العينات).

واستناداً إلى البيانات المتاحة حالياً، يمكن استخدام التجميع فيما بين الأفراد (عينات متعددة من فرد واحد يتم تجميعها واختبارها كعينة واحدة) من واقع عينات الجهاز التنفسي العلوي. ولا يوصى بتجميع البلغم والبراز فيما بين الأفراد مع عينات الجهاز التنفسي العلوي لأن العينات الأولى قد تحتوي على مركّبات تمنع تفاعل البوليميراز المتسلسل بالانتساخ العكسي.

إجراء اختبارات تشخيصية سريعة اعتماداً على اكتشاف المستضدّات

يجري تطوير وتسويق اختبارات تشخيصية سريعة تكشف عن وجود بروتينات (مستضدات) فيروس كورونا–سارس–2 في عينات الجهاز التنفسي. ومعظم هذه الاختبارات هي مقايسات مناعية بانسياب جانبي (LFI)، يتم الانتهاء منها عادةً في غضون 30 دقيقة. وعلى النقيض من اختبارات تضخيم الحمض النووي، فإنه لا يوجد تضخيم للهدف الذي يتم اكتشافه، مما يجعل اختبارات المستضدّات أقل حساسيّة. وبالإضافة إلى ذلك، قد تحدث نتائج إيجابية كاذبة (تشير إلى إصابة شخص ما عندما لا يكون مصابًا) إذا كانت الأجسام المضادة على شريط الاختبار تتعرّف أيضًا على مستضدّات فيروسات أخرى غير فيروس كورونا–سارس–2، مثل الفيروسات التاجية البشرية الأخرى.

ويبدو أن حساسية مختلف الاختبارات التشخيصية الأخرى مقارنةً بتفاعل البوليميراز المتسلسل بالانتساخ العكسي في العينات المأخوذة من الجهاز التنفسي العلوي (المسحات البلعومية الأنفية) متغيرة للغاية [165-163 ,144] ولكن يتم الإبلاغ باستمرار عن خصوصية عالية. وحالياً، لا تزال البيانات عن أداء المستضدّات في السياق السريري محدودة: ويشجّع على إجراء اختبار تضخيم الحمض النووي المزدوج والتثبّت من المستضدّات في الدراسات السريرية لتحديد أيٍّ من اختبارات الكشف عن المستضدّات التي هي إما قيد التطوير أو تم تسويقها تجارياً بالفعل تُظهِر أداءً مقبولاً في الدراسات الميدانيّة التمثيليّة. وعندما يكون الأداء مقبولاً، يمكن تنفيذ اختبارات تشخيصية سريعة في خوارزمية تشخيصية لتقليل عدد الاختبارات الجزيئية المطلوب إجراؤها ودعم التحديد السريع لحالات كوفيد–19 وتدبيرها علاجياً. وتتوقف كيفيّة إدماج الكشف عن المستضدّات في خوارزميّة الاختبارات على حساسيّة وخصوصيّة اختبار المستضدّات وعلى انتشار العدوى بفيروس كورونا–سارس–2 في المجموعة المستهدفة بالاختبارات. وترتبط الأحمال الفيروسيّة الأعلى بتحسين أداء اختبار المستضدّات؛ ولذلك من المتوقّع أن يكون أداء الاختبار أفضل حول بداية الأعراض وفي المرحلة الأوليّة للعدوى بفيروس كورونا–سارس–2. ولمزيد من الإرشادات المحددة بشأن اختبارات كشف

المستضدّات، انظر وثيقة منظمة الصحة العالمية بعنوان إرشادات مبدئية بشأن الكشف عن المستضدّات في تشخيص الإصابة بعدوى فيروس كورونا-سارس-2 باستخدام مقايسات مناعيّة سريعة [5].

اختبارات الأجسام المضادة

يمكن أن تكون المقايسات السيرولوجية التي تكشف الأجسام المضادة التي ينتجها جسم الإنسان استجابةً للعدوى بفيروس كورونا-سارس-2 مفيدة في بيئات مختلفة.

وعلى سبيل المثال، يمكن استخدام دراسات الترصد المصلي لدعم تقصي فاشية جارية ولدعم التقييم الاستعادي لمعدل النوبات أو حجم الفاشية [9]. وبما أن فيروس كورونا-سارس-2 هو عامل مستجدّ مسبِّب للأمراض، فإن فهمنا لاستجابات الأجسام المضادة التي يولّدها لا يزال ناشئاً، وبالتالي ينبغي استخدام اختبارات الكشف عن الأجسام المضادة بحذر، وعدم استخدامها لتحديد حالات العدوى الحادة.

ولا يمكن أن تكشف المقايسات غير الكمية (مثل مقايسات الانسياب الجانبي) عن زيادة في عيارات الأجسام المضادة، على النقيض من المقايسات شبه الكمية أو الكمية. ولا يوصى حالياً بمقايسات كشف الأجسام المضادة بانسياب جانبي (أو غيرها من المقايسات غير الكمية) لتشخيص الحالات الحادة والتدبير العلاجي السريري ويجري دراسة دورها في المسوح الوبائية. ولمزيد من المعلومات حول فائدة الاختبارات التشخيصية المناعية السريعة، نحيل إلى الموجز العلمي لمنظمة الصحة العالمية الذي يشمل نصائح بشأن الاختبارات التشخيصية المناعية لفيروس كورونا-سارس-2 في نقاط الرعاية [4].

ولا ينبغي استخدام السيرولوجيا المصلية كوسيلة تشخيص قائمة بذاتها لتحديد الحالات الحادة في مجال الرعاية السريرية أو لأغراض تتبُّع المخالطين. ويتعيّن أن يقوم خبير بتقديم تفسيرات تعتمد على عدة عوامل منها توقيت المرض، والأمراض السريرية، وعلم الأوبئة والانتشار في إطار السياق، ونوع الاختبار المستخدم، وطريقة التحقق من الصحة، وموثوقية النتائج.

وقد لوحظ أن التحوّل المصلي (تطوّر استجابة الأجسام المضادّة القابلة للقياس بعد العدوى) يكون أكثر قوّة وأسرع في المرضى الذين يعانون من اعتلال شديد مقارنةً بأولئك الذين يعانون من اعتلالات أكثر اعتدالاً أو حالات عدوى غير أعراضية. وقد تم الكشف عن أجسام مضادة في وقت مبكر عند نهاية الأسبوع الأول من المرض لدى جزء صغير من المرضى، ولكن يمكن أيضاً أن يستغرق تطورها أسابيع في المرضى الذين يعانون من عدوى دون سريرية/خفيفة [37, 166-173]. والتشخيص الموثوق للعدوى بكوفيد-19 استناداً إلى استجابة الأجسام المضادة للمرضى غالباً ما يكون ممكناً فقط في مرحلة التعافي، عندما تنقضي فرص التدخل السريري أو وقف انتقال المرض. ولذلك، لا تكون السيرولوجيا المصليّة بديلاً مناسباً للمقايسات الفيروسية في توفير المعلومات اللازمة لتتبُّع المخالطين أو التدبير العلاجي السريري لهم. ولا تزال مدة استمرار الأجسام المضادة المتولّدة استجابةً لفيروس كورونا-سارس-2 قيد الدراسة [174, 49]. وعلاوةً على ذلك، فإن وجود أجسام مضادة ترتبط بفيروس كورونا-سارس-2 لا يضمن أن تكون أجساماً مضادة تحييدية، أو أن توفر مناعة وقائية.

الاختبارات المصلية المتاحة للكشف عن الأجسام المضادة

ثمة اختبارات تجارية وغير تجارية أصبحت متاحة لقياس أجسام الارتباط المضادة (مجموع الغلوبولينات المناعِيّة **(Ig)**، اختبار المضاد المناعي بالامتصاص المناعي المرتبط بالإنزيم **IgG**، مُقايَسَةُ الممتز المَناعِيّ المُرْتَبِطِ بالإنْزيم للغلوبولين المناعي **IgM**، و/أو **IgA** في توليفات مختلفة) باستخدام تقنيات متنوعة بما في ذلك **LFI** ومُقايَسَة المُمْتَزّ المناعيّ المُرْتَبِط بالإنزيم ومقايسة اللمعان الكيميائي المناعية. وقد نُشِر عدد من عمليات التحقق من صحة هذه المقايسات ومراجعاتها المنهجية [170, 171, 173, 175-177]. ويختلف أداء المقايسات السيرولوجية بشكل كبير في مجموعات الاختبار المختلفة (كما هو الحال في المرضى الذين يعانون من اعتلالات معتدلة مقابل اعتلالات معتدلة إلى وخيمة وكذلك في الشباب مقابل كبار السن) ، وتوقيت الاختبارات والبروتين الفيروسي المستهدف. وسوف يتطلب فهم هذه الاختلافات في الأداء مزيداً من الدراسة. وقد تتفاعل اختبارات الكشف عن الأجسام المضادة لفيروس كورونا تبادليّاً أيضاً مع مسبّبات الأمراض الأخرى، بما في ذلك

الفيروسات التاجية البشرية الأخرى، [167, 178-180] أو مع الحالات الموجودة من قبل (على سبيل المثال الحمل، وأمراض المناعة الذاتية) وبالتالي تسفر عن نتائج إيجابية كاذبة.

وتُعتبَر مقايسات تحييد الفيروسات هي اختبار معيار الذهب للكشف عن وجود الأجسام المضادة الوظيفية. وتتطلب هذه الاختبارات موظفين ذوي مهارات عالية ومرافق استنبات تتمتع بمستوى السلامة البيولوجية 3، وبالتالي فهي غير مناسبة للاستخدام في الاختبارات التشخيصية الروتينية.

تنفيذ وتفسير اختبارات الأجسام المضادة في المختبر السريري

عند تنفيذ الفحوصات السيرولوجية في المختبر السريري، من المستحسن التثبُّت من صحة المقايسات المحددة أو التحقق منها داخلياً. وحتى إذا كان قد تم الإذن باستخدام الاختبارات التجارية في حالات الطوارئ، فإن التحقق الداخلي (أو المصادقة إذا اشترطت السلطات المحلية ذلك) لا يزال مطلوباً. وهناك بروتوكولات وأمثلة مع اقتراحات حول كيفية القيام بذلك متاحة الآن .[170, 171, 181]

ويشار إلى أن كل اختبار سيرولوجي مختلف. وفيما يتعلق بالاختبارات التجارية، تُتَّبَع إرشادات الشركة المصنِّعة بشأن الاستخدام. وتشير الدراسات إلى أن العديد من المقايسات التجارية لقياس مجمل الغلوبولين المناعي Ig أو اختبار المضاد المناعي بالامتصاص المناعي المرتبط بالإنزيم IgG قد أدت بشكل جيد. ولا تُبيِّن معظم هذه الدراسات أي ميزة ترجّح مُقايَسَةُ الممتز المَناعِيّ المُرْتَبِطِ بالإنْزيم للغلوبولين المناعي IgM على اختبار المضاد المناعي بالامتصاص المناعي المرتبط بالإنزيم IgG، حيث لا تظهر مقايسة IgM في وقت أسبق بكثير من مقايسة IgG [173]. ولم يتم تحديد الدور الإضافي لاختبارات IgA في أساليب التشخيص الروتينية. ولتأكيد عدوى حديثة، يجب اختبار أمصال في المرحلة الحادة ومرحلة النقاهة باستخدام مقايسة شبه كمية أو كمية تم التحقق منها. وينبغي جمع العيّنة الأولى خلال المرحلة الحادة من المرض، والعيّنة الثانية بعد 14 يوماً على الأقل من جمع الأمصال الأوليّة. ومن المتوقع أن تحدث مستويات الأجسام المضادة القصوى في الأسبوع الثالث/ الرابع بعد ظهور الأعراض. وسوف يساعد التحوّل المصلي أو ارتفاع عيارات الأجسام المضادة في الأمصال المقترنة على تأكيد ما إذا كانت العدوى حديثة و/أو حادة. وإذا كانت اختبارات العيّنات الأوليّة إيجابيّة، يمكن أن تكون هذه النتيجة بسبب عدوى سابقة لا علاقة لها بالمرض الحالي.

وقد تم توثيق أول حالة معروفة للإصابة من جديد بفيروس كورونا-سارس-2 [182]. ولا تتوفر سوى معلومات محدودة عن تفسير اختبارات الأجسام المضادة لفيروس كورونا سارس-2 بعد عدوى سابقة بذلك الفيروس، وعن ديناميات السيرولوجيا المصلية للفيروس إذا حدثت عدوى لاحقة بفيروس تاجي آخر. وفي هاتين المجموعتين من الظروف، قد يطرح تفسير السيرولوجيا المصلية تحدّيات بالغة.

العزل الفيروسي

عزل الفيروس غير مستحسن كإجراء تشخيصي روتيني. وتتطلب جميع الإجراءات التي تنطوي على العزل الفيروسي في زراعة الخلايا موظفين مدرّبين ومرافق تتمتع بمستوى السلامة البيولوجية 3. وينبغي إجراء تقييم دقيق للمخاطر عند زراعة عيّنات من مرضى يُحتمَل أن يكونوا مصابين بفيروس كورونا-سارس-2 لكشف فيروسات أخرى في الجهاز التنفسي، لأنه قد تبيّن أن ذلك الفيروس ينمو على مجموعة متنوعة من خطوط الخلايا [183].

تحديد التسلسل الجينومي لفيروس كورونا-سارس-2

يمكن استخدام تحديد التسلسل الجينومي لفيروس كورونا-سارس-2 لتقصّي ديناميّات الفاشية، بما في ذلك التغيّرات في حجم الوباء مع مرور الوقت، وانتشاره الزماني المكاني، واختبار الفرضيات القائمة حول طرق انتقال المرض. وبالإضافة إلى ذلك، يمكن استخدام المتواليات الجينوميّة لتحديد أيّ المقايسات التشخيصيّة والأدوية واللقاحات قد يكون مرشّحاً مناسباً لمزيد من الاستكشاف. ولذلك، يمكن لتحليل مجين فيروس كورونا

سارس– 2 أن يكمل ويعزز ويدعم استراتيجيات خفض عبء المرض الناجم عن الإصابة بكوفيد–19. غير أنه إزاء التكلفة المرجّح أن تكون عالية وحجم العمل اللازم لتحديد التسلسل الجينومي، على المختبرات أن تكون واضحة بشأن العائدات المتوقّعة من مثل هذا الاستثمار وما هو مطلوب لتعظيم فائدة بيانات التسلسل الجيني هذه. ويجري حالياً إعداد توجيهات منظمة الصحة العالمية بشأن تحديد التسلسل الجيني لفيروس كورونا–سارس–2.

ضمان الجودة

قبل إدخال طريقة اختبار جديدة، أو مقايسة جديدة، أو دفعات جديدة من المواد، أو فني جديد مختص بتفاعل البوليمراز التسلسلي في المختبر، ينبغي القيام بعملية مصادقة أو تحقق، لضمان أن نظام الفحص المختبري يؤدي بشكل وافٍ.

وفيما يخص نظم تفاعل البوليمراز التسلسلي اليدويّة، يتعيّن أن تتضمّن كل عيّنة من عيّنات اختبار تضخيم الحمض النووي ضوابط داخليّة، ومن الناحية المثاليّة ضوابط لجمع العينات (استهداف الجينات البشرية). وبالإضافة إلى ذلك، يوصى بضوابط خارجية لكل جولة اختبار. ويجب على المختبرات التي تطلب المشارِع والمسابر الخاصة بها إجراء اختبارات الدخول أو المصادقة مع النظر إلى الفعالية الوظيفية والملوثات المحتملة [184].

وتُشجَّع المختبرات على تحديد حدود الكشف لمقاييساتها، وعلى كبار الموظفين أن يدركوا كيف يغيّر انتشار المرض من القيمة التنبؤيّة لنتائج اختباراتهم. فبمجرد انخفاض عدد الحالات، ستنخفض القيمة التنبؤيّة الإيجابيّة، ولذلك ينبغي أن يظل تفسير الاختبارات جزءاً من مخطّط صارم لضمان الجودة، حيث يتم التفسير على أساس: توقيت أخذ العيّنات، ونوع العيّنة، وخصوصيّات الاختبار، والبيانات السريريّة، والبيانات الوبائيّة.

وعلى المختبرات أن تضع تدابير للحدّ من احتمال ظهور نتائج إيجابيّة زائفة لتفاعل البوليميراز المتسلسل بالانتساخ العكسي، وأن تكون لديها استراتيجيّة لإدارة النتائج الملتبسة. انظر المرفق 4 للاطّلاع على قائمة مرجعيّة.

ويتعيّن أن يكون لدى المختبرات، بوجه عام، نظام لضمان الجودة، وتُشجَّع على المشاركة في خطط تقييم الجودة الخارجية (EQA) أو إجراء مقارنة للنتائج بين المختبرات في مجموعة فرعيّة من العيّنات.

وقد نصحت منظّمة الصحّة العالميّة المختبرات الوطنيّة في السابق بضمان جودة الأداء من خلال تأكيد نتائج الاختبارات للعينات الإيجابيّة الخمس الأولى والعينات السلبيّة العشر الأولى (التي تمّ جمعها من مرضى يناسبون تعريف الحالة)، وذلك بإحالتها إلى أحد المختبرات المرجعيّة التابعة للمنظّمة والتي توفّر اختبارات تأكيديّة لفيروس كورونا–سارس–2. وقدّمت المنظّمة الدعم إلى المختبرات الوطنيّة لتيسير شحن العينات إلى أحد المختبرات المرجعيّة المخصّصة. ولمزيد من المعلومات، يرجى الرجوع إلى الموقع الإلكتروني للمنظمّة الإنترنت للاطّلاع على قائمة المختبرات المرجعيّة [185] وتعليمات الشحن [135]. ومن شأن تعزيز المختبرات المرجعيّة الوطنيّة وزيادة فرص الوصول إلى مخطّطات السلطة المعنية بضمان الجودة فيما يخصّ فيروس كورونا–سارس–2 أن يقلّل من الحاجة إلى استخدام هذه الآلية. واذا لم تكن اختبارات ذلك الفيروس متاحة بعد فى بلد ما، فيجب بذل جهود لإنشاء قدرات وطنيّة .

الإبلاغ عن الحالات ونتائج الاختبارات

يعدّ الإبلاغ السريع عن نتائج الاختبارات أمراً مهمّاً لتخطيط وتصميم تدخّلات الصحة العموميّة ومكافحة الفاشيات. وينبغي أن تتّبع المختبرات متطلّبات الإبلاغ الوطنيّة. ويتعيّن عموماً إبلاغ السلطات الوطنيّة فوراً بجميع نتائج الاختبارات، سواء أكانت إيجابيّة أم سلبيّة. ويجدر تذكير الدول الأطراف في اللوائح الصحيّة الدوليّة (IHR) بالتزاماتها بتبادل معلومات الصحّة العموميّة ذات الصلة مع منظّمة الصحّة العالميّة فيما يخصّ الأحداث التي يجب أن تخطر المنظّمة بها، باستخدام آلية المقرّرات الواردة في المرفق 2 باللوائح الصحيّة الدوليّة (2005) [186].

وينبغي النظر إلى التفاعل المنتظم بين خبراء الصحّة العموميّة والأطبّاء وخبراء المختبرات المحليّين لمناقشة الاستراتيجيّات والمشاكل والحلول المحتملة باعتباره جزءاً أساسيّاً من الاستجابة الوافية لكوفيد-19. وتشمل هذه الاستجابة وضع إرشادات وبروتوكولات للدراسات (السريريّة والوبائيّة والتجريبيّة).

ويمكن أن يكون لزمن التجهيز السريع لنتائج الاختبار، بدوره، تأثير إيجابي على الفاشية [187, 188]. وهناك حاجة إلى إجراء المزيد من الدراسات لضبط الحد الأقصى للوقت المقبول من بداية الأعراض إلى نتيجة العيّنة ليكون ذا تأثير على التدبير العلاجي السريري ومكافحة الفاشية؛ وحالياً، يُعتبَر الحد الأقصى البالغ 24 ساعة معقولاً في معظم السياقات. وبما أن المختبرات غالباً ما تتحكّم فقط في الفترة الزمنيّة بين وصول العيّنة ونتيجة الاختبار، فمن الأهمية بمكان ضمان وصول العيّنات إلى المختبر دون تأخير.

الأساليب

أُعِدّت هذه الوثيقة بالتشاور مع خبراء من شبكة الخبراء المختصّين بمختبرات فيروس كورونا-سارس-2 . وقد أكمل الخبراء في الشبكة اتفاق السريّة وبيان المصلحة. وتم استعراض استمارات بيان المصلحة، ولم يتم تحديد أيّ أوجه تضارب بشأن دعم هذه الوثيقة الإرشاديّة. واستُخدمت توجيهات منظّمة الصحّة العالميّة ذات الصلة في هذه الوثيقة [136, 185, 189-194]. وهذه هي الطبعة السادسة (الإصدار 2020.6)، واقتُبِسَت في الأصل من الوثيقة المعنونة *الفحوص المختبريّة لفيروس كورونا المسبِّب لمتلازمة الشرق الأوسط التنفسيّة* [189].

وقد شارك في إعداد هذه الوثيقة طيف واسع من خبراء المختبرات السريريّة من مختلف المناطق. ويشمل الخبراء الداخليّون المشاركون في الإعداد جهات التنسيق الإقليميّة التابعة لمنظّمة الصحّة العالميّة، وأخصائيّي الوبائيّات، والخبراء السريريّين. وتتضمّن هذه النسخة من الإرشادات الفهم المستجدّ للفيروس وخصائصه، وتتناول المسائل والقضايا الواردة من المكاتب القطريّة والإقليميّة التابعة للمنظّمة وغيرها من القنوات.

المساهمون في هذا العمل

المجموعة التوجيهيّة لمنظّمة الصحّة العالميّة: أمل بركات، سيلين بارناداس، سيلفيا بيرتانيوليو، كارولين براون، ليزا كارتر، سيباستيان كوغنات، جين كننغهام، فارجا غرابوفاك، فرانسيس إنباناثان، كازونوبو كوجيما، جوليانا ليتي، ماركو ماركلويتز، خايرو ميندیز - ريكو، كارين ناهابيتيان، كريس أوكسينفورد، بوريس بافلين، مارك بيركنز، آن بيروشو، خوسيه روفيرا، ماريا فان كيرخوف، كارين فون إيجي، جوانا زفيتيينغا .

المساهمون الخارجيّون:

سارة هيل، جامعة أوكسفورد والكلية البيطريّة الملكيّة، المملكة المتّحدة؛ ماريا زامبون، الصحة العموميّة في انكلترا، المملكة المتّحدة؛ كورين غيرتس فان كيسل، ريتشارد مولنكامب وماريون كوبمانز، إيراسموس إم سي وآدم مايجر وشانتال روسكين، ريف إم، هولندا؛ أنطونينو دي كارو، المعهد الوطني للأمراض المعدية، لازارو سبالنزاني، إيطاليا؛ آن فون غوتبرغ، المعهد الوطني للأمراض السارية، جنوب أفريقيا؛ جانجاي نوبافان، المعهد الوطني للصحة، تايلند؛ ريموند لين، المختبر الوطني للصحّة العامّة، سنغافورة؛ ليو بون ومالك بيريس، جامعة هونغ كونغ، الصين، منطقة هونغ كونغ الإداريّة الخاصّة؛ جورج غاو، المركز الصيني لمكافحة الأمراض والوقاية منها، الصين.

المراجع

1- *توصيات بشأن استراتيجيات الفحوص المختبرية في سياق كوفيد-19* (بالإنكليزية). منظمة الصحة العالمية 2020؛ متاح من https://www.who.int/ar/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance

2- *أداة تقييم مختبري للمختبرات القائمة بتنفيذ اختبارات فيروس كوفيد-19* (بالإنكليزية). منظمة الصحة العالمية 2020، 8 نيسان/أبريل 2020، 7 تموز/يوليو 2020]؛ متاح من: https://www.who.int/ar/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance

3- *إرشادات للسلامة البيولوجية بشأن مرض فيروس كورونا (كوفيد-19)* (بالإنكليزية). منظمة الصحة العالمية 2020؛ متاح من: https://www.who.int/ar/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance

4- *نصائح بشأن استخدام اختبارات التشخيص المناعي لكوفيد-19 في نقاط الرعاية* (بالإنكليزية). منظمة الصحة العالمية، 8 نيسان/أبريل 2020؛ متاح من https://www.who.int/ar/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance

5- *كشف المستضدات في تشخيص العدوى بفيروس كورونا-سارس-2 باستخدام المقايسات المناعية السريعة، إرشادات مبدئية* (بالإنكليزية). منظمة الصحة العالمية 2020. متاح من: https://www.who.int/ar/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance

6- *اعتبارات بشأن تقصّي حالات وتجمّعات كوفيد-19* (بالإنكليزية). منظمة الصحة العالمية 2020؛ متاح من: https://www.who.int/ar/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance

7- *الترصد في مجال الصحة العمومية لمواجهة كوفيد-19: إرشادات مبدئية*، 7 آب/أغسطس 2020؛ متاح من: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/333752/WHO-2019-nCoV-SurveillanceGuidance-2020.7-ara.pdf?sequence=5&isAllowed=y

8- *الاعتبارات التشغيلية المتعلقة بترصد مرض كوفيد-19 باستخدام الشبكة العالمية لترصد الأنفلونزا والتصدي لها: إرشادات مبدئية*. منظمة الصحة العالمية 2020؛ متاح من: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/331589/WHO-2019-nCoV-Leveraging_GISRS-2020.1-ara.pdf?sequence=21&isAllowed=y

9- *دراسات الوحدة: بروتوكولات الاستقصاءات المبكرة* (بالإنكليزية). 2020، 27 تموز/يوليو 2020]؛ متاح من: https://www.who.int/ar/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance

10- Gorbalenya A, B.S., Baric R, de Groot R, Drosten C, Gulyaeva A, Haagmans B, Lauber C, Leontovich A, Neuman B, Penzar D, Perlman S, Poon L, Samborskiy D, Sidorov I, Sola I, Ziebuhr J, *The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2.* Nat Microbiol, 2020. **5**(4): p. 536-544.

11- *International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV)*. 2020 27 July 2020]; Available from: https://talk.ictvonline.org/.

12- Naqvi, A.A.T., et al., *Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach.* Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2020. **1866**(10): p. 165878.

13- Yoshimoto, F.K., *The Proteins of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS CoV-2 or n-COV19), the Cause of COVID-19.* Protein J, 2020. **39**(3): p. 198-216.

14- Kim, D., et al., *The Architecture of SARS-CoV-2 Transcriptome.* Cell, 2020. **181**(4): p. 914-921 e10.

15- Lu, R., et al., *Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding.* Lancet, 2020. **395**(10224): p. 565-574.

16- Yan, R., et al., *Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2.* Science, 2020. **367**(6485): p. 1444-1448.

17- Ni, W., et al., *Role of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) in COVID-19.* Crit Care, 2020. **24**(1): p. 422.

18 - Wu, Z. and J.M. McGoogan, *Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention.* JAMA, 2020.

19- Mizumoto, K., et al., *Estimating the asymptomatic proportion of coronavirus disease 2019 (COVID-19) cases on board the Diamond Princess cruise ship, Yokohama, Japan, 2020.* Euro Surveill, 2020. **25**(10).

20- He, J., et al., *Proportion of asymptomatic coronavirus disease 2019 (COVID-19): a systematic review and meta-analysis.* J Med Virol, 2020.

21- Kronbichler, A., et al., *Asymptomatic patients as a source of COVID-19 infections: A systematic review and meta-analysis.* Int J Infect Dis, 2020.

22- Al-Sadeq, D.W. and G.K. Nasrallah, *The incidence of the novel coronavirus SARS-CoV-2 among asymptomatic patients: a systematic review.* Int J Infect Dis, 2020.

23 - Kluytmans-van den Bergh, M.F.Q., et al., *Prevalence and Clinical Presentation of Health Care Workers With Symptoms of Coronavirus Disease 2019 in 2 Dutch Hospitals During an Early Phase of the Pandemic.* JAMA Netw Open, 2020. **3**(5): p. e209673.

24 - Gudbjartsson, D.F., et al., *Spread of SARS-CoV-2 in the Icelandic Population.* N Engl J Med, 2020. **382**(24): p. 2302-2315.

25- Arons, M.M., et al., *Presymptomatic SARS-CoV-2 Infections and Transmission in a Skilled Nursing Facility.* N Engl J Med, 2020.

26- Bitnun, A., et al., *Severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus infection in Toronto children: a second look.* Pediatrics, 2009. **123**(1): p. 97-101.

27- Richardson, S., et al., *Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes Among 5700 Patients Hospitalized With COVID-19 in the New York City Area.* JAMA, 2020.

28- Wyllie, A.L., et al., *Saliva or Nasopharyngeal Swab Specimens for Detection of SARS-CoV-2.* N Engl J Med, 2020.

29- منظمة الصحة العالمية. *مسودة خطة البحث والتطوير في سياق كوفيد-19* (بالإنكليزية). 2020 [الاستشهاد 2020، 16 تموز/يوليو 2020]؛ متاح من: https://www.who.int/ar/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance

30 - CLOPID-R. *Global research collaboation for infectious disease preparedness, preparedness, data sharing*. 2020 16 July 2020]; Available from: https://www.glopid-r.org/our-work/data-sharing/.

31- Li, Q., et al., *Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia.* N Engl J Med, 2020. **382**(13): p. 1199-1207.

32- Guan, W.J., et al., *Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China.* N Engl J Med, 2020. **382**(18): p. 1708-1720.

33 - Linton, N.M., et al., *Incubation Period and Other Epidemiological Characteristics of 2019 Novel Coronavirus Infections with Right Truncation: A Statistical Analysis of Publicly Available Case Data.* J Clin Med, 2020. **9**(2).

34- Lauer, S.A., et al., *The Incubation Period of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) From Publicly Reported Confirmed Cases: Estimation and Application.* Ann Intern Med, 2020. **172**(9): p. 577-582.

35 - Backer, J.A., D. Klinkenberg, and J. Wallinga, *Incubation period of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infections among travellers from Wuhan, China, 20-28 January 2020.* Euro Surveill, 2020. **25**(5).

36- He, X., et al., *Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19.* Nat Med, 2020. **26**(5): p. 672-675.

37- Wolfel, R., et al., *Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019.* Nature, 2020.

38- Weiss, A., M. Jellingso, and M.O.A. Sommer, *Spatial and temporal dynamics of SARS-CoV-2 in COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis.* EBioMedicine, 2020. **58**: p. 102916.

39- Sethuraman, N., S.S. Jeremiah, and A. Ryo, *Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2.* JAMA, 2020.

40- Zou, L., et al., *SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients.* N Engl J Med, 2020. **382**(12): p. 1177-1179.

41- Wang, Y., et al., *Kinetics of viral load and antibody response in relation to COVID-19 severity.* J Clin Invest, 2020.

42- Young, B.E., et al., *Epidemiologic Features and Clinical Course of Patients Infected With SARS-CoV-2 in Singapore.* JAMA, 2020.

43- Kam, K.Q., et al., *A Well Infant with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) with High Viral Load.* Clin Infect Dis, 2020.

44- Hu, Z., et al., *Clinical characteristics of 24 asymptomatic infections with COVID-19 screened among close contacts in Nanjing, China.* Sci China Life Sci, 2020. **63**(5): p. 706-711.

45- Liu, Y., et al., *Viral dynamics in mild and severe cases of COVID-19.* Lancet Infect Dis, 2020.

46- Zheng, S., et al., *Viral load dynamics and disease severity in patients infected with SARS-CoV-2 in Zhejiang province, China, January-March 2020: retrospective cohort study.* BMJ, 2020. **369**: p. m1443.

47- Lavezzo, E., et al., *Suppression of a SARS-CoV-2 outbreak in the Italian municipality of Vo'.* Nature, 2020. **Nature**.

48- Agnihothram, S., et al., *Evaluation of serologic and antigenic relationships between middle eastern respiratory syndrome coronavirus and other coronaviruses to develop vaccine platforms for the rapid response to emerging coronaviruses.* J Infect Dis, 2014. **209**(7): p. 995-1006.

49- To, K.K., et al., *Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study.* Lancet Infect Dis, 2020. **20**(5): p. 565-574.

50- Li, N., X. Wang, and T. Lv, *Prolonged SARS-CoV-2 RNA shedding: Not a rare phenomenon.* J Med Virol, 2020.

51- Zhou, B., et al., *The duration of viral shedding of discharged patients with severe COVID-19.* Clin Infect Dis, 2020.

52- Chen, Y., et al., *The presence of SARS-CoV-2 RNA in the feces of COVID-19 patients.* J Med Virol, 2020.

53- Gupta, S., et al., *Persistent viral shedding of SARS-CoV-2 in faeces - a rapid review.* Colorectal Dis, 2020.

54 - Xu, K., et al., *Factors associated with prolonged viral RNA shedding in patients with COVID-19.* Clin Infect Dis, 2020.

55- Qi, L., et al., *Factors associated with duration of viral shedding in adults with COVID-19 outside of Wuhan, China: A retrospective cohort study.* Int J Infect Dis, 2020.

56- Lescure, F.X., et al., *Clinical and virological data of the first cases of COVID-19 in Europe: a case series.* Lancet Infect Dis, 2020.

57- Ling, Y., et al., *Persistence and clearance of viral RNA in 2019 novel coronavirus disease rehabilitation patients.* Chin Med J (Engl), 2020. **133**(9): p. 1039-1043.

58- Pan, Y., et al., *Viral load of SARS-CoV-2 in clinical samples.* Lancet Infect Dis, 2020. **20**(4): p. 411-412.

59- Xing, Y.H., et al., *Prolonged viral shedding in feces of pediatric patients with coronavirus disease 2019.* J Microbiol Immunol Infect, 2020.

60- Oliver S, O.S.J., Patel M, Patel S, Queen I, Quick N et al, *Clinical and virologic characteristics of the first 12 patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) in the United States.* Nat Med, 2020.

61- Jeroen J.A. van Kampen, D.A.M.C.v.d.V., Pieter L.A. Fraaij, Bart L. Haagmans, Mart M. Lamers, Nisreen Okba, Johannes P.C. van den Akker, Henrik Endeman, Diederik A.M.P.J. Gommers, Jan J. Cornelissen, Rogier A.S. Hoek, Menno M. van der Eerden, Dennis A. Hesselink, Herold J. Metselaar, Annelies Verbon, Jurriaan E.M. de Steenwinkel, Georgina I. Aron, Eric C.M. van Gorp, Sander van Boheemen, Jolanda C. Voermans, Charles A.B. Boucher, Richard Molenkamp, Marion P.G. Koopmans, Corine Geurtsvankessel, Annemiek A. van der Eijk, *Shedding of infectious virus in hospitalized patients with coronavirus disease-2019 (COVID-19): duration and key determinants.* medRxiv preprint, 2020.

62- La Scola, B., et al., *Viral RNA load as determined by cell culture as a management tool for discharge of SARS-CoV-2 patients from infectious disease wards.* Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2020. **39**(6): p. 1059-1061.

63 - Perera, R., et al., *SARS-CoV-2 Virus Culture and Subgenomic RNA for Respiratory Specimens from Patients with Mild Coronavirus Disease.* Emerg Infect Dis, 2020. **26**(11).

64- Singanayagam A, P.M., Charlett A, Lopez Bernal J, Saliba V, Ellis J, Ladhani S, Zambon M, Gopal R, *Duration of infectiousness and correlation with RT-PCR cycle threshold values in cases of COVID-19, England, January to May 2020.* Eurosurveillance, 2020. **25**(32).

65- موجز علمي: *معايير إخراج مرضى كوفيد-19 من العزل*. منظمة الصحة العالمية 2020؛ متاح من:
https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/332451/WHO-2019-nCoV-Sci_Brief-Discharge_From_Isolation-2020.1-ara.pdf?sequence=10&isAllowed=y

66 - Yuan, J., et al., *PCR Assays Turned Positive in 25 Discharged COVID-19 Patients.* Clin Infect Dis, 2020.

67- Tang, X., et al., *Positive RT-PCR tests among discharged COVID-19 patients in Shenzhen, China.* Infect Control Hosp Epidemiol, 2020: p. 1-2.

68- Ma, H., et al., *A single-center, retrospective study of COVID-19 features in children: a descriptive investigation.* BMC Med, 2020. **18**(1): p. 123.

69- Xiao, A.T., Y.X. Tong, and S. Zhang, *False-negative of RT-PCR and prolonged nucleic acid conversion in COVID-19: Rather than recurrence.* J Med Virol, 2020.

70- Liu, R., et al., *Positive rate of RT-PCR detection of SARS-CoV-2 infection in 4880 cases from one hospital in Wuhan, China, from Jan to Feb 2020.* Clin Chim Acta, 2020. **505**: p. 172-175.

71- Winichakoon, P., et al., *Negative Nasopharyngeal and Oropharyngeal Swabs Do Not Rule Out COVID-19.* J Clin Microbiol, 2020. **58**(5).

72- Li, Y., et al., *Stability issues of RT-PCR testing of SARS-CoV-2 for hospitalized patients clinically diagnosed with COVID-19.* J Med Virol, 2020.

73- Lee, T.H., et al., *Testing for SARS-CoV-2: Can We Stop at Two?* Clin Infect Dis, 2020.

74- Kucirka, L.M., et al., *Variation in False-Negative Rate of Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction-Based SARS-CoV-2 Tests by Time Since Exposure.* Ann Intern Med, 2020.

75- Wang, W., et al., *Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens.* JAMA, 2020.

76- Huang, Y., et al., *SARS-CoV-2 Viral Load in Clinical Samples from Critically Ill Patients.* Am J Respir Crit Care Med, 2020. **201**(11): p. 1435-1438.

77- Wong, M.C., et al., *Detection of SARS-CoV-2 RNA in fecal specimens of patients with confirmed COVID-19: A meta-analysis.* J Infect, 2020. **81**(2): p. e31-e38.

78- Chen, W., et al., *Detectable 2019-nCoV viral RNA in blood is a strong indicator for the further clinical severity.* Emerg Microbes Infect, 2020. **9**(1): p. 469-473.

79 - Chen, X., et al., *Detectable serum SARS-CoV-2 viral load (RNAaemia) is closely correlated with drastically elevated interleukin 6 (IL-6) level in critically ill COVID-19 patients.* Clin Infect Dis, 2020.

80- Corman, V.M., et al., *SARS-CoV-2 asymptomatic and symptomatic patients and risk for transfusion transmission.* Transfusion, 2020.

81- Zhang, W., et al., *Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes.* Emerg Microbes Infect, 2020. **9**(1): p. 386-389.

82- Williams, E., et al., *Saliva as a non-invasive specimen for detection of SARS-CoV-2.* J Clin Microbiol, 2020.

83- Pasomsub, E., et al., *Saliva sample as a non-invasive specimen for the diagnosis of coronavirus disease-2019 (COVID-19): a cross-sectional study.* Clin Microbiol Infect, 2020.

84 - Yang, J.R., et al., *Persistent viral RNA positivity during the recovery period of a patient with SARS-CoV-2 infection.* J Med Virol, 2020.

85- Guo, W.L., et al., *Effect of throat washings on detection of 2019 novel coronavirus.* Clin Infect Dis, 2020.

86- Lai, C.K.C., et al., *Prospective study comparing deep-throat saliva with other respiratory tract specimens in the diagnosis of novel coronavirus disease (COVID-19).* J Infect Dis, 2020.

87 - Azzi, L., et al., *Saliva is a reliable tool to detect SARS-CoV-2.* Journal of Infection, 2020. **81**.

88- McCormick-Baw, C., et al., *Saliva as an Alternate Specimen Source for Detection of SARS-CoV-2 in Symptomatic Patients Using Cepheid Xpert Xpress SARS-CoV-2.* J Clin Microbiol, 2020.

89- Colavita, F., et al., *SARS-CoV-2 Isolation From Ocular Secretions of a Patient With COVID-19 in Italy With Prolonged Viral RNA Detection.* Ann Intern Med, 2020.

90- Xia, J., et al., *Evaluation of coronavirus in tears and conjunctival secretions of patients with SARS-CoV-2 infection.* J Med Virol, 2020.

91- Wu, P., et al., *Characteristics of Ocular Findings of Patients With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in Hubei Province, China.* JAMA Ophthalmol, 2020.

92- Zhou, Y., et al., *Ocular Findings and Proportion with Conjunctival SARS-COV-2 in COVID-19 Patients.* Ophthalmology, 2020.

93- Zhang, X., et al., *The evidence of SARS-CoV-2 infection on ocular surface.* Ocul Surf, 2020.

94- Cai, J., et al., *A Case Series of children with 2019 novel coronavirus infection: clinical and epidemiological features.* Clin Infect Dis, 2020.

95 – Nomoto, H., et al., *Cautious handling of urine from moderate to severe COVID-19 patients.* Am J Infect Control, 2020. **48**(8): p. 969-971.

96 – Li, D., et al., *Clinical Characteristics and Results of Semen Tests Among Men With Coronavirus Disease 2019.* JAMA Netw Open, 2020. **3**(5): p. e208292.

97– Paniz-Mondolfi, A., et al., *Central nervous system involvement by severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2).* J Med Virol, 2020. **92**(7): p. 699-702.

98– Moriguchi, T., et al., *A first case of meningitis/encephalitis associated with SARS-Coronavirus-2.* Int J Infect Dis, 2020. **94**: p. 55-58.

99– *منظمة الصحة العالمية. التدبير العلاجي السريري لمرض كوفيد-19 (إرشادات مبدئية)*، منظمة الصحة العالمية 2020، 27 أيار/مايو 2020؛ متاح من: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/332196/WHO-2019-nCoV-clinical-2020.5-ara.pdf?sequence=7&isAllowed=y

100– Bordi, L., et al., *Differential diagnosis of illness in patients under investigation for the novel coronavirus (SARS-CoV-2), Italy, February 2020.* Euro Surveill, 2020. **25**(8).

101 – Wu, D., et al., *To alert coinfection of COVID-19 and dengue virus in developing countries in the dengue-endemic area.* Infect Control Hosp Epidemiol, 2020: p. 1.

102– Rodriguez, J.A., et al., *Co-Infection with SARS-COV-2 and Parainfluenza in a young adult patient with pneumonia: Case Report.* IDCases, 2020. **20**: p. e00762.

103– Rawson, T.M., et al., *Bacterial and fungal co-infection in individuals with coronavirus: A rapid review to support COVID-19 antimicrobial prescribing.* Clin Infect Dis, 2020.

104– Nowak, M.D., et al., *Co-infection in SARS-CoV-2 infected Patients: Where Are Influenza Virus and Rhinovirus/Enterovirus?* J Med Virol, 2020.

105– Wu, D., et al., *Coinfection of Influenza Virus and Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-COV-2).* Pediatr Infect Dis J, 2020. **39**(6): p. e79.

106– Wu, X., et al., *Co-infection with SARS-CoV-2 and Influenza A Virus in Patient with Pneumonia, China.* Emerg Infect Dis, 2020. **26**(6): p. 1324-1326.

107– Khodamoradi, Z., M. Moghadami, and M. Lotfi, *Co-infection of Coronavirus Disease 2019 and Influenza A: A Report from Iran.* Arch Iran Med, 2020. **23**(4): p. 239-243.

108– Azekawa, S., et al., *Co-infection with SARS-CoV-2 and influenza A virus.* IDCases, 2020. **20**: p. e00775.

109– Koehler, P., et al., *COVID-19 associated pulmonary aspergillosis.* Mycoses, 2020.

110– Yan, G., et al., *Covert COVID-19 and false-positive dengue serology in Singapore.* Lancet Infect Dis, 2020. **20**(5): p. 536.

111– Lustig, Y., et al., *Potential antigenic cross-reactivity between SARS-CoV-2 and Dengue viruses.* Clin Infect Dis, 2020.

112– Hammitt, L.L., et al., *Added value of an oropharyngeal swab in detection of viruses in children hospitalized with lower respiratory tract infection.* J Clin Microbiol, 2011. **49**(6): p. 2318-20.

113– Ek, P., et al., *A combination of naso- and oropharyngeal swabs improves the diagnostic yield of respiratory viruses in adult emergency department patients.* Infect Dis (Lond), 2019. **51**(4): p. 241-248.

114- Sutjipto s, H.L., Yant TJ, Mendis SM, Abdad MY, Marimuthu K, Ng OT, Lin C, Chan M et al,, *The effect of sample site, illness duration and the presence of pneumonia on the detection of SARS-CoV-2 by real-time reverse-transcription PCR.* Open Forum Infectious Diseases, 2020.

115- Lieberman, D., et al., *Pooled nasopharyngeal and oropharyngeal samples for the identification of respiratory viruses in adults.* Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2010. **29**(6): p. 733-5.

116- Vlek, A.L.M., et al., *Combined throat/nasal swab sampling for SARS-CoV-2 is equivalent to nasopharyngeal sampling.* Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2020.

117- LeBlanc, J.J., et al., *A combined oropharyngeal/nares swab is a suitable alternative to nasopharyngeal swabs for the detection of SARS-CoV-2.* J Clin Virol, 2020. **128**: p. 104442.

118 -Pinninti, S., et al., *Comparing Nasopharyngeal and Mid-Turbinate Nasal Swab Testing for the Identification of SARS-CoV-2.* Clin Infect Dis, 2020.

119- Palmas, G., et al., *Nasal Swab as Preferred Clinical Specimen for COVID-19 Testing in Children.* Pediatr Infect Dis J, 2020. **39**(9): p. e267-e270.

120- Tu, Y.P., et al., *Swabs Collected by Patients or Health Care Workers for SARS-CoV-2 Testing.* N Engl J Med, 2020. **383**(5): p. 494-496.

121- Altamirano, J., et al., *Assessment of Sensitivity and Specificity of Patient-Collected Lower Nasal Specimens for Sudden Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Testing.* JAMA Netw Open, 2020. **3**(6): p. e2012005.

122- Hamid, H., et al., *COVID-19 Pandemic and Role of Human Saliva as a Testing Biofluid in Point-of-Care Technology.* Eur J Dent, 2020.

123- Alizargar, J., et al., *Saliva samples as an alternative for novel coronavirus (COVID-19) diagnosis.* J Formos Med Assoc, 2020.

124- Ceron, J.J., et al., *Use of Saliva for Diagnosis and Monitoring the SARS-CoV-2: A General Perspective.* J Clin Med, 2020. **9**(5).

125- Chen L, Z.J., Peng J, Li X, Deng X, Shen Z, Guo F, Zhang Q, Zhang Q, Jin Y, Wang L, Wang S *Detection of 2019-nCoV in Saliva and Characterization of Oral Symptoms in COVID-19 Patients.* SSRN, 2020.

126- Ng, S.C., F.K.L. Chan, and P.K.S. Chan, *Screening FMT donors during the COVID-19 pandemic: a protocol for stool SARS-CoV-2 viral quantification.* Lancet Gastroenterol Hepatol, 2020. **5**(7): p. 642-643.

127- Tang, J.W., et al., *Quantitative temporal-spatial distribution of severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus (SARS-CoV) in post-mortem tissues.* J Med Virol, 2007. **79**(9): p. 1245-53.

128- Nicholls, J.M., et al., *Lung pathology of fatal severe acute respiratory syndrome.* Lancet, 2003. **361**(9371): p. 1773-8.

129- Pomara, C., G. Li Volti, and F. Cappello, *COVID-19 Deaths: Are We Sure It Is Pneumonia? Please, Autopsy, Autopsy, Autopsy!* J Clin Med, 2020. **9**(5).

130- Salerno, M., et al., *No Autopsies on COVID-19 Deaths: A Missed Opportunity and the Lockdown of Science.* J Clin Med, 2020. **9**(5).

131- Hanley, B., et al., *Autopsy in suspected COVID-19 cases.* J Clin Pathol, 2020. **73**(5): p. 239-242.

132- Basso, C., et al., *Feasibility of postmortem examination in the era of COVID-19 pandemic: the experience of a Northeast Italy University Hospital.* Virchows Arch, 2020.

133- Tian, S., et al., *Pathological study of the 2019 novel coronavirus disease (COVID-19) through postmortem core biopsies.* Mod Pathol, 2020. **33**(6): p. 1007-1014.

134- *إرشادات منظمة الصحة العالمية بشأن لوائح نقل المواد المُعدِية، 2019-2020* (بالإنكليزية). منظمة الصحة العالمية 2019؛ متاح من https://www.who.int/ar/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance

135- *إرشادات للمختبرات القائمة بشحن عينات إلى المختبرات المرجعية التابعة لمنظمة الصحة العالمية والتي توفر اختبارات تأكيدية لفيروس كوفيد-19* (بالإنكليزية). منظمة الصحة العالمية 2020؛ متاح من:
https://www.who.int/ar/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance

136- كتيب *منظمة الصحة العالمية بشأن السلامة البيولوجية المختبرية، الطبعة الثالثة* (بالإنكليزية). منظمة الصحة العالمية 2004؛ متاح من: https://www.who.int/ar/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance

137- Corman, V.M., et al., *Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR.* Euro Surveill, 2020. **25**(3).

138- LeBlanc, J.J., et al., *Real-time PCR-based SARS-CoV-2 detection in Canadian Laboratories.* J Clin Virol, 2020: p. 104433.

139- FIND. *SARS-COV-2 molecular assay evaluation results* 2020; Available from: https://www.finddx.org/covid-19/sarscov2-eval-molecular/molecular-eval-results/.

140- Uhteg, K., et al., *Comparing the analytical performance of three SARS-CoV-2 molecular diagnostic assays.* J Clin Virol, 2020. **127**: p. 104384.

141- van Kasteren, P.B., et al., *Comparison of seven commercial RT-PCR diagnostic kits for COVID-19.* J Clin Virol, 2020. **128**: p. 104412.

142- Lowe, C.F., et al., *Detection of low levels of SARS-CoV-2 RNA from nasopharyngeal swabs using three commercial molecular assays.* J Clin Virol, 2020. **128**: p. 104387.

143- Igloi, Z., et al., *Comparison of commercial realtime reverse transcription PCR assays for the detection of SARS-CoV-2.* J Clin Virol, 2020. **129**: p. 104510.

144- Dinnes J, D.J., Adriano A, Berhane S, Davenport C, Dittrich S, Emperador D, Takwoingi Y, Cunningham J, Beese S, Dretzke J, Ferrante di Ruffano L, Harris IM, Price MJ, Taylor-Phillips S, Hooft L, Leeflang MMG, Spijker R, Van den Bruel A. , *Rapid, point-of-care antigen and molecular-based tests for diagnosis of SARS-CoV-2 infection.* Cochrane Database of Systematic Reviews 2020(8).

145- Carter, L.J., et al., *Assay Techniques and Test Development for COVID-19 Diagnosis.* ACS Cent Sci, 2020. **6**(5): p. 591-605.

146- *Rapid HTA of Alternative Diagnostic Technologies for the Detection of SARS-CoV-2*. 2020; Available from: https://www.hiqa.ie/sites/default/files/2020-05/Rapid_HTA_COVID-19_tests.pdf.

147- Esbin, M.N., et al., *Overcoming the bottleneck to widespread testing: a rapid review of nucleic acid testing approaches for COVID-19 detection.* RNA, 2020. **26**(7): p. 771-783.

148- Fomsgaard, A.S. and M.W. Rosenstierne, *An alternative workflow for molecular detection of SARS-CoV-2 - escape from the NA extraction kit-shortage, Copenhagen, Denmark, March 2020.* Euro Surveill, 2020. **25**(14).

149- Alcoba-Florez, J., et al., *Fast SARS-CoV-2 detection by RT-qPCR in preheated nasopharyngeal swab samples.* Int J Infect Dis, 2020. **97**: p. 66-68.

150- Chen, H., et al., *Influence of Different Inactivation Methods on Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 RNA Copy Number*. J Clin Microbiol, 2020. **58**(8).

151- Bentley, D.R., et al., *Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry.* Nature, 2008. **456**(7218): p. 53-59.

152- Chu, A.W., et al., *Evaluation of simple nucleic acid extraction methods for the detection of SARS-CoV-2 in nasopharyngeal and saliva specimens during global shortage of extraction kits.* J Clin Virol, 2020. **129**: p. 104519.

153- Hasan, M.R., et al., *Detection of SARS-CoV-2 RNA by direct RT-qPCR on nasopharyngeal specimens without extraction of viral RNA.* PLoS One, 2020. **15**(7): p. e0236564.

154- Mancini, F., et al., *Laboratory management for SARS-CoV-2 detection: a user-friendly combination of the heat treatment approach and rt-Real-time PCR testing.* Emerg Microbes Infect, 2020. **9**(1): p. 1393-1396.

155- Yelin, I., et al., *Evaluation of COVID-19 RT-qPCR test in multi-sample pools.* Clin Infect Dis, 2020.

156- Mallapaty, S., *The mathematical strategy that could transform coronavirus testing.* Nature, 2020.

157- Williams, B.G., *Optimal pooling strategies for laboratory testing.* arXiv, 2010. **1007.4903**: p. 1-3.

158- Khodare, A., et al., *Optimal size of sample pooling for RNA pool testing: An avant-garde for scaling up severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 testing.* Indian J Med Microbiol, 2020. **38**(1): p. 18-23.

159- Abdalhamid, B., et al., *Assessment of Specimen Pooling to Conserve SARS CoV-2 Testing Resources.* Am J Clin Pathol, 2020. **153**(6): p. 715-718.

160- Aragon-Caqueo, D., J. Fernandez-Salinas, and D. Laroze, *Optimization of group size in pool testing strategy for SARS-CoV-2: A simple mathematical model.* J Med Virol, 2020.

161- Pilcher, C.D., D. Westreich, and M.G. Hudgens, *Group Testing for Sars-Cov-2 to Enable Rapid Scale-Up of Testing and Real-Time Surveillance of Incidence.* J Infect Dis, 2020.

162- Ben-Ami, R., et al., *Large-scale implementation of pooled RNA extraction and RT-PCR for SARS-CoV-2 detection.* Clin Microbiol Infect, 2020.

163- Lambert-Niclot, S., et al., *Evaluation of a rapid diagnostic assay for detection of SARS CoV-2 antigen in nasopharyngeal swab.* J Clin Microbiol, 2020.

164- Mertens, P., et al., *Development and Potential Usefulness of the COVID-19 Ag Respi-Strip Diagnostic Assay in a Pandemic Context.* Front Med (Lausanne), 2020. **7**: p. 225.

165 - Porte, L., et al., *Evaluation of novel antigen-based rapid detection test for the diagnosis of SARS-CoV-2 in respiratory samples.* Int J Infect Dis, 2020.

166- Zhao, J., et al., *Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019.* Clin Infect Dis, 2020.

167- Okba, N.M.A., et al., *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2-Specific Antibody Responses in Coronavirus Disease 2019 Patients.* Emerg Infect Dis, 2020. **26**(7).

168- Lou, B., et al., *Serology characteristics of SARS-CoV-2 infection since exposure and post symptom onset.* Eur Respir J, 2020.

169- Zhou, P., et al., *A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin.* Nature, 2020. **579**(7798): p. 270-273.

170- Dutch National Taksforce serology, R.C., Murk J, van den Beld M, Reimerink J, Kluytmans J, Wegdam M, Zaaijer H, van Loo I, Geurts van Kessel C, Koopmans M. . *Report Status of the validation of point-of-care serology tests for SARS-CoV-2 diagnostics: considerations for use*. 15 July 2020; Available from: https://www.nvmm.nl/media/3666/status-validation-poc-ab-tests_20200715_final.pdf.

171- Dutch National Taksforce serology, R.C., Murk J, van den Beld M, Reimerink J, Kluytmans J, Wegdam M, Zaaijer H, van Loo I, Geurts van Kessel C, Koopmans M. *Report Status of the validation of ELISA and auto-analyser antibody tests for SARS-CoV-2 diagnostics: consideratoins for use*. 15 July 2020; Available from: https://www.nvmm.nl/media/3667/status-validation-elisa-and-auto-analysers_2020715_final.pdf.

172- Fafi-Kremer, S., et al., *Serologic responses to SARS-CoV-2 infection among hospital staff with mild disease in eastern France.* EBioMedicine, 2020: p. 102915.

173- Deeks J, D.J., Takwoingi Y, Davenport C, Spijker R, Taylor-Philips et al. , *Antibody tests for identification of current and past infection with SARS-CoV-2.* Cochrane Library, 2020.

174- Jeffrey Seow, C.G., Blair Merrick, Sam Acors, Kathyrn J.A. Steel and K.J.D. 10 Malim1, *Longitudinal evaluation and decline of antibody responses in SARS-CoV-2 infection.* medrxiv 2020.

175- Caini, S., et al., *Meta-analysis of diagnostic performance of serological tests for SARS-CoV-2 antibodies up to 25 April 2020 and public health implications.* Euro Surveill, 2020. **25**(23).

176- Lisboa Bastos, M., et al., *Diagnostic accuracy of serological tests for covid-19: systematic review and meta-analysis.* BMJ, 2020. **370**: p. m2516.

177- GeurtsvanKessel, C.H., et al., *An evaluation of COVID-19 serological assays informs future diagnostics and exposure assessment.* Nat Commun, 2020. **11**(1): p. 3436.

178- Che, X.Y., et al., *Antigenic cross-reactivity between severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus and human coronaviruses 229E and OC43.* J Infect Dis, 2005. **191**(12): p. 2033-7.

179- Meyer, B., C. Drosten, and M.A. Muller, *Serological assays for emerging coronaviruses: challenges and pitfalls.* Virus Res, 2014. **194**: p. 175-83.

180- Gorse, G.J., M.M. Donovan, and G.B. Patel, *Antibodies to coronaviruses are higher in older compared with younger adults and binding antibodies are more sensitive than neutralizing antibodies in identifying coronavirus-associated illnesses.* J Med Virol, 2020. **92**(5): p. 512-517.

181- Theel E, F.L., Palavecino, E et al. , *Verification procedure for commercial serologic tests with Emergency Use Authorization for detection of antibodies to SARS-CoV-2.* American society for microbiology, 2020.

182- To, K.K., et al., *COVID-19 re-infection by a phylogenetically distinct SARS-coronavirus-2 strain confirmed by whole genome sequencing.* Clin Infect Dis, 2020.

183- Hin Chu, J.F.-W.C., Terrence Tsz-Tai Yuen, Huiping Shuai, Shuofeng Yuan, Yixin Wang, et al, *Comparative tropism, replication kinetics, and cell damage profiling of SARS-CoV-2 and SARS-CoV with implications for clinical manifestations, transmissibility, and laboratory studies of COVID-19: an observational study.* The Lancet Microbe, 2020. **Volume 1**(ISSUE 1): p. e14-e23.

184- Mogling, R., et al., *Delayed Laboratory Response to COVID-19 Caused by Molecular Diagnostic Contamination.* Emerg Infect Dis, 2020. **26**(8).

185- *المختبرات المرجعية التابعة لمنظمة الصحة العالمية والتي توفر اختبارات تأكيدية لكوفيد-19* (بالإنكليزية). منظمة الصحة العالمية. 2020. متاح من: https://www.who.int/ar/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance

186- *منظمة الصحة العالمية. اللوائح الصحية الدولية (2005)، الطبعة الثالثة.* منظمة الصحة العالمية 2016؛ متاح من: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/246107/9789246580491-ara.pdf;jsessionid=E352FD388BF4800E2080A47DC56E2D19?sequence=8

187- Daniel B Larremore, B.W., Evan Lester, Soraya Shehata, James M Burke, James A Hay, Milind Tambe, Michael J Mina, Roy Parker, *Test sensitivity is secondary to frequency and turnaround time for COVID-19 surveillance.* Medrxiv preprint, 2020.

188- Kretzschmar, M.E., et al., *Impact of delays on effectiveness of contact tracing strategies for COVID-19: a modelling study.* Lancet Public Health, 2020. **5**(8): p. e452-e459.

189- *الفحوص المختبرية لفيروس كورونا المُسَبِّب لمتلازمة الشرق الأوسط التنفسية، إرشادات مبدئية (نسخة منقحة)* (بالإنكليزية). منظمة الصحة العالمية، 2019.

190- *كتيب الشبكة العالمية لترصد الأنفلونزا التابعة لمنظمة الصحة العالمية بشأن التشخيص المختبري والترصد الفيروسي للإنفلونزا* (بالإنكليزية). منظمة الصحة العالمية، 2011.

191- *معايير الترصّد الموصى بها من قِبَل منظمة الصحة العالمية WHO/CDS/CSR/ISR/99.2* (بالإنكليزية). منظمة الصحة العالمية، 1999.

192- *المبادئ التوجيهية لجمع العينات السريرية أثناء التقصّي الميداني للفاشيات WHO/CDS/CSR/EDC/200.4* (بالإنكليزية). منظمة الصحة العالمية، 2000.

193- *إدارة الأوبئة، حقائق أساسية بشأن الأمراض المميتة الرئيسية* (بالإنكليزية). منظمة الصحة العالمية، 2018.

194- *بروتوكول تقصي الإنفلونزا غير الموسمية وغيرها من الأمراض التنفسية الحادة الناشئة* (بالإنكليزية). منظمة الصحة العالمية، 2018.

195- Rodino, K.G., et al., *Evaluation of Saline, Phosphate-Buffered Saline, and Minimum Essential Medium as Potential Alternatives to Viral Transport Media for SARS-CoV-2 Testing.* J Clin Microbiol, 2020. **58**(6).

196- Poon, P.c.L., *Evaluation of swabs, transport media and specimen transport conditions for the detectoin of COVID-19 virus by RT-PCR.* University of Hong Kong, 2020.

197- Rogers, A.A., et al., *Evaluation of Transport Media and Specimen Transport Conditions for the Detection of SARS-CoV-2 Using Real Time Reverse Transcription PCR.* J Clin Microbiol, 2020.

198- Radbel, J., et al., *Detection of SARS-CoV-2 is comparable in clinical samples preserved in saline or viral transport media.* J Mol Diagn, 2020.

تواصل منظمة الصحة العالمية رصد الوضع عن كثب لمتابعة أي تغيرات يمكن أن تؤثر على هذه الإرشادات المبدئية. وإذا طرأ تغيير على أيٍّ من العوامل ذات الصلة، فسوف تصدر المنظمة تحديثاً إضافياً. وبخلاف ذلك، تبقى وثيقة الإرشادات المبدئيّة هذه صالحة لمدّة عام من تاريخ إصدارها.

© منظمة الصحة العالمية 2020. بعض الحقوق محفوظة. هذا المصنف متاح بمقتضى الترخيص CC BY-NC-SA 3.0 IGO

WHO reference number: WHO/2019-nCoV/laboratory/2020.6

المرفق 1: جمع العينات وتخزينها

نوع العينة	المواد المستخدمة لأخذ العينات	درجة الحرارة الموصى بها للتخزين و/أو الشحن إلى المختبر وحتى الاختبار (من تاريخ جمع العينات) #
مسحة من البلعوم والأنف ومن البلعوم والفم	مسحات رقائقية من الداكرون أو البوليستر مع وسيلة نقل فيروسي*	2-8 درجة مئوية إذا كانت المدة ≥ 12 يوماً * -70 درجة مئوية (جليد جاف) إذا كانت المدة < 12 يوماً
غسل القصبات والأسناخ	وعاء معقم مع وسيلة نقل فيروسي**	2-8 درجة مئوية إذا كانت المدة ≥ يومين * -70 درجة مئوية (جليد جاف) إذا كانت المدة < يومين
شفطة من (داخل) الرغامى، شفطة من البلعوم والأنف أو غسلة/شفطة من الأنف	وعاء معقم مع وسيلة نقل فيروسي**	2-8 درجة مئوية إذا كانت المدة ≥ يومين -70 درجة مئوية (جليد جاف) إذا كانت المدة < يومين
بلغم	حاوية معقمة*	2-8 درجة مئوية إذا كانت المدة ≥ يومين -70 درجة مئوية (جليد جاف) إذا كانت المدة < يومين
نسيج من الخزعة أو التشريح بما في ذلك من الرئة	حاوية معقمة بمحلول ملحي أو بوسيلة نقل فيروسي	2-8 درجة مئوية إذا كانت المدة ≥ 24 ساعة -70 درجة مئوية (جليد جاف) إذا كانت المدة < 24 ساعة
مصل	أنابيب لفصل الأمصال (البالغون: أخذ 3 إلى 5 مل من كامل الدم)	2-8 درجة مئوية إذا كانت المدة ≥ 5 أيام -70 درجة مئوية (جليد جاف) إذا كانت المدة < 5 أيام
كامل الدم	أنبوب لأخذ العيّنات	2-8 درجة مئوية إذا كانت المدة ≥ 5 أيام -70 درجة مئوية (جليد جاف) إذا كانت المدة < 5 أيام
البراز	حاوية للبراز	2-8 درجة مئوية إذا كانت المدة ≥ 5 أيام -70 درجة مئوية (جليد جاف) إذا كانت المدة < 5 أيام

يراعى تجنب تكرار تجميد العينات وإذابتها. إذا لم يمكن الوصول إلى -70 درجة مئوية يُنظَر في التخزين عند -20 درجة مئوية.

* لنقل العينات بغرض الكشف الفيروسي، يفضَّل استخدام وسيلة نقل فيروسية تحتوي على مكملات مضادة للفطريات ومضادات حيوية. إذا لم تتوفر وسيلة نقل فيروسي، قد تُستخدَم محاليل أخرى بعد التحقق من صحتها. وقد تشمل هذه المحاليل محلولاً ملحياً مدروءاً بالفوسفات، 0.9% محلول ملحي معقم، الحد الأدنى للوسط الأساسي (مع التخزين عند +4 درجة مئوية حتى 7 إلى 14 يوماً) [195-197]. وفي حالة وجوب اختبار فيروسات أخرى مثل الأنفلونزا أيضاً، لا تُخَزَّن العينات لأكثر من 5 أيام عند 4-8 درجات وإنما عند -70 درجة مئوية أو جليد جاف [194].

** وإذا لم تتوفّر وسيلة نقل فيروسي، يمكن استخدام محلول ملحي معقم [198]. وقد تختلف مدة تخزين العينة عند 2–8 درجة مئوية عما هو مبيّن أعلاه.

وبصرف النظر عن مواد جمع العينات المحددة المشار إليها في الجدول، يراعى التأكد من توافر مواد ومعدات أخرى: مثل حاويات النقل وأكياس جمع العينات وتغليفها، والمبردات، والعبوات الباردة أو الثلج الجاف، ومعدات معقّمة لسحب الدم (مثل الإبر والمحاقن والأنابيب)، والملصقات وعلامات الوسم الدائم، ومعدات الحماية الشخصية، ومواد تطهير الأسطح، وما إلى ذلك.

المرفق 2: استمارة طلب فحص مختبري

استمارة طلب فحص مختبري لفيروس كورونا-سارس-2[1]

معلومات عن مقدِّم الطلب			
اسم المستشفى أو المختبر أو أي مرفق آخر مقدِّم للطلب*			
الطبيب			
العنوان			
رقم الهاتف			
تعريف الحالة:[2]	☐ حالة مشتبه فيها حالة محتملة حالة أخرى:☐☐		
معلومات المريض			
الاسم الأول		**الاسم الأخير**	
الرقم التعريفي للمريض		**تاريخ الميلاد**	**العمر:**
العنوان		**نوع الجنس**	☐ ذكر ☐ أنثى ☐ غير معروف ☐☐
رقم الهاتف			
معلومات عن العينة			
النوع	☐ مسحة من الأنف والبلعوم والفم والبلعوم غسل من القصبات والأسناخ شفطة من الأنف والبلعوم غسل أنفي بلغم نسيج من الرئة مصل كامل الدم براز أنواع أخرى: ....☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐		
ينبغي النظر إلى جميع العينات التي تم جمعها على أنها يُحتمَل أن تكون مُعدِية ويجب عليكم الاتصال بالمختبر المرجعي قبل إرسال العينات له. ويجب إرسال جميع العينات وفقاً لمتطلبات النقل من الفئة باء.			
يُرجى وضع علامة على المربع إذا كانت عينتكم السريرية بعد الوفاة ☐			
تاريخ جمع العينات		**وقت جمع العينات**	
حالة الأولويات			
التفاصيل السريرية			
تاريخ ظهور الأعراض:			
هل سبق للمريض السفر إلى منطقة متضررة مؤخراً؟	☐ نعم ☐ لا	**البلد** **تاريخ الإرجاع**	
هل كان المريض على اتصال بحالة مؤكدة؟	☐ نعم ☐ لا ☐ غير معروف حالات تعرض أخرى: ☐☐☐		

[1] استمارة وفقاً للمتطلبات ISO 15189:2012

[2] الترصُّد في مجال الصحّة العموميّة لمواجهة كوفيد-19: إرشادات مبدئيّة

إضافية **تعليقات (مثلاً العلاج بمضادات الميكروبات، كوابت المناعة)**	

المرفق 3: الاعتبارات المتعلقة بانتقاء اختبار تضخيم الحمض النووي الأمثل لسياق الاستخدام

الجانب	الاعتبارات
جودة التصنيع	CE-IVD، WHO EUL، PQ، هيئة الأغذية والعقاقير-الاتحاد الأوروبي أو غيرها من الموافقات. بيانات التحقق المستقل. تصنيع تحت مواصفات الأيزو.
الأهداف	عدد الأهداف، أو خصوصية فيروس كورونا-سارس-2 أو فيروسات ساربيكو الأخرى.
الضبط بالشواهد	فيما يخص اختبارات تضخيم الحمض النووي اليدوية، يجب تضمين عنصر ضبط بشواهد مرصاف إيجابي وعنصر ضبط بشواهد مرصاف سلبي واحد على الأقل. كما يوصى باستخدام عنصر ضبط بشواهد للاستخراج وعنصر ضبط بشواهد لكفاية عينة جينية منزلية بشرية داخلية.
الأجهزة	هل تتوافق المقايسة مع الأنظمة المتوفرة في المختبر أو البلد؟ سهولة الاستخدام والفائدة التشغيلية. فرصة لتعدد الإرسال مع مسببات أمراض تنفسية أخرى. تحديد تكلفة المنصة والصيانة. سهولة الوصول إلى الجهة المقدِّمة للصيانة/استكشاف الأخطاء وإصلاحها.
سير العمل	هل يمكن تطبيق مجموعة اللوازم في سير العمل الحالي للمختبر، مع ضمان حد أدنى من التعطّل على عمليات التشخيص الأخرى؟
سهولة الاستخدام	تعقيد المقايسة. عدد الخطوات. البرامج التدريبية والكوادر المطلوبة.
متطلبات التخزين والشحن	يتطلب الكثير من مجموعة اللوازم ظروف سلاسل باردة أثناء الشحن والتخزين، وفي بعض الظروف قد يشكّل هذا تحدياً. وتحتوي بعض عُدد التشخيص على أنزيمات مجففة بالتبريد لا تتطلب شحن مجموعة اللوازم وتُخَزَّن باردة أحيانًا. العمر الافتراضي: على سبيل الاستعداد لفترات من الاختبارات المكثفة، قد تكون هناك حاجة إلى مخزونات وهناك حاجة إلى فترة صلاحية أطول لضمان الاستخدام الكافي للموارد.

الاحتياجات والإتاحة في مجال التدريب	إرشادات الاستخدام المتاحة، والتدريب المتوفر من قِبَل الشركة أو غيرها، وخيارات استكشاف الأخطاء وإصلاحها المقدمة وخط مساعدة يمكن الوصول إليه باللغة المحلية.
الحاجة إلى كواشف إضافية	مجموعة لوازم كاملة لأخذ العينات/الاستخراج/التضخيم أو مجموعة لوازم لتفاعل البوليمراز التسلسلي تتطلب كواشف أو أدوات إضافية. التوافق مع طريقة المختبرات في الاستخراج. التوافق مع بوليمرات يمكن الحصول عليها عند الحاجة. المعدات الخاصة اللازمة (مثل لوحة معايرة قبل تفعيل الاختبار، منصات الاستخراج، كتلة حرارة، دوامة، حامل مغنطيسي أو طرد مركزي).
استمرارية الإمداد	اتفاق توريد طويل الأجل. طرق تسليم آمنة في حالة حدوث تدابير إغلاق. تكاليف المقايسات والكواشف الإضافية.

المرفق 4: اقتراحات بشأن قائمة مرجعية للحد من حالات النتائج الإيجابية الكاذبة المحتملة لتفاعل البوليميراز المتسلسل بالانتساخ العكسي والتعامل مع النتائج الملتبسة

ينبغي أن يكون لدى المختبرات إجراء تشغيلي موحد للحد من النتائج الإيجابية الزائفة المحتملة لتفاعل البوليميراز المتسلسل بالانتساخ العكسي وكيفية التعامل مع النتائج الملتبسة. وتوفر هذه القائمة المرجعية اقتراحات واعتبارات للمختبرات. وقد صيغت القائمة المرجعية من أجل دليل تفاعلات البوليميراز المتسلسل بالانتساخ العكسي، ولكن يمكن أيضاً استخدام جوانب كثيرة لاختبارات تضخيم الحمض النووي الأخرى.

الأعمال المكتبية

- ❑ حذف النسخ أو الحدّ منه
- ❑ في حالة النسخ، طريقة التحقق
- ❑ الفرز، والتقسيم ووضع العلامات
- ❑ مُحَدِّدات هوية مزدوجة
- ❑ إدخال النتائج

انتقال التلوث

- ❑ منطقة التحضير
- ❑ مناولة الأنابيب
- ❑ توليد الهباء الجوي
- ❑ تركيز الحمض النووي وسياق الاستخراج
- ❑ شكل وخطوات تفاعل البوليمراز التسلسلي
- ❑ التحقق من الحالات الإيجابية الأخرى في نفس الشوط
- ❑ بيئي
- ❑ الكواشف الملوّثة
- ❑ التخلص

المعدات ولوازم الاختبار

- ❑ أسلوب المعايرة
- ❑ المعدات التي تم التحقق من صحتها لمجموعة لوازم الاختبار
- ❑ تقييم المعدات الجديدة لكشف مخاطر التلوث

الممارسة

- ❑ فيما يخص الفحص الجماعي، تُفصَل المجموعات ذات معدل الانتشار المرتفع عن المنخفض.
- ❑ الفحص البصري للتشغيل
- ❑ تحليلي – فحص البيانات الأولية
- ❑ تمديد التشغيل عند الضرورة للتصوير الشّعاعي الطبقي المتأخر بالحاسوب

النتائج الملتبسة

- ❑ تُتَّبَع إرشادات الشركة المصَنِّعة
- ❑ سياسة المختبرات بشأن النتائج الملتبسة
- ❑ أي معايير مختبرية إضافية للفئة الملتبسة
- ❑ إبلاغ المستخدمين بالتفسير
- ❑ معايير تكرار الاختبار، إن وُجِدت
- ❑ استخدام اختبار بديل أو هدف لتفاعل البوليمراز التسلسلي
- ❑ التواصل مع الكوادر السريرية والعاملين في مجال الصحة العمومية