



ARTICOL DE SINTEZĂ

Evaluarea de laborator a pacienților cu infecția COVID-19: revistă critică de literatură

Anatolie Vișnevschi^{1*}, Alina Toma^{1†}

¹Catedra de medicină de laborator, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova.

Data primirii manuscrisului: 25.05.2020

Data acceptării spre publicare: 10.06.2020

Autor corespondent:

Anatolie Vișnevschi, dr. hab. șt. med., prof. univ.

Catedra de medicină de laborator

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemițanu

bd. Ștefan cel Mare și Sfânt 165, Chișinău, Republica Moldova, MD-2004

e-mail: anatolie.visnevschi@usmf.md

REVIEW ARTICLE

Laboratory assessment of patients with COVID-19 infection: critical review

Anatolie Visnevschi^{1*}, Alina Toma^{1†}

¹Chair of laboratory medicine, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova.

Manuscript received on: 25.05.2020

Accepted for publication on: 10.06.2020

Corresponding author:

Anatolie Visnevschi, PhD, univ. prof.

Chair of laboratory medicine

Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy

165, Ștefan cel Mare și Sfânt ave., Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004

e-mail: anatolie.visnevschi@usmf.md

Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

O expunere clară a celor mai reprezentative modificări de laborator constatate la pacienții cu infecția COVID-19, actualmente, lipsește.

Ipoteza de cercetare

Datele disponibile în prezent sugerează că la pacienții cu COVID-19 se apreciază modificări semnificative ale parametrilor de laborator, iar unii dintre aceștia pot fi, de asemenea, considerați predictorii importanți ai evoluției clinice grave.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Utilizând rRT-PCR ca standard de aur, aproape 70% dintre pacienți ar putea fi clasificați drept COVID-19 pozitivi sau negativi în baza parametrilor lor hematologici. Au fost apreciați o serie de parametri hematologici care pot prezice și evoluția către forme grave sau critice de COVID-19.

What is not known yet, about the topic

An outline of the most representative laboratory abnormalities found in patients with COVID-2019 infection is still lacking to the best of our knowledge.

Research hypothesis

The currently available data suggests that many laboratory parameters are deranged in patients with COVID-19, and some of these may also be considered significant predictors of adverse clinical outcomes.

Article's added novelty on this scientific topic

Using rRT-PCR as the gold standard, almost 70% of the patients could be classified as COVID-19 positive or negative on the basis of their hematological parameters. A number of hematological parameters were also found to predict progression toward severe or critical forms of COVID-19.

Rezumat

Introducere. Pandemia globală a bolii provocate de coronavirusul de tip nou a fost declarată de Organizația Mondială a Sănătății (OMS) în martie 2020. Pe măsură ce populația globală continuă să opună rezistență pandemiei bolii provocate de noul coronavirus (COVID-19), metodele de testare și algoritmi pentru utilizarea lor în evaluarea COVID-19 evoluează rapid. Caracteristicile clinice ale COVID-19 au fost definite pe larg, însă o descriere a celor mai reprezentative modificări de laborator apreciate la pacienții cu infecție cu COVID-19 lipsesc în continuare. Scopul acestui articol este de a oferi o analiză de

Abstract

Introduction. The global pandemic of new coronavirus disease was declared by the World Health Organization (WHO) in March 2020. As the world continues to cope with the 2019 novel coronavirus disease (COVID-19) pandemic, testing methods and algorithms for their use in the assessment of COVID-19 are rapidly evolving. The clinical characteristic of COVID-19 have been broadly defined, an outline of the most representative laboratory abnormalities found in patients with COVID-2019 infection is still lacking to the best of our knowledge. The aim of this article is to provide a brief over-

ansamblu asupra practicilor actuale și a strategiilor potențiale în diagnosticarea celor mai frecvente modificări ale parametrilor de laborator întâlnite la pacienții cu infecția COVID-2019.

Material și metode. S-a efectuat o căutare electronică în baza de date *Medline (PubMed Interface)*, *Scopus* și *Web of Science*, utilizând cuvintele cheie „SARS-CoV-2”, „2019-nCoV” sau „COVID-19” fără restricții de dată sau limbă. Titlul, rezumatul și textul complet (când a fost disponibil) al tuturor articolelor identificate, în conformitate cu aceste criterii de căutare, au fost analizate, iar cele care descriu diagnosticul și modificările semnificative de laborator la pacienții cu infecție severă cu COVID-19 au fost în cele din urmă selectate. Referințele documentelor identificate au fost, de asemenea, verificate pentru detectarea studiilor suplimentare.

Concluzii. Depistarea ARN-ului SARS-CoV-2 prin reacția de polimerizare în lanț, cu detecție în timp real (rRT-PCR) este utilizată pentru a confirma diagnosticul clinic al COVID-19 de către laboratoarele de diagnostic molecular. Utilizând rRT-PCR ca standard de aur, aproape 70% dintre pacienți ar putea fi clasificați ca COVID-19 pozitivi sau negativi pe baza parametrilor hematologici. Astfel, un simplu test de sânge ar putea contribui la identificarea testelor rRT-PCR fals-pozitive/negative, dar ar putea fi utilizat și în țările în curs de dezvoltare și în acele țări care suferă de o deficiență de reactivi rRT-PCR și/sau de laboratoare specializate, ca o alternativă ieftină și disponibilă pentru identificarea potențialilor pacienți COVID-19.

Cuvinte cheie: COVID-19, diagnostic, test de amplificare a acizilor nucleici, markeri de laborator.

Introducere

Pandemia globală a bolii provocate de coronavirusul de tip nou 2019 (COVID-19) cauzată de coronavirusul sindromului respirator acut sever 2 (SARS-CoV-2), a fost declarată de Organizația Mondială a Sănătății (OMS) în martie 2020 [1]. Pe măsură ce populația globală continuă să opună rezistență pandemiei bolii provocate de noul coronavirus (COVID-19), metodele de testare și algoritmi pentru utilizarea lor în evaluarea COVID-19 evoluează rapid [2, 3]. Caracteristicile clinice ale COVID-19 au fost definite pe larg [4], însă o descriere a celor mai reprezentative modificări de laborator apreciate la pacienții cu infecție cu COVID-19 lipsesc în continuare.

Pe măsură ce populația lumii continuă să facă față pandemiei bolii provocate de noul coronavirus (COVID-19), metodele de testare și algoritmi de utilizare a acestora în evaluarea COVID-19 evoluează rapid. Această analiză a surselor din literatură de specialitate se va referi în mod special la metodele și algoritmi de testare pentru evaluarea COVID-19 care sunt în prezent în uz sau care vor fi disponibile pentru utilizare în viitorul apropiat.

SARS-CoV-2 este un virus ARN monocatenar care aparține genului coronavirus β , ale cărui proteine structurale includ proteine S, proteine N, proteine M și proteine E. Mecanismul de infectare are similitudini cu SARS-CoV [5, 6]. Prin legarea la receptorul enzimei de conversie a angiotensinei 2 pe membrana externă, virusul fuzionează treptat în celula gazdă, provocând

view of current practice and potential strategies in diagnosing and the most frequent laboratory abnormalities encountered in patients with COVID-2019 infection.

Material and methods. *Medline (PubMed interface)*, *Scopus* and *Web of Science*, were systematically searched using terms including “SARS-Cov-2” or “2019-nCoV” or “COVID-19” without date or language restrictions. The title, abstract and full text (when available) of all articles identified according to these search criteria were scrutinized by the authors, and those describing diagnosing and significant laboratory abnormalities in patients with severe COVID-19 infection were finally selected. The references of identified documents were also crosschecked for detecting additional studies.

Conclusions. The detection of SARS-CoV-2 RNA by real-time reverse transcription-polymerase chain reaction (rRT-PCR) is used to confirm the clinical diagnosis of COVID-19 by molecular diagnostic laboratories. Using rRT-PCR as the gold standard, almost 70% of the patients could be classified as COVID-19 positive or negative on the basis of their hematological parameters. Thus, a simple blood test might help in identifying false-positive/negative rRT-PCR tests but also might be used in developing countries and in those countries suffering from a shortage of rRT-PCR reagents and/or specialized laboratories as an inexpensive and available alternative to identify potential COVID-19 patients.

Key words: COVID-19, diagnosis, nuclear acid test, laboratory markers.

Introduction

The global pandemic of coronavirus disease 2019 (COVID-19) caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) was declared by the World Health Organization (WHO) in March 2020 [1]. As the world continues to cope with the 2019 novel coronavirus disease (COVID-19) pandemic, testing methods and algorithms for their use in the assessment of COVID-19 are rapidly evolving [2, 3]. The clinical characteristic of COVID-19 have been broadly defined [4], an outline of the most representative laboratory abnormalities found in patients with COVID-2019 infection is still lacking to the best of our knowledge.

As the world continues to cope with the 2019 novel coronavirus disease (COVID-19) pandemic, testing methods and algorithms for their use in the assessment of COVID-19 are rapidly evolving. This update will specifically address those testing methods and algorithms for the assessment of COVID-19 that are currently in use or will be available for use in the near future.

SARS-CoV-2 is a single-stranded RNA virus that belongs to the coronavirus β genus, structural proteins of which include S proteins, N proteins, M proteins, and E proteins. Its infecting procedure shares a great similarity with SARS-CoV [5, 6]. By binding to the angiotensin-converting enzyme 2 receptor on the outside membrane, the virus gradually fuses into the host

leziuni majore. Acest nou coronavirus este transmis în principal prin aerosoli, prin picăturile respiratorii generate în timpul tusei și strănutului de către pacienții simptomatici [7]. În acest caz, se impune o atenție deosebită, deoarece pacienții asimptomatici aflați în perioada de incubație pot contribui, de asemenea, la transmiterea infecției. În plus, perioada medie de incubație este de 6,4 zile, variind de la 2,1 zile la 11,1 zile. Această perioadă lungă poate provoca impedimente în a face față acestei pandemii răspândite pe scară largă [8]. Lipsa restricțiilor în transportul internațional a dus la creșterea numărului de infecții suspectate și confirmate la nivel mondial. Metodele de screening și diagnosticare precise, rapide și convenabile sunt de importanță majoră pentru limitarea răspândirii infecției.

Medicina de laborator joacă un rol esențial în detectarea precoce, diagnosticarea și managementul multor boli [3, 9, 10]. COVID-19 nu face excepție din această regulă, reacția de polimerizare în lanț cu detecție în timp real (rRT-PCR) permite identificarea directă a virusului, în timp ce detectarea anticorpilor anti-COVID-19, prin intermediul testelor imunologice realizate automatizat, este baza supravegherii serologice [2, 11].

Rolul diagnosticului de laborator se extinde cu mult peste diagnosticul etiologic și supravegherea epidemiologică, testele de diagnostic *in vitro* sunt utilizate în mod uzual pentru evaluarea gravității bolii, definirea prognosticului, monitorizarea evoluției bolii, ghidarea tratamentului și monitorizarea eficienței terapiei aplicate [12, 13].

Material și metode

S-a efectuat o căutare electronică în bazele de date *Medline (PubMed Interface)*, *Scopus* și *Web of Science*, utilizând cuvintele cheie „SARSS-CoVS-2”, „2019-nCoV” sau „COVID-19” fără restricții de dată sau limbă. Titlul, rezumatul și textul complet (când a fost disponibil) al tuturor articolelor identificate în conformitate cu aceste criterii de căutare au fost analizate, iar cele care au descris diagnosticul și modificările semnificative de laborator la pacienții cu infecție severă cu COVID-19 au fost în cele din urmă selectate. Referințele documentelor identificate au fost, de asemenea, verificate pentru detectarea studiilor suplimentare.

Rezultate

Recomandări privind strategia de testare în laborator pentru COVID-19

Orientări intermediare, 21 martie 2020 (OMS) [14]

OMS a publicat ghiduri referitor la testare în laborator pentru COVID-19 în cazuri umane suspectate. Recunoscând că răspândirea globală a COVID-19 a crescut dramatic numărul de cazuri suspecte și zone geografice în care testele de laborator trebuiau implementate, intensificarea procesului de testarea moleculară a COVID-19, a contribuit la instalarea curenței de reagenți pentru testarea moleculară la nivel global a COVID-19. În afară de problemele cauzate de reducerea ofertei de reagenți, în multe regiuni, în special în țările cu venituri mici și medii există limitări semnificative ale capacității de absorbție a acestora.

cell, causing great damage to its original function. This novel coronavirus is mainly transmitted by aerosol like respiratory droplets generated during coughing and sneezing by symptomatic patients [7]. Caution is due here since asymptomatic patients in incubation period can also help its transmission. Besides, the median incubation period is 6.4 days, ranging from 2.1 days to 11.1 days. This long period can cause great trouble in containing this widely-spread pandemic [8]. Failing in restraining international transportation resulted in a surge in the number of suspected and confirmed infections globally. To slow down its spread and eventually contain it, accurate, rapid and convenient screening and diagnostic methods are of great significance.

It was previously highlighted that laboratory medicine plays an essential role in the early detection, diagnosis and management of many diseases [3, 9, 10]. COVID-19 makes no exception to this rule, whereby real-time reverse-transcription polymerase chain reaction (rRT-PCR) enables direct virus identification, whilst detection of anti-COVID-19 antibodies by means of fully-automated immunoassays is the mainstay of serological surveillance [2, 11].

The role of laboratory diagnostics extends far beyond etiological diagnosis and epidemiologic surveillance, whereby *in vitro* diagnostic tests are commonly used for assessing disease severity, for defining the prognosis, for following-up patients, for guiding treatment and for their therapeutic monitoring [12, 13].

Material and methods

An electronic search was performed in *Medline (PubMed interface)*, *Scopus* and *Web of Science*, using the keywords “SARS-Cov-2” or “2019-nCoV” or “COVID-19” without date or language restrictions. The title, abstract and full text (when available) of all articles identified according to these search criteria were scrutinized by the authors, and those describing diagnosing and significant laboratory abnormalities in patients with severe COVID-19 infection were finally selected. The references of identified documents were also crosschecked for detecting additional studies.

Results

Laboratory testing strategy recommendations for COVID-19

Interim guidance 21 March 2020 (WHO) [14]

WHO has published laboratory testing guidance for COVID-19 in suspected human cases. Recognizing that the global spread of COVID-19 has dramatically increased the number of suspected cases and the geographic area where laboratory testing needed to be implemented, intensified COVID-19 molecular testing has led to shortages of molecular testing reagents globally for COVID-19 and for other molecular diagnostics. Beyond supply issues, there are significant limitations of absorption capacity in many regions, especially in low- and middle-income countries.

As part of the Strategic Preparedness and Response Plan,

În cadrul Planului Strategic de Pregătire și Răspuns, OMS a elaborat recomandări privind strategiile de testare. Această strategie are trei elemente fundamentale:

- toate țările trebuie să își crească nivelul de pregătire, alertă și răspuns pentru identificarea, gestionarea și îngrijirea cazurilor noi de COVID-19. Testarea de laborator este o parte integrantă a acestei strategii;
- țările trebuie să se pregătească pentru a răspunde diferitelor scenarii de sănătate publică, recunoscând că nu există o abordare unică pentru a gestiona cazurile și focarele de COVID-19;
- fiecare țară trebuie să își evalueze riscul și să pună rapid în aplicare măsurile necesare la nivelul adecvat, să se pregătească pentru o creștere bruscă a necesității de asistență medicală și de testare, pentru a reduce atât transmiterea COVID-19, cât și impactul său economic, social și asupra sănătății publice.

Bunele practici de laborator care produc rezultate exacte sunt esențiale pentru a se asigura că testele de laborator aduc beneficii răspunsului în materie de sănătate publică. Disponibilitatea unor rezultate corecte și oportune poate fi amenințată atunci când testarea necesită o capacitate mai mare decât cea a sistemului, cum ar fi atunci când:

- există un număr mare de teste restante, care nu au fost efectuate și nu este posibilă eliberarea rezultatelor în 24 până la 48 de ore;
- cererea de aprovizionare a laboratorului cu reactivi depășește oferta;
- personalul laboratorului este epuizat, iar orele de lucru trebuie reduse;
- numărul de eșantioane primite depășește capacitatea de stocare în condiții de siguranță, prealabilă testării;
- infectarea personalului de laborator sau incapacitatea personalului de a realiza sarcinile (de exemplu, este în carantină);
- echipamentele de laborator nu mai pot fi deservite și întreținute corespunzător.

Unele dintre aceste situații pot fi depășite printr-o evaluare adecvată a riscurilor în faza inițială a apariției unui focar și prin soluții preventive puse în aplicare în prealabil.

În funcție de intensitatea transmiterii, de numărul de cazuri și de capacitatea de testare în laborator, este necesar de a stabili prioritizarea procesului de testare în funcție de obiectivele sistemului de sănătate.

OMS a subliniat acțiuni prioritare critice pentru pregătire și acțiuni de răspuns pentru COVID-19 și a definit patru scenarii de transmitere:

- 1) țări fără cazuri (fără cazuri);
- 2) țări cu unul sau mai multe cazuri, importate sau detectate local (cazuri sporadice);
- 3) țări care se confruntă cu grupuri de cazuri legate de timp, locație geografică sau expunere comună (clustere de cazuri);
- 4) țările care se confruntă cu focare mai mari sau cu o transmisie locală susținută și omniprezentă (transmisia comunitară).

Prezentul articol oferă îndrumări pentru factorii de decizie cu privire la strategiile de testare în laboratoare pentru fiecare

WHO developed testing strategy recommendations. The foundation of this strategy is threefold:

- all countries should increase their level of preparedness, alert, and response to identify, manage, and care for new cases of COVID-19; laboratory testing is an integral part of this strategy;
- countries should prepare to respond to different public health scenarios, recognizing that there is no one-size-fits-all approach to managing cases and outbreaks of COVID-19;
- each country should assess its risk and rapidly implement the necessary measures at the appropriate scale and prepare for a testing and clinical care surge to reduce both COVID-19 transmission and economic, public health, and social impacts.

Good laboratory practices that produce accurate results are key to assure that laboratory testing benefits the public health response. The availability of timely and accurate results can be threatened when testing demands outstrip capacity, such as when:

- there is a backlog for testing and it is no longer possible to turn around results within 24 to 48 hours;
- the demand for laboratory reagents exceeds the capacity for supply;
- laboratory staff are exhausted and working hours need to be reduced;
- the number of incoming samples exceeds the capacity for safe pretesting storage;
- critical staff become infected or are otherwise unable to perform their duties (e.g. being in quarantine);
- laboratory instruments can no longer be serviced or properly maintained.

Some of these constraints can be overcome by a proper risk assessment in the early phase of an outbreak and preventive solutions put in place in advance.

Depending on the intensity of transmission, the number of cases and laboratory testing and surge capacity, it may be necessary to prioritize who gets tested according to health objectives.

WHO has outlined critical priority actions for preparedness, readiness, and response actions for COVID-19 and has defined four transmission scenarios:

- 1) countries with no cases (no cases);
- 2) countries with 1 or more cases, imported or locally detected (sporadic cases);
- 3) countries experiencing clusters of cases related in time, geographic location, or common exposure (clusters of cases);
- 4) countries experiencing larger outbreaks or sustained and pervasive local transmission (community transmission).

This document provides guidance to policy makers and laboratories on testing strategies for each of these four scenarios, including the scenario in which testing can be performed only on a limited number of patients.

As the COVID-19 situation evolves, the outbreak character-

din aceste patru scenarii, inclusiv, scenariul în care testarea poate fi efectuată doar pe un număr limitat de pacienți.

Pe măsură ce situația COVID-19 evoluează, caracteristicile focarului, cu care se confruntă o țară, se vor schimba. Țările ar putea experimenta unul sau mai multe dintre aceste scenarii la nivel sub-național și ar trebui să își adapteze abordarea lor la contextul local și să se pregătească pentru potențiale faze ulterioare.

Deoarece trecerea de la cazurile sporadice la transmiterea comunitară poate fi extrem de rapidă, OMS recomandă tuturor țărilor să se pregătească chiar înainte de a fi detectat primul caz. Pregătirea și promptitudinea trebuie să includă stabilirea capacității de testare COVID-19 în țară. Dacă capacitatea de testare nu este încă accesibilă, este necesar de a evalua pregătirea pentru trimiterea probelor cazurilor suspecte la un laborator de referință OMS pentru testarea COVID-19, în timp ce se stabilește capacitatea de testare locală. Dacă testarea este disponibilă la nivel național, este necesar de a planifica capacitatea de creștere rapidă prin stabilirea capacității de testare descentralizată în laboratoarele subnaționale, sub supravegherea laboratorului național de referință COVID-19. Este necesar de a calcula opțiunile de angajare a serviciilor de laborator privat sau a sectorului academic. În situația când capacitățile de testare sunt limitate, laboratoarele tind să fie situate în capitală sau în apropierea unei capitale, ceea ce face dificil accesul în timp util la procesul de testare pentru persoanele care locuiesc în alte părți ale țării. În astfel de cazuri, este indispensabil de a lua în considerare posibilitatea utilizării laboratoarelor mobile sau, dacă este disponibil, a sistemelor automatizate integrate NAAT care pot fi operate în regiuni îndepărtate și de personal cu o pregătire minimă.

Este necesar de a ne asigura că personalul laboratorului este bine instruit în biosecuritate și posedă abilități tehnice necesare pentru a efectua sarcinile. Este indispensabil de a avea acces la materialele de colectare a probelor biologice, materialele de ambalare, reactivi, consumabile și protocoale de laborator.

Acest document se concentrează exclusiv pe testarea moleculară, deoarece aceasta este metoda actuală recomandată pentru identificarea cazurilor infecțioase. Cerințele tehnice pentru testarea moleculară sunt incluse în: (1) testarea de laborator pentru COVID-19 în cazuri umane suspectate; (2) testele serologice joacă un rol important în cercetare și supraveghere, dar în prezent nu sunt recomandate pentru detectarea cazurilor și nu sunt incluse în acest document. Rolul testelor rapide de unică folosință pentru detectarea antigenului pentru COVID-19 trebuie evaluat, iar actualmente nu sunt recomandate pentru diagnosticul clinic, până la acumularea mai multor dovezi privind performanța testului și utilitatea operațională. OMS va actualiza această ghid pe măsură ce vor fi disponibile mai multe teste de laborator pentru diagnosticul COVID-19.

Reflecții pentru țările cu transmitere comunitară

În prezența transmiterii comunitare pe zone mari ale țării, laboratoarele vor trebui pregătite pentru creșterea semnificativă a numărului de persoane care necesită testate pentru COVID-19. Aceste situații ar trebui anticipate, iar prioritizarea

istice a country faces will change. Countries could experience one or more of these scenarios at the sub-national level and should adjust and tailor their approach to the local context and prepare for potential subsequent phases.

As the transition from sporadic cases to community transmission can be extremely rapid, WHO strongly advises all countries to prepare even before the first case has been detected. Preparedness and readiness should include the establishment of COVID-19 testing capacity in country. If testing capacity is not yet available, assess preparedness for sending specimens of suspected cases to a WHO reference laboratory for COVID-19 testing while establishing local testing capacity. If testing is available at the national level, plan for surge capacity by establishing decentralized testing capacity in sub-national laboratories under the supervision of the COVID-19 national reference laboratory. Options to engage private laboratory services or the academic sector should be considered. When testing facilities are limited, available facilities tend to be located in or near a capital city, making timely access to testing difficult for people living in other parts of the country. Consider the possibility of mobile laboratories or, if available, automated integrated NAAT systems that can be operated in remote regions and by staff with minimal training.

Always ensure that staff are well trained in biosecurity and the required technical skills to perform the work. Ensure access to specimen collection materials, packaging materials, reagents, supplies, and laboratory protocols.

This document focusses solely on molecular testing as this is the current recommended method for the identification of infectious cases. The technical requirements for molecular testing are included in: (1) laboratory testing for COVID-19 in suspected human cases; (2) serological assays will play an important role in research and surveillance but are not currently recommended for case detection and are not included in this document. The role of rapid disposable tests for antigen detection for COVID-19 needs to be evaluated and is not currently recommended for clinical diagnosis pending more evidence on test performance and operational utility. WHO will update this guidance as more information laboratory tests for COVID-19 becomes available.

Considerations for countries dealing with community transmission

Faced with community transmission over large areas of the country, laboratories will need to be prepared for the significant increase in the number of specimens that need to be tested for COVID-19. Testing constraints should be anticipated, and prioritization will be required to assure the highest public health impact of reducing transmission using available resources.

Prioritized testing strategies

As the virus does not respect borders, a country can simultaneously have areas with no cases and areas with community circulation. Thus, different testing strategies might be needed within the same country.

For areas within a country with no circulation, the objec-

va fi necesară pentru a asigura cel mai mare impact pozitiv asupra sănătății publice și a reducerii transmiterii utilizând resursele disponibile.

Strategii de testare prioritare

Deoarece virusul nu respectă hotarele, o țară poate avea simultan zone fără cazuri și zone cu circulație comunitară. Astfel, ar putea fi necesare diferite strategii de testare în aceeași țară.

Pentru zonele fără circulație din interiorul unei țări, obiectivele rămân testarea tuturor cazurilor suspecte în vederea detectării cât mai rapide a primelor cazuri în zone sau medii noi și aplicarea măsurilor imediate pentru a preveni răspândirea în regiunea respectivă.

Este necesar să se acorde prioritate testării în zonele cu transmisie comunitară și în mediile în care capacitatea de testare nu poate satisface necesitățile. Această prioritate ar trebui să se concentreze pe identificarea precoce și pe protecția pacienților vulnerabili și a lucrătorilor din domeniul asistenței medicale. Testarea în unitățile medicale asigură că procesele de prevenire și control al infecțiilor pot fi puse în aplicare în mod corect, astfel încât pacienții vulnerabili care nu au COVID-19 să fie protejați de infecția COVID-19 nosocomială. Testarea în rândul populațiilor vulnerabile și al grupurilor de risc va fi importantă pentru aplicarea la timp a tratamentului și pentru a reduce la minimum evoluția către boli grave. Rezultatele testelor efectuate asupra unor categorii specifice de populație (de exemplu, pacienți care necesită spitalizare pentru boli respiratorii) pot oferi o estimare aproximativă a dimensiunii focarului din zonă și pot fi utilizate pentru monitorizarea tendințelor.

În prezența unor resurse limitate în regiunile cu transmisie comunitară, ar trebui acordată prioritate testării următoarelor categorii:

- persoanele care sunt expuse riscului de a dezvolta boli grave și populației vulnerabile, care vor necesita spitalizare și îngrijire avansată pentru COVID-19;
- lucrătorii din domeniul sănătății (inclusiv serviciile de urgență și personalul non-clinic), indiferent dacă aceștia sunt sau nu în contact cu un caz confirmat (pentru a proteja lucrătorii din domeniul sănătății și a reduce riscul transmiterii nosocomiale);
- primii indivizi simptomatici dintr-un mediu închis (de exemplu școli, centre de plasament, închisori, spitale) pentru a identifica rapid focarele și a asigura măsuri de izolare. Toate celelalte persoane care prezintă simptome apropiate, pot fi considerate cazuri probabile și izolate fără testare suplimentară dacă capacitatea de testare este limitată.

Recomandări actuale pentru testarea în laborator a COVID-19

La momentul redactării, OMS recomandă testarea în laborator pentru COVID-19, după cum urmează [8]:

Identificarea infecțiilor COVID-19

1) *Metodele de amplificare a acizilor nucleici (NAAT)* – metode moleculare cum ar fi RT-PCR) sunt recomandate. Această metodă este aplicată pentru: diagnostic clinic și tratament („testare și tratare”); identificarea, triajul și investigarea gru-

tives remain to test all suspected cases in an effort to detect first cases in new areas or settings as rapidly as possible, and take immediate measures to prevent (further) spread in that region.

Testing in areas with community transmission and in settings where testing capacity cannot meet needs must be prioritized. This prioritization should focus on the early identification and protection of vulnerable patients and health care workers. Focused testing in health care facilities ensures that infection prevention and control measures can be correctly implemented such that vulnerable patients who do not have COVID are protected from nosocomial COVID-19 infection. Testing among vulnerable populations and risk groups will be important for early treatment to minimize progression to severe disease. Results of testing of specific populations (e.g. patients requiring hospitalization for respiratory disease) can give a rough estimate of the size of the outbreak in the area and be used to monitor trends.

In the setting of limited resources in areas with community transmission, prioritization for testing should be given to:

- people who are at risk of developing severe disease and vulnerable populations, who will require hospitalization and advanced care for COVID-19;
- health workers (including emergency services and non-clinical staff) regardless of whether they are a contact of a confirmed case (to protect health workers and reduce the risk of nosocomial transmission);
- the first symptomatic individuals in a closed setting (e.g. schools, long-term living facilities, prisons, hospitals) to quickly identify outbreaks and ensure containment measures. All other individuals with symptoms related to the close settings may be considered probable cases and isolated without additional testing if testing capacity is limited.

Current recommendations for laboratory testing of COVID-19

At time of writing, WHO recommends laboratory testing for COVID-19 as follows [8]:

Identification of COVID-19 infections

1) *Nuclear acid amplification (NAAT) methods* (molecular methods such as RT-PCR) are recommended. This comprises the following applications: clinical diagnosis for patient care (“test and treat”), identification at triage and investigation of clusters (“test and isolate”) confirmation of virus clearance after recovery [15, 16];

Respiratory tract specimens are recommended, other specimens are under investigation:

- upper respiratory specimens (nasopharyngeal and oropharyngeal swab or wash);
- lower respiratory specimens (sputum and/or endotracheal aspirate or broncho-alveolar lavage).

2) *Serology tests* are currently not recommended for case detection. But they will play a role in research and surveillance;

3) *Rapid diagnostic tests for antigen detection* for COVID-19 need to be evaluated and is not currently recommended for

purilor („testare și izolare”); confirmarea lipsei virusului după recuperare [15, 16].

Se recomandă prelevarea probelor biologice din căile respiratorii, alte material biologice sunt în curs de cercetare:

- probe din căile respiratorii superioare (tampoane nazofaringiene și orofaringiene);
- probe din căile respiratorii inferioare (aspirat de spută și/sau endotraheal sau lavaj bronhoalveolar).

2) *Testele serologice* nu sunt recomandate în prezent pentru detectarea cazurilor, dar vor avea impact în cercetare și supravegherea ulterioară.

3) *Testele rapide de diagnostic pentru detectarea antigenului COVID-19* trebuie evaluate, dar în prezent nu sunt recomandate pentru diagnosticarea clinică și nici pentru triaj și investigarea grupurilor, până la obținerea mai multor dovezi privind performanța și utilitatea operațională a acestora.

Metode de amplificarea a acizilor nucleici (NAAT) – reacția de polimerizare în lanț, cu detecție în timp real (RT-PCR), metoda uzuală utilizată în detectare virusurilor respiratorii, de asemenea, este și metoda principală de diagnosticare pentru COVID-19. Cu toate acestea, ratele pozitive actuale ale acestui test pot varia foarte mult, în funcție de tipurile de probe și de fragmentele de gene utilizate [17].

Colectarea probelor

Probele biologice trebuie colectate de personal calificat cu respectarea instrucțiunilor privind biosecuritatea, inclusiv utilizarea echipamentelor individuale de protecție adecvate măsurilor de precauție standard, de contact și aeriene. În special, personalul trebuie să respecte o igienă corespunzătoare a mâinilor, să poarte mască facială de protecție (N95 sau FFP2), protecție pentru ochi și mănuși [8, 18].

Probe respiratorii

Probele recomandate sunt cele din tractul respirator inferior, inclusiv sputa, lavajul bronhoalveolar și aspiratul traheal (dacă este posibil conform criteriilor medicale). Cu toate acestea, atunci când nu este posibilă colectarea unei probe din tractul respirator inferior, probele din tractul respirator superior sunt, de asemenea, utile. În general, se recomandă colectarea unui tampon nazofaringian combinat și a unui tampon orofaringian combinat (tampoanele trebuie plasate și transportate în același tub steril cu în 2-3 ml mediu de transport pentru virusuri (VTM). Probele biologice trebuie păstrate refrigerate (4-8°C) și transmise laboratorului unde vor fi procesate în termen de 24-72 de ore de la colectare. Dacă eșantioanele nu pot fi trimise în această perioadă de timp, se recomandă congelarea la -70°C (sau mai puțin) până la expedierea eșantioanelor (cu asigurarea menținerii la rece). Dacă tampoanele au fost plasate într-un mediu steril salin fără mediul de transport pentru virusuri, procesul de transportare trebuie accelerat. Transportul probelor suspectate către laboratoare de referință sau centre de colaborare din afara țării și pe calea aeriană trebuie să asigure respectarea tuturor standardelor internaționale (IATA) pentru substanțele biologice, categoria B. Virusul COVID-19, precum și virusul SARS-CoV și MERS-CoV au fost detectate și în alte tipuri de probe, cum ar fi masele fecale și sânge. Cu toate acestea, dinamica virală a acestor eșantioane nu a fost caracterizată pe deplin. Probele de țesut pulmonar sau

clinical diagnosis nor for triage and investigation of clusters pending more evidence on test performance and operational utility.

Nuclear acid amplification (NAAT) methods - real time reverse-transcription poly chain reaction (RT-PCR), the usual detection method for common respiratory virus is also the primary diagnostic means for COVID-19. However, current positive rates of this test can vary greatly, depending on types of the specimens and gene fragments used [17].

Sample collection

Samples should be collected by trained personnel and considering all biosafety instructions including the use of personal protective equipment appropriate for standard, contact, and airborne precautions. In particular, personnel should use proper hand hygiene, gown, respirator (N95 or FFP2), eye (goggle) or facial (face shield) protection, and gloves [8, 18].

Respiratory samples

Recommended samples are those from the lower respiratory tract, including sputum, broncho-alveolar lavage and tracheal aspirate (when possible according to medical criteria). However, when collection of a lower respiratory tract sample is not possible, samples from the upper respiratory tract are also useful. In general, the collection of a combined nasopharyngeal swab and oropharyngeal swab is recommended (swabs should be placed and transported in the same tube with viral or universal transport medium). Respiratory samples should be kept refrigerated (4-8°C) and sent to the laboratory where they will be processed within the 24-72 hours of collection. If samples cannot be sent within this period, freezing at -70°C (or less) is recommended until samples are shipped (ensuring the cold chain is maintained). If swabs were placed in sterile saline instead of viral transport medium, shipment should be expedited. Shipment of suspected samples to reference laboratories or collaborating centers outside of the country and by air must ensure compliance with all international standards (IATA) for Biological Substances, Category B.

The COVID-19 virus as well as SARS-CoV and MERS-CoV, has been detected in other sample types, such as stools and blood. However, the viral dynamics in these samples has not been fully characterized. Samples of lung tissue or respiratory tract might also be useful for molecular detection, as long as the appropriate conditions are in place to perform the autopsy, particularly respiratory protection. Acute and convalescent blood samples might be useful as serological tests become available [18, 19].

Implementation and interpretation

Although the recommendation for laboratory confirmation of cases is to detect two different genetic targets, once COVID-19 virus circulation is established and widespread in a given area/country, it is not longer necessary to run the PCR for both genes. Thus, confirmation through the detection of a single genetic target can be implemented, if the curves and other quality assurance parameters are optimal. Either E or RdRP genes can be used for the diagnosis, nevertheless, the E gene PCR has demonstrated slightly higher sensitivity, so we recommend prioritizing the E gene as the selected target [2, 18].

Molecular detection of COVID-19 virus using well-designed

de tract respirator pot fi, de asemenea, utile pentru detectarea moleculară, atât timp cât sunt în vigoare condițiile adecvate pentru efectuarea autopsiei, în special protecția respiratorie. Probele de sânge în faza acută și convalescentă ar putea fi utile pe măsură ce testele serologice vor fi disponibile [18, 19].

Aplicarea și interpretarea

Deși recomandarea pentru confirmarea de laborator a cazurilor este de a detecta două ținte genetice diferite, odată ce circulația virusului COVID-19 este stabilită și răspândită într-o anumită zonă/țară, nu este necesar să se efectueze PCR pentru identificarea mai multor gene. Astfel, se poate implementa confirmarea prin detectarea unui singur obiectiv genetic, dacă curbele și alți parametri de asigurare a calității sunt optimi. În scop diagnostic pot fi utilizate identificarea genei E sau RdRP, însă testul de identificare a genei E a demonstrat o sensibilitate mai mare, astfel încât se recomandă prioritizarea genei E ca țintă selectată [2, 18].

Detectarea moleculară a virusului COVID-19 în baza protocoalelor bine concepute este de obicei foarte specifică; astfel, un rezultat pozitiv confirmă prezența virusului. Este important de precizat că unul sau mai multe rezultate negative la testul de detecție a acidului nucleic viral nu exclud posibilitatea unei infecții cu virusul SARS-CoV-2, iar în contextul clinic sugestiv diagnosticul nu trebuie infirmat pe baza unui test negativ.

Există o serie de factori care ar explica prezența unui rezultat negativ (fals negativ) al unei persoane infectate cu virusul COVID-19, în mod particular:

- calitatea slabă a probelor prelevate, manevrarea, transportul și/sau depozitarea (pentru a controla acest lucru, se poate efectua detectarea calitativă a unei gene *housekeeping* umane);
- extracție slabă/eșuată a probei, prezența inhibitorilor PCR în ARN-ul extras (pentru a controla acest lucru, se poate utiliza un control al extracției sau detectarea unei gene *housekeeping*);
- probele biologice au fost colectate într-un moment în care pacientul a prezentat cantități insuficiente de virus, de exemplu foarte devreme sau foarte târziu în timpul infecției (acest punct este deosebit de relevant, deoarece dinamica prezenței virale în diferite tipuri de eșantioane nu a fost stabilită în totalitate);
- ca și în cazul oricărui test de detectare moleculară, mutațiile virale în regiunile vizate de teste pot afecta sensibilitatea detectării.

Testele serologice

Testele bazate pe detectarea anticorpilor IgM/IgG pot avea relevanță în special post-epidemic pentru evaluarea seroprevalenței infecției în populația generală. În prezent disponibile mai multe teste (atât teste ELISA, cât și teste de diagnostic rapid) pentru detectarea anticorpilor IgM/IgG și sunt comercializate pentru detectarea infecțiilor cu virus COVID-19 [20, 21]. Cu toate acestea, actualmente, aceste teste nu sunt recomandate pentru utilizare. Utilizarea acestor teste poate fi limitată din cauza reactivității încrucișate cu alte coronavirusuri care sunt prezente în mod normal în comunitate și care crează

protocols is usually very specific; thus, a positive result confirms the detection of the virus. On the contrary, a negative result might not always mean the absence of COVID-19 virus infection. Several reasons might explain a negative result in a person infected with COVID-19 virus, mainly:

- poor sample quality, handling, transportation and/or storage (to control for this, the qualitative detection of a human housekeeping gene can be performed);
- poor/failed sample extraction, presence of PCR inhibitors in the extracted RNA (to control for this, an extraction control can be used, or the detection of a housekeeping gene undertaken as mentioned above);
- the sample was collected at a time where the patient was not shedding sufficient amounts of virus, for instance very early or very late during infection (this point is particularly relevant as the dynamics of the viral presence in different sample types has not been fully established);
- as with any molecular detection assay, virus mutations in the regions that are targeted by the assays might affect the sensitivity of the detection.

Serology tests

Assays based on the detection of IgM/IgG antibodies can support outbreak investigation and sero-prevalence studies. Several assays (both ELISA and rapid diagnostic tests) are available for the detection of IgM/IgG antibodies and are marketed for the detection of COVID-19 virus infections [20, 21]. However, to date, these tests are not recommended for use. These tests may be limited due to cross-reactivity with other coronaviruses that are normally present in the community and that make the interpretation of results difficult. Furthermore, the dynamics of antibody response and production during the different stages of infection are not yet fully established at present, which further limits the use of these tests. Some studies have shown that during the first 6-7 days from the onset of symptoms, less than 40% of patients have detectable antibodies [21]. Thus, serological tests should not be used to rule out a case during the first days of illness. Likewise, the detection of antibodies after day 7 only indicates previous contact with the virus but does not confirm the presence and shedding of the virus. The antibodies detected could result from a previous infection and not from the acute infection for which the diagnosis is being required. Many commercial products are being marketed for the detection of antibodies (IgM and/or IgG) induced by COVID-19 virus infection, including rapid diagnostic tests (RDTs). Any such test should be validated and its performance in terms of specificity and sensitivity assessed. Currently and at the request of WHO, evaluation and eventual validation processes are underway for some of these tests [14, 18]. However, until now, none has an independent validation and therefore caution should be exercised in their use. Furthermore, the use of rapid tests is not recommended since (in addition to what was previously expressed), these types of tests might have low sensitivity (see below). For these reasons, antibody detection is not considered (as

dificultăți în interpretarea rezultatelor. În plus, în prezent, dinamica răspunsului anticorpilor și a producției lor în diferite stadii ale infecției nu sunt încă pe deplin stabilite, ceea ce limitează și mai mult utilizarea acestor teste. Unele studii au arătat că, în primele 6-7 zile de la debutul simptomelor, mai puțin de 40% dintre pacienți prezintă anticorpi detectabili [21]. Astfel, testele serologice nu trebuie utilizate pentru a exclude un caz în primele zile de boală. De asemenea, detectarea anticorpilor după ziua a șaptea, indică doar contactul anterior cu virusul, dar nu confirmă prezența și/sau eradicarea virusului. Anticorpii detectați pot rezulta dintr-o infecție anterioară, și nu din infecția acută pentru care este necesară diagnosticarea. În scopul detectării anticorpilor (IgM și/sau IgG) induși de infecția cu virusul COVID-19, sunt comercializate multe produse, inclusiv, testele rapide de diagnostic (RDTs). Orice astfel de test trebuie validat și trebuie evaluată performanța referitor la specificitate și sensibilitate. Actualmente, la cererea OMS, pentru unele dintre aceste teste sunt în curs de desfășurare procese de evaluare și de validare [14, 18]. Cu toate acestea, până în prezent, nici un test nu are o validare independentă și, prin urmare, trebuie să se exercite o prudență în utilizarea lor. În plus, nu se recomandă utilizarea testelor rapide deoarece (pe lângă ceea ce s-a exprimat anterior) aceste tipuri de teste ar putea avea o sensibilitate scăzută. Din aceste motive, detectarea anticorpilor nu este considerată (deocamdată) un test adecvat pentru confirmarea sau diagnosticarea cazurilor COVID-19. Protocoalele serologice interne sunt, de asemenea, în curs de elaborare în mai multe laboratoare [18].

Detectarea antigenului

În primele zile de la debutul simptomelor (aproximativ 1-5 zi), se generează proteine virale care pot fi detectate prin diferite teste (de exemplu, ELISA, imunofluorescență). În general, acest tip de teste prezintă o specificitate acceptabilă (în funcție de test), prin urmare detectarea poate fi utilizată ca criteriu de confirmare (în coroborare cu definiția cazului, istoricul clinic și istoricul epidemiologic) și poate contribui la unele decizii privind sănătatea publică (de exemplu, izolare). Cu toate acestea, dinamica producției și secreției acestor proteine (antigeni) nu a fost stabilită, prin urmare, nu se recomandă ca și criteriu un rezultat negativ (în orice etapă a infecției) pentru a exclude un caz și, prin urmare, trebuie luate în considerare alte criterii [18].

Testele rapide de diagnostic (RDTs)

Până în prezent, nu există teste de diagnosticare rapidă (imunocromatografie prin captură de aur coloidal) care au fost autorizate de autoritățile de reglementare competente și/sau au fost validate oficial. În general, aceste tipuri de teste au o sensibilitate scăzută. Prin urmare, valoarea lor predictivă pozitivă este bună (ele pot fi utilizate pentru a se pronunța în cazuri), însă valoarea lor predictivă negativă este scăzută (nu ar trebui să fie utilizate pentru a exclude cazurile). De asemenea, limitările descrise mai sus pentru testele serologice și detectarea antigenică se aplică și la RDTs [11, 18, 22].

yet) an appropriate test for confirmation or diagnosis of COVID-19 cases. In house serological protocols are also under development in several laboratories [18].

Antigen detection

During the first days after symptom onset (approximately 1 to 5), viral proteins are generated that can be detected by different tests (e.g., ELISA, immunofluorescence). In general, this type of assays has acceptable specificity (depending on the assay), therefore its detection can be used as a confirmation criterion (in conjunction with the case definition, the clinical history, and the epidemiological history) and to make public health decisions (e.g., isolation). However, the dynamics of production and secretion of these proteins (antigens) has not been established, therefore a negative result (at any stage of infection) should not be used as a criterion to rule out a case, and therefore other criteria must be taken into account [18].

Rapid diagnostic tests (RDTs)

So far there are no rapid diagnostic tests (immune chromatography or colloidal gold detection) that have been authorized by competent regulatory authorities and/or have been formally validated. In general, these types of tests have low sensitivity. Therefore, their positive predictive value is good (they can be used to rule in cases), but their negative predictive value is low (they should not be used to rule out cases). Also, the limitations described above for serological tests and antigenic detection apply to RDTs [11, 18, 22].

Routine blood tests as a potential diagnostic tool for COVID-19

The nucleic acid test serves as the gold standard method for the etiological diagnosis of SARS-CoV-2 infection. However, the large demand for rRT-PCR tests due to the worldwide extension of the virus is highlighting the limitations of this type of diagnosis on a large scale such as the long turnaround times (on average over 2-3 h to generate results) and the need of certified laboratories, expensive equipment and trained personnel [8]. In addition, rRT-PCR includes general analytical and preanalytical issues which may jeopardize the diagnostic accuracy of the test [5]. Yet several recent studies have reported as much as 20% false-negative results for this type of test [2, 16]. These limitations make rRT-PCR unsuitable for a fast and large-scale screening aiming to a rapid diagnosis of patients. Such limitations become even more emphasized in those countries with limited resources like developing countries. Thus, the urgent need for alternative tests to quickly identify infected SARS-CoV-2 patients in order to prevent virus transmission and guarantee a prompt treatment for patients.

Recently published literature sources [23, 24], had highlighted the most important abnormalities observed in patients with COVID-19, mostly encompassing lymphopenia, increased values of C reactive protein (CRP), lactate dehy-

Tablelul 1. Semnificația clinică și biologică a parametrilor de laborator la pacienții cu COVID 19.**Table 1.** Potential clinical and biological significance of abnormal laboratory values in patients with COVID-19.

Parametrul de laborator <i>Laboratory parameter</i>	Semnificația clinică și biologică <i>Potential clinical and biological significance</i>
Limfopenie <i>Lymphopenia</i>	Reducerea răspunsului imun față de virus <i>Decreased immunological response to the virus</i>
Leucocitoză <i>Leukocytosis</i>	Infecție/suprainfecție bacteriană <i>Bacterial (super)infection</i>
Neutrofilie <i>Neutrophilia</i>	Infecție/suprainfecție bacteriană <i>Bacterial (super)infection</i>
Creșterea valorii MDW <i>Increased value of MDW</i>	Infecție virală gravă/viremie/sepsis viral <i>Severe viral infection/viremia/viral sepsis</i>
Trombocitopenie <i>Thrombocytopenia</i>	Coagulopatie de consum (diseminată) <i>Consumption (disseminated) coagulopathy</i>
Creșterea valorii PCR <i>Increased value of CRP</i>	Infecție virală gravă/viremie/sepsis viral <i>Severe viral infection/viremia/viral sepsis</i>
Creșterea valorii procalcitoninei <i>Increased value of procalcitonin</i>	Infecție/suprainfecție bacteriană <i>Bacterial (super)infection</i>
Creșterea valorii LDH <i>Increased value of LDH</i>	Leziuni pulmonare și/sau de organe <i>Pulmonary injury and/or widespread organ damage</i>
Creșterea valorii aminotransferazelor <i>Increased value of aminotransferases</i>	Leziuni ale ficatului și/sau de organe <i>Liver injury and/or widespread organ damage</i>
Creșterea valorii bilirubinei <i>Increased value of bilirubin</i>	Leziuni ale ficatului <i>Liver injury</i>
Creșterea valorii creatininei <i>Increased value of creatinine</i>	Leziuni ale rinichilor <i>Kidney injury</i>
Creșterea valorii troponinelor cardiace <i>Increased value of cardiac troponins</i>	Leziuni cardiace <i>Cardiac injury</i>
Scăderea valorii albuminei <i>Decreased value of albumin</i>	Afectarea funcției ficatului <i>Impairment of liver function</i>
Prelungirea timpului protrombinei <i>Prolongation of prothrombin time</i>	Activarea coagulării sau coagulopatie diseminată <i>Activation of blood coagulation and or disseminated coagulopathy</i>
Creșterea valorii D-dimerilor <i>Increased value of D-dimers</i>	Activarea coagulării sau coagulopatie diseminată <i>Activation of blood coagulation and/or disseminated coagulopathy</i>

Notă: PCR – proteina C reactivă; MDW – lărgimea distribuției volumului monocitelor; LDH – lactat dehidrogenaza.

Note: CRP – C reactive protein; MDW – monocyte volume distribution width; LDH – lactate dehydrogenase.

Testele de sânge de rutină drept instrument potențial de diagnosticare pentru COVID-19

Testul de amplificare al acizilor nucleici servește ca metodă standard de aur pentru diagnosticarea etiologică a infecției cu SARS-CoV-2. Cu toate acestea, cererea mare de teste RT-PCR ca urmare a extinderii virusului la nivel mondial, evidențiază limitele acestui tip de diagnostic pe scară largă, cum ar fi timpul lung de procesare (în medie, peste 2-3 ore pentru a genera rezultate) și necesitatea unor laboratoare certificate, echipamente costisitoare și personal instruit [8]. În plus, RT-PCR include aspecte generale analitice și preanalitice care pot pune în pericol precizia de diagnostic a testului [5], iar mai multe studii recente au raportat rezultate fals negative de până la 20% pentru acest tip de test [2, 16]. Aceste limitări fac ca RT-PCR să fie neadecvat pentru examinări rapide și la scară largă, având ca scop diagnosticarea rapidă a pacienților. Astfel de restrângeri devin și mai accentuate în țările cu resurse financiare limitate, precum țările în curs de dezvoltare. În acest caz,

drogenase (LDH), erythrocyte sedimentation rate (ESR) and D-dimer, along with diminished concentration of serum albumin. Even more importantly, a number of hematological parameters were also found to predict progression toward severe or critical forms of COVID-19, including leukocytosis, neutrophilia and lymphopenia [25]. In addition, an innovative parameter called MDW (monocyte volume distribution width – DxH 900 hematology analyzer, Beckman Coulter, Brea, CA, USA) was found to be significantly increased in all COVID-19 patients, especially those with worst clinical conditions. For prognostication purposes, also increased values of LDH, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), total bilirubin, creatinine, cardiac troponins, D-dimer, prothrombin time (PT), procalcitonin and CRP, together with decreased values of serum albumin, have been found of value [7, 23, 26].

The importance of hemostasis tests has then been emphasized in another study [27], including patients with COVID-19,

imperativ apare necesitatea de a efectua teste alternative pentru identificarea rapidă a pacienților infectați cu SARS-CoV-2, în vederea prevenirii transmiterii virusului și a asigurării unui tratament prompt pentru acești pacienți.

Unele surse, publicate recent [23, 24], au evidențiat cele mai importante modificări de laborator depistate la pacienții cu COVID-19, care includ, în principal, limfopenia, valori crescute ale proteinei C reactive (PCR), ale lactatdehidrogenazei (LDH), vitezei de sedimentare a eritrocitelor (VSH) și D-dimeri, pe fundalul concentrației scăzute a albuminei serice. Dar și mai important este faptul că s-au stabilit o serie de parametri hematologici (leucocitoză, neutropenie și limfopenie) care prezic evoluția către forme grave sau critice de COVID-19 [25]. În plus, s-a constatat că un indice hematologic inovator, numit MDW (lărgimea distribuției volumului monocitelor – DxH 900 analizator hematologic, *Beckman Coulter, Brea, CA, USA*) a fost crescut semnificativ la toți pacienții COVID-19, în special, la pacienții cu cele mai grave forme clinice. În scopul aprecierii prognosticului la pacienții cu COVID-19, s-au constatat valori crescute și pentru LDH, aspartat aminotransferază (AST), alanin aminotransferază (ALT), bilirubină totală, creatinină, troponine cardiace, D-dimeri, protrombină (PT), procalcitonină și PCR, în combinație cu valori reduse ale albuminei serice [7, 23, 26].

Importanța testelor de hemostază a fost menționată într-un alt studiu [27], inclusiv în cazul pacienților cu COVID-19, care demonstrează că PT și D-dimerii sunt indicatori semnificativi ai gravității bolii. Această constatare nu numai că indică la importanța testării sistemului de hemostază în cazul bolilor infecțioase grave și/sau sistemice dar, de asemenea, confirmă că coagulopatia de consum (diseminată) poate fi una dintre cele mai grave complicații la pacienții cu COVID-19.

Fiecare dintre acești parametri de prognostic au semnificație clinică și biologică specifică, care, în ansamblu, pot contribui la reflectarea evoluției clinice nefavorabile (Tabelul 1).

Concluzii

Depistarea ARN-ului SARS-CoV-2 prin reacția de polimerizare în lanț, cu detecție în timp real (rRT-PCR) este utilizată pentru a confirma diagnosticul clinic al COVID-19 de către laboratoarele de diagnostic molecular. Utilizând rRT-PCR ca standard de aur, aproape 70% dintre pacienți ar putea fi clasificați ca COVID-19 pozitivi sau negativi în baza parametrilor lor hematologici. Astfel, un simplu test de sânge ar putea contribui la identificarea testelor rRT-PCR fals-pozitive/negative, dar care ar putea fi utilizat în țările în curs de dezvoltare și în acele țări, care suferă de o deficiență de reactivi rRT-PCR și/sau de laboratoare specializate, ca o alternativă mai puțin costisitoare și disponibilă pentru identificarea potențialilor pacienți COVID-19.

Contribuția autorilor

Autorii au contribuit în mod egal la căutarea literaturii științifice, selectarea bibliografiei, citirea și analiza referințelor biografice, la scrierea manuscrisului și la revizuirea lui colegială. Toți autorii au citit și au aprobat versiunea finală a articolului.

Declarația conflictului de interese

Nimic de declarat.

and showing that PT and D-dimer are significant predictors of disease severity. This finding not only supports the pivotal role of hemostasis testing in severe and/or systemic infectious diseases, but also confirms that consumption (disseminated) coagulopathy may be one of the most severe complications of patients with COVID-19.

Each of these prognostic parameters retain a specific clinical and biological significance, which, altogether, can contribute to reflect the evolution toward more unfavorable clinical pictures (Table 1).

Conclusions

The detection of SARS-CoV-2 RNA by real-time reverse transcription–polymerase chain reaction (rRT-PCR) is used to confirm the clinical diagnosis of COVID-19 by molecular diagnostic laboratories. Using rRT-PCR as the gold standard, almost 70% of the patients could be classified as COVID-19 positive or negative on the basis of their hematological parameters. Thus, a simple blood test might help in identifying false-positive/negative rRT-PCR tests but also might be used in developing countries and in those countries suffering from a shortage of rRT-PCR reagents and/or specialized laboratories as an inexpensive and available alternative to identify potential COVID-19 patients.

Authors' contribution

The authors contributed equally to the search for scientific literature, the selection of bibliography, the reading and analysis of biographical references, the writing of the manuscript and its peer review. All authors read and approved the final version of the article.

Declaration of conflicting interests

Nothing to declare.

Referințe / references

1. WHO COVID19. Available from <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>.
2. Chu D., Pan Y., Cheng S., Hui K., Krishnan P., Liu Y., Ng D., Wan C., Yang P. *et al.* Molecular diagnosis of a novel coronavirus (2019-nCoV) causing an outbreak of pneumonia. *Clin. Chem.*, 2020; 66: 549-555.
3. Lippi G., Plebani M. The critical role of laboratory medicine during coronavirus disease 2019 (COVID-19) and other viral outbreaks. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2020. <https://doi.org/10.1515/cclm-2020-0240>.
4. Zhou F., Yu T., Du R. *et al.* Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*, 2020. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30566-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30566-3).
5. Pfefferle S., Reucher S., Norz D., Lutgehetmann M. Evaluation of a quantitative RT-PCR assay for the detection of the emerging coronavirus SARS-CoV-2 using a high throughput system. *Euro Surveill.*, 2020; 25: 1-5.
6. Corman V., Landt O., Kaiser M., Molenkamp R., Meijer A., Chu D., Bleicker T., Brünink S., Schneider J. *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.
7. Liu Y., Yang Y., Zhang C. *et al.* Clinical and biochemical indexes from 2019-nCoV infected patients linked to viral loads and lung injury. *Sci. China Life Sci.*, 2020a; 63: 364-74.
8. WHO. Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases: interim guidance. *WHO/COVID-19/laboratory/2020.5*. Geneva: WHO; 2020. Available from: <https://www.who.int/publications-detail/laboratory-testing-for-2019-novel-coronavirus-in-suspected-human-cases-20200117>.
9. Gao Y., Li T., Han M. *et al.* Diagnostic utility of clinical laboratory data determinations for patients with the severe COVID-19. *J. Med. Virol.*, 2020; 1-6.
10. Lippi G., Plebani M. A modern and pragmatic definition of laboratory medicine. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2020 Feb 18. Epub ahead of print.
11. ECDC. An overview of the rapid test situation for COVID-19 diagnosis in the EU/EEA. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/overview-rapid-test-situation-covid-19-diagnosis-eueea>.
12. Plebani M., Laposata M., Lippi G. A manifesto for the future of laboratory medicine professionals. *Clin. Chim. Acta.* 2019; 489: 49-52.
13. Konrad R., Eberle U., Dangel A., Treis B., Berger A., Bengs K., Fingerle V. *et al.* Rapid establishment of laboratory diagnostics for the novel coronavirus SARS-CoV-2 in Bavaria, Germany, February 2020. *Euro. Surveill.*, 2020; 25. <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.9.2000173>.
14. WHO. Laboratory testing strategy recommendations for COVID-19: Interim guidance [Internet]. *WHO reference number: WHO/2019-nCoV/lab_testing/2020.1*; [cited 2020 Apr 30]. Available from: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/331509/WHO-COVID-19-lab_testing-2020.1-eng.pdf
15. Shirato K., Nao N., Katano H., Takayama I. *et al.* Development of genetic diagnostic methods for novel coronavirus 2019 (nCoV-2019) in Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 2020. <https://doi.org/10.7883/yoken.JJID.2020.061>.
16. Liu R., Han H., Liu F. *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: 172-175.
17. Takayuki I., Shota M., Toshibumi T., Akiko M. *et al.* Highly sensitive detection of SARS-CoV-2 RNA by multiplex rRT-PCR for molecular diagnosis of COVID-19 by clinical laboratories. *Clinica Chimica Acta*, 2020; 507: 139-142.
18. Pan American Health Organization / World Health Organization. Laboratory guidelines for the detection and diagnosis of COVID-19 Virus Infection Washington, DC: PAHO / WHO; 2020. Available from: <https://www.paho.org/en/documents/laboratory-guidelines-detection-and-diagnosis-covid-19-virus-infection>.
19. Yeo C., Kaushal S., Yeo D. Enteric involvement of coronaviruses: is faecal-oral transmission of SARS-CoV-2 possible. *Lancet Gastroenterol. Hepatol.*, 2020; 5: 335-7.
20. Li Z., Yi Y., Luo X., Xiong N., Liu Y., Li S. *et al.* Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis. *J. Med. Virol.*, 2020. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32104917>.
21. Okba N., Muller M., Li W., Wang C., Geurtsvan-Kessel C., Corman V. *et al.* SARS-CoV-2 specific antibody responses in COVID-19 patients. *medRxiv.* 2020; 2020.03.18. 20038059.
22. WHO. Advice on the use of point-of-care immunodiagnostic tests for COVID-19. *WHO reference number: WHO/2019-nCoV/Sci_Brief/POC_immunodiagnostic/2020.1*; [cited 2020 Apr 30]. Available from: <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/advice-on-the-use-of-point-of-care-immunodiagnostic-tests-for-covid-19>.
23. Lippi G., Plebani M. Laboratory abnormalities in patients with COVID-2019 infection. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2020; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32119647>.
24. Fan B., Chong V., Chan S., Lim G., Lim K., Tan G. *et al.* Hematologic parameters in patients with COVID-19 infection. *American Journal of Hematology*, 2020; 95 (6): E131-E134.
25. Henry B. COVID-19, ECMO, and lymphopenia: a word of caution. *Lancet Respir. Med.*, 2020. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7118650/#>.
26. Han H., Yang L., Liu R. *et al.* Prominent changes in blood coagulation of patients with SARS-CoV-2 infection. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2020 (e-pub ahead of print). doi: 10.1515/cclm-2020-0188.
27. Tang N., Li D., Wang X., Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J. Thromb. Haemost.*, 2020; 18 (4): 844-847. doi:10.1111/jth.14768.