



ORIGINAL ARTICLE

Пандемия COVID-19: значение для цитологических лабораторий

The COVID-19 pandemic:
Implications for the cytology laboratory
Stefan E. Pambuccian, MD, MIAC
PII: S2213-2945(20)30045-4
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jasc.2020.03.001>
Reference: JASC 390
To appear in: Journal of the American Society of Cytopathology
Received Date: 23 March 2020
Accepted Date: 23 March 2020
Please cite this article as: Pambuccian SE, The COVID-19 pandemic: Implications for the cytology laboratory, Journal of the American Society of Cytopathology (2020), doi: <https://doi.org/10.1016/j.jasc.2020.03.001>.

АННОТАЦИЯ

Коронавирусная болезнь 2019 (COVID-19) является пандемией, вызванной вирусом SARS-CoV-2. Инфекция передается преимущественно респираторным путем, через крупные капли или микровзвеси носовой слизи/мокроты, и, реже, при контакте с инфицированными поверхностями или предметами. Массовое распространение инфекции и тяжелые клинические проявления, которые она может вызывать, привели к широкому внедрению мер социальной изоляции. Из-за многократного контакта с потенциально инфицированными пациентами и образцами, **медицинский и лабораторный персонал особенно восприимчив к развитию COVID-19**. В этой обзорной статье дается текущая оценка состояния данных о заболевании и его патогенезе, а также о потенциальном присутствии вируса в цитологических образцах. В ней также обсуждаются меры, которые могут предпринять цитологические лаборатории, чтобы функционировать во время пандемии и минимизировать риск заражения персонала, стажеров и патологов. Кроме того, в ней рассматриваются возможные пути продолжения обучения стажеров во время пандемии COVID-19.

На момент написания этой обзорной статьи, от пандемии COVID-19, вызванной новым коронавирусом, уже пострадало более 350 000 жителей планеты на территории 192 стран и погибло более 15 000 человек по всему миру. Количество случаев заболевания, зарегистрированных во всем мире и в США, ежедневно увеличивается тревожными темпами, в том числе, и в результате более массового проведения лабораторного тестирования. Масштабы глобальной катастрофы пандемии, вызванной коронавирусом COVID-19, протекающей, как тяжелое вирусное заболевание, продолжают расти. И цитологическая лаборатория также должна быть готова пред-

ложить пациентам лучшие варианты диагностики, и в то же время максимально защитить своих сотрудников: техников, технологов, цитопатологов, стажеров и студентов.

В последнее время появилась целая серия программ общественного здравоохранения по принятию мер, направленных на уменьшение распространения болезни. Это меры «социального дистанцирования», которые несколько отличаются по регионам и городам, но, как правило, вводятся повсеместно. Эти меры включают в себя: отмену занятий спортом, музыкальных, культурных и даже политических мероприятий, закрываются спортивные залы, школы и

Идея перевода актуальной статьи, готовящейся к публикации в журнале американского общества цитопатологов о COVID-19 и принципах работы цитологической лаборатории в условиях пандемии, принадлежит заведующей отделом цитологии КДП клиники «Исида» (г. Киев) — Т.А. Магась. Ее поддержала инициативная группа российских цитологов: С.В. Кулешова (ответственный редактор), Г.В. Лёшкина (ответственный редактор), Ж.И. Вострикова, И.А. Кузьмичёва, М.Ф. Мамелина, А.И. Носова, П.Г. Протасов. Макет и вёрстка — издательство «ПРАКТИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА» (www.medprint.ru), главный редактор — к.м.н. Д.Д. Проценко.

Информация предназначена для специалистов и распространяется с образовательной целью.

колледжи. Рекомендовано работать дистанционно из дома. Необходимо избегать необоснованных перемещений и дополнительных контактов, путешествий и посещений баров и ресторанов, закусочных и прочих социальных мест, где собираются более 10 человек. Это не является 100%-й гарантией защиты от заражения, но помогает снизить распространение вируса. В 1918–19 гг. во время пандемии «испанки», вызванной вирусом гриппа H1N1, заразилось до трети населения земного шара. Погибло 50 миллионов человек по всему миру [1,2], в том числе 675 000 граждан Соединенных Штатов Америки. Государства в тот период приняли целый ряд ограничительных мер социального воздействия. Принятые меры были похожи на те, что предпринимаются в настоящее время, включая закрытие школ и церквей, запрет массовых собраний, обязательное ношение масок, изоляцию в случае заражения, дезинфекцию и гигиенические меры профилактики [3]. Однако в те годы указанные меры не были приняты одновременно в одинаковом объеме с равной продолжительностью в разных городах. Анализ того периода показал, что в некоторых городах (например, в Сан-Франциско, Сент-Луисе, Милуоки и Канзасе), где мероприятия были проведены заблаговременно, скорость передачи вируса сократилась до 30–50% [3]. В городах, внедривших такие меры раньше других, достижение пиковой смертности наступало значительно позже, показатели общей смертности и пиковой смертности были ниже, чем одноименные показатели в других городах [4]. Продолжительные меры по «социальному дистанцированию» коррелировали со снижением общего числа летальных исходов [4]. Хотя мы до сих пор ничего не знаем о максимально эффективной терапии или профилактической вакцинации в отношении сегодняшней коронавирусной инфекции, да и мир сегодня — не тот, что был 100 лет назад, тем не менее, мы надеемся, что нынешние меры смогут ограничить воздействие COVID-19.

Поскольку эта пандемия вызвана новым вирусом, понятны серьезное беспокойство и страх перед неизвестностью. Мы не знаем, как долго продлится сегодняшняя пандемия, и каков будет ущерб от нее для общества, с точки зрения летальных исходов, психологического, физического и экономического благополучия. Использование математических моделей на основе доступных открытых источников способно предсказать разные сценарии развития пандемии. Худший вариант — миллионы инфицированных пациентов и большое количество летальных исходов. Проблема такого моделирования заключается не только в том, что разные модели дают разные прогнозы, но и в том, что основные предположения о вирусе, на основе которых были разработаны эти модели, далеко не бесспорны. Это особенно верно для двух самых основных характеристик, которые предсказывают распространение и воздействие вируса: его базовое репродуктивное число (R_0) и коэффициент летальности (CFR). Базовое репродуктивное число (R_0) — это количество вторичных случаев заболевания, которые один человек может вызвать в восприимчивой популяции. Значение R_0 обычно

уменьшается во время вспышки инфекции, поскольку восприимчивость населения снижается, и принимаются меры по предотвращению передачи. Значения R_0 выше 1 указывают на склонность к распространению инфекции, в то время как R_0 ниже 1 указывают на то, что инфекция может затихнуть. Другим важным параметром является коэффициент летальности (case fatality rate, CFR), который рассчитывается путем деления количества летальных исходов, вызванных заболеванием, на общее число инфицированных. Для COVID-19 этот показатель также сильно варьирует и зависит от **недостаточного тестирования, занижения сведений о случаях легкого и бессимптомного течения инфекции и концентрации внимания на более тяжелых случаях**. Это может быть причиной, почему CFR намного выше в провинции Ухань — 2,3%, чем в других регионах Китая, где этот показатель составил около 1% [5]. Коэффициент летальности, согласно сообщениям, близок к 2% и соответствует таким в Китае [6], Иране [7] и Италии [8]. Несмотря на то, что CFR колеблется между 0,25% и 3%, его более низкие значения могут быть ближе к истине [9,10]. Предполагаемый риск летального исхода (infection fatality risk, IFR), т. е. риск такого исхода среди всей группы инфицированных (в том числе тех, у кого нет активной формы заболевания) составляет от 0,3% до 0,6%, что сопоставимо с Азиатской пандемией гриппа в 1957–1958 гг. [11]. Тем не менее, другие пандемии гриппа имели значительно отличающиеся показатели летальности. Например, она составила 0,001–0,007% в 2009 г. при эпидемии, обусловленной вирусом гриппа H1N1. А во время пандемии гриппа в 1918 г. колебалась в пределах 0,5–3% [12,13]. Высокий уровень смертности от пандемии гриппа 1918 г. был связан лишь отчасти с патогенностью самого вируса и вызываемого им «цитокинового шторма». Важную роль в этом сыграли условия, в которых протекала пандемия 1918 г. Это был конец Первой мировой войны — с переполненными казармами, нищетой, плохим питанием, отсутствием гигиены, теснотой жилищных условий. Также играли роль недостаточная подготовка населения и административных органов, связанная с инертностью мышления [14], а также низкий уровень медицинской помощи.

Уровень летальности зависит от многих факторов. Он выше среди госпитализированных пациентов (4,3%) [15], у мужчин (4,5% по сравнению с 1,3% у женщин), у пожилых (5,3% у пациентов старше 60 по сравнению с 1,4% и ниже у инфицированных в возрасте до 60) и у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, с сахарным диабетом и с сопутствующими хроническими респираторными заболеваниями [16]. Учитывая тот факт, что общепринятые показатели, такие как число лиц, которых может инфицировать заболевший человек (R_0) и летальность (CFR), скорее всего, переоценены, воздействие пандемии может быть серьезным, но не достигнет уровня, прогнозируемого в наихудших сценариях.

Сегодня у нас еще остается много вопросов об этом вирусе. На некоторые из них мы не получим достоверных ответов в ближайшее время. По крайне мере, пока эпидемия не за-

кончится и не будет проведен анализ данных по всему миру. Однако, пока мы не получим все ответы, мы **не должны напиновать, с одной стороны, или относиться к этому беспечно, с другой**. Мы должны «сохранять спокойствие и продолжать действовать» как цитологическая лаборатория, предназначенная для оказания качественных услуг нашим пациентам в это критическое для здравоохранения время. Также необходимо **максимально обезопасить сотрудников, предупреждая ненужные риски**, которые могут одновременно способствовать распространению вируса.

Несмотря на наше несовершенное понимание инфекции SARS-CoV-2, мы можем обобщить то, что мы знаем из текущей вспышки COVID-19 в Китае и уроков, полученных в связи с другими вспышками тяжелых коронавирусных респираторных заболеваний. К ним относятся тяжелый острый коронавирусный респираторный синдром (SARS-CoV) и ближневосточный респираторный синдром, вызываемый коронавирусом (MERS-CoV). Возбудители SARS-CoV, SARS-CoV-2 и MERS-CoV являются представителями рода бета-коронавирусов. SARS-CoV имеет около 80% гомологичных последовательностей с SARS-CoV-2, а MERS-CoV имеет с таковым лишь около 50% гомологичных последовательностей. Эти биологические особенности, а также различия в источнике инфекции и клеточных рецепторах коронавируса делают вспышку SARS более актуальной для пандемии COVID-19, чем вспышки MERS. Другие коронавирусы человека, включая два альфа-коронавируса (HCoV-229E и HCoV-NL63) и два бета-коронавируса (HCoV-OC43 и HKU1), по-видимому, не связаны с COVID-19, поскольку эти вирусы постоянно циркулируют во всем мире, вызывая легкие респираторные инфекции («простудные заболевания») у взрослых и детей.

Семейство Coronaviridae получило свое название из-за булавовидных белковых шипов на поверхности возбудителей, которые придают вирусам вид «короны» на двумерном изображении, полученном путем трансмиссионной электронной микроскопии. Это довольно крупные (120 нм) положительно заряженные одноцепочечные РНК-вирусы. Их специфический тканевой тропизм, инфекционность и видовой спектр определяются S-белком «короны», который взаимодействует со специфическими клеточными рецепторами. В случае SARS-CoV и SARS-CoV-2 это рецепторы ангиотензин-превращающего фермента 2 (ACE2), расположенные на мерцательном эпителии бронхов, тогда как для MERS-CoV это рецепторы DPP4/CD26, расположенные на немерцательном респираторном эпителии.

Тот факт, что рецептором для SARS-CoV и SARS-CoV-2 служит ACE2, белок с широким видовым распределением, может объяснить наблюдавшуюся межвидовую передачу [17], так как вирусы SARS-CoV и SARS-CoV-2, по-видимому, имеют зоонозное происхождение. Эти вирусы попали к нам, скорее всего, от летучих мышей — млекопитающих, обладающих большим разнообразием коронавирусов. Передача могла произойти через циветт (род хищных млекопитающих), панголинов (разновидность ящеров, плацентарных

млекопитающих) или других животных. Это подтверждается тем фактом, что SARS-CoV-2 обладает 96%-й генетической общностью с коронавирусом летучей мыши [18] и 99%-й гомологичной последовательностью с коронавирусом панголинов [6]. MERS-CoV, вероятно, также происходит от летучих мышей [17], но промежуточными хозяевами служат верблюды-дромадеры. Передача MERS-CoV от верблюда человеку может происходить контактным путем, а также при употреблении непастеризованного верблюжьего молока и использовании верблюжьей мочи в медицинских целях [19]. Наряду с этим, также имеет место передача вируса от человека к человеку, что было зафиксировано у работников здравоохранения [20]. MERS имеет гораздо более высокий уровень летальности — около 35% (среди 2500 пациентов с клиническими проявлениями инфекции) [21,22]. Все три заболевания (SARS, MERS и COVID-19) имеют схожие, но не идентичные клинические проявления, охватывающие диапазон от легкой степени с гриппоподобными симптомами до тяжелой пневмонии и острого респираторного дистресс-синдрома. COVID-19 чаще манифестирует симптомами поражения нижних дыхательных путей, включая стеснение в груди, сухой кашель и одышку, и реже — с желудочно-кишечными симптомами, такими как тошнота, рвота и понос. Хотя учету обычно подвергаются лишь пациенты, которые прошли тестирование на вирус (поскольку имели клинические проявления и обратились к врачу), инфекция, скорее всего, гораздо более распространена, если вспомнить о бессимптомном или субклиническом течении инфекции. Недавнее исследование показало, что 0,2% здоровых взрослых доноров крови в Саудовской Аравии имеют специфические антитела к MERS-CoV, что позволяет предположить наличие большого количества бессимптомных или легких форм, которые могут выступать в качестве нераспознанного источника инфекции [22].

Такое же большое количество бессимптомных или с минимальными проявлениями инфекций, вероятно, произошло во время эпидемии атипичной пневмонии. Хотя точная частота таких случаев остается неизвестной, метаанализ данных SARS показал общий уровень серопозитивности 0,1% среди населения в целом и 0,23% среди работников здравоохранения [23]. Поэтому весьма вероятно, что когда после стихания эпидемии будет проведено серологическое тестирование популяций, подвергшихся воздействию SARS-CoV-2, мы увидим, что бессимптомные или субклинические случаи COVID-19 встречаются гораздо чаще, чем клинические и что именно они могли сыграть важную роль в распространении заболевания.

Тяжелый острый респираторный синдром (SARS) оказался новым заболеванием, которое впервые возникло в Южном Китае и, по-видимому, исчезло в 2003 году. Но до этого успев распространиться на 29 стран, в результате чего пострадали 8098 и погибло 774 человека. По сравнению с SARS, COVID-19, по-видимому, гораздо более широко распространен, но менее смертоносен. Коэффициент леталь-

ности (CFR) при SARS был намного выше, чем у COVID-19, составляя около 10%, по сравнению с 2,3% у COVID-19 [16]. Контагиозность SARS была относительно низкой, с базовым репродуктивным числом (R_0) около 3, то есть один случай вызывал три вторичных случая заболевания в восприимчивой популяции. Однако на этот показатель в значительной степени влияла гораздо более высокая инфицированность в условиях больницы ($R_0 = 4$). Вне учреждений здравоохранения R_0 SARS было намного ниже и, возможно, даже было меньше 1 после введения мер по контролю распространения инфекции [24].

Патогенез COVID-19

Наиболее распространенный путь заражения SARS-CoV-2 (вызывающего COVID-19) — от человека к человеку, чаще при близком и длительном контакте (15 минут и более) между инфицированными и неинфицированными людьми. Путь передачи — контактный или воздушно-капельный. После контакта с инфицированным человеком и, что менее вероятно, с контаминированной поверхностью или предметами, средний инкубационный период COVID-19 составляет около 5 суток, но может достигать 24 суток. Однако у 95% пациентов клинические проявления возникали в течение 12,5 суток. Первые клинические проявления — лихорадка (90–96% случаев [15]) и симптомы поражения дыхательных путей различной степени тяжести, включая кашель (70% случаев), одышку (45%), миалгию и утомляемость (40%) [15]. В 10% случаев или менее отмечались фарингит, головная боль или понос [25]. При использовании методов визуализации обнаруживают двустороннюю пневмонию (97% случаев) [15]. По сравнению с другими, пневмония при COVID-19 чаще имеет периферическое распределение, затемнения по типу “матового стекла” или мелкосетчатого затемнения. Реже встречаются центральное поражение, плевральный выпот или лимфаденопатия [26]. Результаты лабораторных исследований неспецифичны, но обычно включают лейкоцитоз с лимфопенией, умеренное повышение печеночных трансаминаз, мышечных ферментов, миоглобина и ЛДГ и повышение маркеров острой фазы воспаления. Увеличение концентрации прокальцитонина, тяжелая лимфопения и повышение уровня D-димеров являются признаками, которые сопутствуют более тяжелому течению заболевания. В тяжелых случаях заболевание может прогрессировать до дыхательной, сердечно-сосудистой и почечной недостаточности, и, в конечном итоге, смерти от полиорганной недостаточности.

Метаанализ 50 466 случаев госпитализированных пациентов показал, что у 18% наблюдалось тяжелое течение и у 15% развивался острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) [15]. Среди случаев, зарегистрированных ВОЗ, 3% были критическими, 15% тяжелыми и 82% легкими [27]. Такое распределение показывает, что инфекция COVID-19 в целом протекает менее тяжело по сравнению с SARS, при котором у

большинства пациентов заболевание было в средней или тяжелой степени, а 20–30% нуждались в интенсивной терапии, включая ИВЛ. Во время вспышки COVID-19 в Китае продолжительность выделения вируса составляла от 8 до 37 дней. Выжившие имели среднюю продолжительность выделения вируса 20 дней, но в случаях с летальным исходом выделение вируса продолжалось до самой смерти пациента [28].

Из-за тропности к клеткам и ткани дыхательных путей, наблюдавшегося на ранней стадии инфекции, вирус можно выделить из образцов слюны, носоглотки, нижних дыхательных путей. Тем не менее, в запущенных или тяжелых случаях вирусную РНК можно обнаружить в плазме у 15% пациентов, а также в кале, что повышает вероятность фекального пути передачи. Поскольку рецептор к SARS-CoV-2 (ACE2), также экспрессируется на кардиомиоцитах и клетках эндотелия сосудов, вирус может, по крайней мере теоретически, оказывать прямое воздействие на миокард и эндотелий. Этим могут объясняться отдельные случаи молниеносного миокардита [29,30] и обнаружение в строме миокарда мононуклеарного воспалительного инфильтрата. Однако, исследований сердечной мышцы на предмет наличия в ней вируса до настоящего времени не проводились. Поражение эндотелия также может играть роль в патогенезе тяжелых осложнений заболевания, включая диффузное альвеолярное повреждение (ДАП) и диссеминированное внутрисосудистое свертывание.

На основании доступных на сегодняшний день ограниченных данных можно сказать, что патоморфология COVID-19 схожа с SARS и MERS [31,32], при которых в тяжелых и смертельных случаях наблюдается повреждение легких с различными стадиями процессов экскудации и организации [32]. Такие случаи включают острую фибринозную и карнифицирующую пневмонию и диффузное альвеолярное повреждение, характеризующееся образованием гиалиновых мембран, интерстициальными лимфоцитарными инфильтратами и десквамацией пневмоцитов. В легочной ткани методом гибридизации *in situ* и/или иммуногистохимическом окрашивании выявляется вирус в цитоплазме эпителия трахеи (более 50% клеток мерцательного эпителия), бронхов и бронхиол, а также в пневмоцитах, как интактных, так и дегенерированных, десквамированных и образующих синцитиальные гигантские клетки [33]. Вирус также присутствовал в лимфоцитах, расположенных в инфильтратах межальвеолярных перегородок и в кровеносных сосудах. Вирус SARS также можно обнаружить в лимфоцитах и реже в моноцитах. При аутопсии вирус обнаруживали в эпителиальных клетках слизистой оболочки кишечника и дистальных извитых канальцах почек, а также в нейронах головного мозга [33].

Тяжелые поражения легких могут осложняться присоединением бактериальной (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*), грибковой (*Aspergillus* spp. и *Mucor* spp.), а также вирусной (цитомегаловирус) инфекции [32, 34]. В ряде указанных случаев, особенно сопрово-

ждающихся бронхопневмонией, в альвеолах обнаруживают большое количество нейтрофилов. В селезенке и лимфоузлах отмечается истощение лимфоидной ткани. В печени — мелкокапельная жировая дистрофия гепатоцитов. В слизистой ЖКТ и почках заметных патологических изменений не выявляется [35].

Несколько статей, документирующих случаи COVID-19, показывают, что среди патоморфологических изменений преобладают изменения ткани легкого в виде отека и выраженной белковой экссудации, полнокровия сосудов и наличием в просвете альвеол масс фибринолиза с различной степенью организации (фибриновые пробки), что соответствует острому повреждению легких. Кроме того, может иметь место реактивная гиперплазия пневмоцитов II типа с наличием атипичных увеличенных клеток с крупными ядрами, амфофильтной зернистой цитоплазмой, однако четких внутриядерных или цитоплазматических вирусных включений выявлено не было [36,37]. Воспалительный инфильтрат является преимущественно лимфоцитарным без значительного участия нейтрофилов [38]. Иммуногистохимическое окрашивание на белок NRP3 SARS-CoV-2 выявило его наличие в эпителии альвеол, включая поврежденные десквамированные клетки, присутствующие в альвеолярных пространствах [39], но экспрессия вирусного белка в эндотелиальных клетках была минимальной. Это обнаружение сходно с тем, которое наблюдается в MERS, где иммуногистохимическое исследование с четырьмя антителами против MERS-CoV выявило наличие вируса в отдельных окрашенных цитокератином пневмоцитах и синцитиальных клетках, но не в CD68-положительных макрофагах [40].

Атипичная пневмония CoV-2 и цитологическая лаборатория

Нашу реакцию на пандемию COVID-19 можно рассматривать с различных позиций: общества, больницы, лаборатории и отдельного индивида. На уровне общества местные, государственные и федеральные органы власти ввели запрет на перемещения; правительства, а также различные организации ограничили или запретили многолюдные мероприятия, включая спортивные и культурные (музыка, театр, кино) и даже политические митинги. Это меры в рамках «стратегии снижения рисков», направленной на ограничение передачи вируса и предотвращение его быстрого распространения, а также на «выравнивание эпидемической кривой», что должно предотвратить перегрузку системы здравоохранения.

На уровне больниц и других медицинских учреждений принимаются решения об изменении приоритетов в работе и сокращении числа амбулаторных посещений и госпитализаций в стационары для проведения плановых вмешательств или операций. С одной стороны, эти меры направлены на снижение риска инфицирования пациентов, проходящих

ежегодные профилактические медицинские осмотры и плановые процедуры, а с другой стороны — на увеличение вместимости стационаров больниц [41]. Вышеупомянутые ограничительные меры, несомненно, затронут и цитологическую лабораторию, которая, в частности, станет получать меньше образцов для исследования. Это даст возможность пересмотреть кадровую расстановку и где-то изменить рабочий график, включая посменную организацию работы и разобщение во времени перерывов для приема пищи разными сотрудниками, чтобы избежать излишнего контакта между ними. В регламентирующем документе из Сингапура говорится, что лабораторный персонал должен дважды в день измерять свою температуру, чтобы обеспечить раннее выявление COVID-19. Применительно к обстановке, сложившейся сейчас в США, неясно, является ли эта мера и особенно вытекающие из нее вирусное тестирование, изоляция и карантин, действенными и целесообразными.

Не подлежит сомнению, что любой человек, имеющий дыхательные нарушения, которые могут быть вызваны COVID-19, не должен приходить на работу. Вместо этого ему следует проконсультироваться со своим лечащим врачом или иным медицинским работником. Планы действий в чрезвычайных ситуациях должны быть составлены с учетом того, что значительная часть персонала лаборатории либо заболела, либо находится на карантине. Необходимо своевременно информировать своих коллег о любых изменениях или задержках в сроках выполнения исследований, чтобы не перегружать лабораторию запросами о результатах тестов.

Для пациента с подтвержденным COVID-19 значение цитологического исследования ограничено. По аналогии с ролью цитологических исследований при ОРВИ, оно заключается, главным образом, в исключении сопутствующих легочных инфекций путем исследования мокроты и других биологических образцов, полученных из дыхательных путей. Цитологические особенности, наблюдаемые в мокроте, неспецифичны и отражают картину основного патофизиологического процесса в легких. Они заключаются в повышенном количестве макрофагов, образующих рыхлые скопления. Макрофаги могут также иметь цитоплазматические изменения, включая наличие пенистой цитоплазмы или крупных цитоплазматических вакуолей, а также изменения ядер, такие как многоядерность и появление «эффекта матового стекла» [42]. Поскольку жидкость после бронхальвеолярного лаважа (БАЛ) иногда направляется на вирусологическое исследование [43-45] (результаты которого могут оказаться положительными при отрицательных результатах тестирования соскобов из носоглотки и ротоглотки) [46], ее аликовта также может быть отправлена в цитологическую лабораторию.

До сих пор о цитологических исследованиях образцов БАЛ у пациентов с COVID-19 не сообщалось. При этом у пациентов с MERS при цитологическом исследовании жидкости БАЛ обнаруживается большое количество нейтрофилов и макрофагов [47]. Исходя из сходных гистопатологических признаков SARS, MERS и COVID-19, в цитологических об-

разцах БАЛ можно предполагать наличие плоскоклеточной метаплазии и репаративных изменений с наличием укрупненных клеток и ядер, зернистым хроматином и заметными ядрышками [34]. Эти признаки в сочетании с присутствующими здесь многоядерными клетками и атипичными альвеолярными пневмоцитами II типа могут представлять собой потенциальную диагностическую ловушку.

Лабораторные исследования (см. табл. 1)

Учитывая необычайно быстрое распространение заболевания и темпы изменения информации о нем, а также указаний по различным аспектам борьбы с ним, можно дать только общие рекомендации для цитологической лаборатории. Эти рекомендации аналогичны тем, которые даны для общеклинических и гистологических лабораторий [48-50], но также включают ситуации, в которых персонал цитологической лаборатории участвует либо в лечебно-диагностических мероприятиях у пациентов, потенциально инфицированных SARS-CoV-2, во время процедур ТИАБ или ROSE (быстрой оценки на месте), выполнения аспирационной или трепанобиопсии, либо при приготовлении препаратов из свежих образцов от таких пациентов (*прим. ред.:* материал бронхоскопии, в частности). Поскольку ситуация постоянно меняется, могут меняться и методические рекомендации. Поэтому крайне важно быть в курсе высококачественной информации и рекомендаций с веб-сайтов, таких как <https://www.coronavirus.gov> или <https://www.nih.gov/coronavirus>. По мере развития пандемии, полагаем, что некоторые общие принципы могут быть применимы.

1. Соблюдение общих мер предосторожности

Хотя и важно знать, какие цитологические образцы могут содержать жизнеспособный и, следовательно, передаваемый вирус, стоит помнить об использовании универсальных мер предосторожности при работе с любым цитологическим образцом. Из опыта с SARS мы можем предположить, что SARS-CoV-2 может присутствовать не только в образцах крови и дыхательных путей, но и в образцах кала и мочи. SARS-CoV-2 может присутствовать в образцах от пациентов без доказанного заражения COVID-19, у недиагностированных пациентов, у пациентов в проромальном периоде, у пациентов с бессимптомными или с минимальными проявлениями инфекции и у выздоравливающих, которые все еще могут выделять вирус. Исходя из имеющихся данных, вполне вероятно, что многие (если не большинство) случаи заражений происходят при контакте с людьми, у которых либо нет признаков заболевания, либо COVID-19 не был диагностирован. Кроме того, как и для большинства образцов, клинический

диагноз может быть не указан в направлении. По всем этим причинам все свежие образцы следует считать потенциально заразными.

2. Особые меры предосторожности

Следует соблюдать при работе с образцами, подготовка которых включает в себя этапы, которые могут привести к образованию аэрозоля. Все технические процедуры должны выполняться таким образом, чтобы минимизировать образование аэрозолей и капель. Подготовительные этапы, которые могут привести к образованию аэрозолей или капель, включают в себя **удаление аспираторов из иглы или шприца, нанесение аспирированного материала на стекла и возможную сушку на воздухе или тепловую сушку мазков**, в которых могут участвовать патологии или цитотехнологии во время быстрой оценки на месте (ROSE).

Высушивание на воздухе или тепловую сушку мазков лучше выполнять в шкафах биобезопасности II класса [51]. Следует избегать встряхивания и перемешивания биоматериала при приготовлении мазков вручную или использования ручных вентиляторов для ускорения сушки мазков. ROSE является важным этапом для обеспечения адекватности образцов. Однако во время эпидемии вируса с респираторной передачей, такого как SARS-CoV-2, ее следует выполнять на усмотрение клиницистов с учетом того, является ли ROSE абсолютно необходимым этапом для успешного исследования.

Если ROSE проводится, она должна выполняться с использованием соответствующих средств индивидуальной защиты (СИЗ), включая перчатки, медицинский халат и защитные очки или защитные маски для лица, для защиты глаз и дыхательных путей с использованием правильно подобранным проверенного фильтрующего респиратора (N-95 или более высокого уровня) или электроприводного воздухоочистительного респиратора (PAPR). Ожидаемая нехватка защитных масок и фильтрующих респираторов [52] делает использование этой процедуры очень избирательным, поскольку крайне важно, чтобы мы зарезервировали указанные средства защиты для необходимых контактов с пациентами и процедур. По тем же причинам может быть более безопасным приостановить деятельность патологоанатомической (цитологической) службы по выполнению ТИАБ на период пандемии и рассматривать возможность выполнения ТИАБ только в каждом конкретном случае, взвесив риски и преимущества процедуры для каждого пациента в отдельности.

Выполняемые цитотехнологами (лаборантами) процедуры приготовления цитологических препаратов, которые могут привести к образованию аэрозоля/капель, включают в себя **открывание контейнеров и удаление пробок, смешивание, энергичное встряхивание или перемешивание, пипетирование, аликвотирование, разбавление**

или центрифугирование жидкостей и удаление супернатанта. Все эти процедуры должны выполняться в шкафах биобезопасности II класса, обеспечивая защиту пользователя, образца и окружающей среды. Для выполнения этих процедур также рекомендуется использовать СИЗ, включая перчатки, халат и защитную маску. Для центрифугирования рекомендуются брызговики, герметичные центрифужные роторы или чашки для образцов; роторы и чашки следует загружать и выгружать в шкафах биобезопасности II класса [51].

3. Вирус инактивируется формалином и гамма-излучением.

Таким образом, в соответствии с Клиническими рекомендациями Центра по контролю и профилактике заболеваний США (CDC) [51], деятельности цитологической лаборатории, такой как морфологическое исследование и обработка тканей, фиксированных формалином или инактивированных иным способом (препараты клеточных блоков), а также стандартные методы окраски и микроскопическое исследование мазков, присваивается 2-й уровень биобезопасности (BSL-2). Это типичный уровень биобезопасности для всех патологоанатомических лабораторий и назначается при работе с веществами, связанными с болезнями человека, которые представляют умеренную опасность для здоровья, или при работе с любым образцом, полученным от человека, включая кровь, биологические жидкости или ткани, в которых теоретически возможно присутствие инфекционного возбудителя.

Большинство цитологических образцов фиксируют в растворах формалина или спирта с содержанием спирта более 70%, которые считаются эффективными для уничтожения этого вируса. Не известно, адекватно ли инактивируют вирус фиксаторы, использующие гораздо более слабые спиртовые растворы, такие как PreservCyt® и Cytolyt® (Hologic, Inc. Marlborough, MA) и SurePath® (Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ). Поэтому при обращении и интерпретации цитологических препаратов, обработанных этими фиксаторами, могут быть рекомендованы дополнительные меры предосторожности, такие как использование перчаток. Некоторые патологоанатомы (цитопатологи) могут предпочесть использование перчаток для всех микропрепараторов, так как предметных стекол (пока они не достигнут стола специалиста) касаются руки нескольких людей, и стекла может быть не так просто обеззаразить.

Хотя погружение препаратов в 95% этиловый спирт (или аналогичный дезинфицирующий раствор) на пару минут приведет к инактивации вируса, но также приведет к удалению меток («точек») на препаратах. Другие поверхностные дезинфицирующие средства, особенно те, которые имеют короткое время контакта, как упомянуто ниже, можно использовать для обработки цитологических предметных стекол.

4. Общие лабораторные меры безопасности,

особенно процедуры, которые являются основой для хороших микробиологических практик и процедур, должны соблюдаться в соответствии с рекомендациями ВОЗ [53] и Центра по контролю и профилактике заболеваний США [51, 54]. Это включает в себя обучение всего персонала использованию защитного оборудования, ограничение доступа в лабораторию, частое мытье рук и ношение средств индивидуальной защиты (СИЗ). Мытье рук должно выполняться тщательно с мылом и водой в течение не менее 20 секунд. В качестве альтернативы можно использовать дезинфицирующее средство для рук на спиртовой основе, содержащее **не менее 62% спирта**, если мыло и вода недоступны. Использование СИЗ включает в себя ношение перчаток для всех процедур, ношение закрытого лабораторного халата, защиты для глаз и, при необходимости, ношение маски. Следует избегать прикосновения к слизистым оболочкам глаз, носа и рта.

Кроме того, поскольку вирус может оставаться жизнеспособным на поверхностях (особенно на пластиковых и поверхностях из нержавеющей стали) в течение до 72 часов [55], рекомендуется дезинфицировать все рабочие поверхности несколько раз в день, используя одобренные EPA дезинфицирующие растворы, влажные салфетки или спреи. В дополнение к рабочим поверхностям, это включает в себя дезактивацию компьютерных клавиатур, телефонов и часто используемых элементов микроскопов. В число химических веществ входят, среди прочего, этианол (минимальная концентрация 62–71%), 0,5% перекись водорода, четвертичный аммоний, гипохлорит натрия (0,1%) и различные растворы кислот в различных концентрациях. Эти вещества следует использовать в соответствии с рекомендациями производителя по дезинфекции в отношении коронавируса человека с учетом рекомендуемого времени контакта (т.е. временем, когда поверхность остается влажной), которое может составлять от 30 секунд до 10 минут [56].

Образовательная деятельность в высших учебных заведениях (см. табл. 2)

Высшие учебные заведения должны временно отменить или перенести очные мероприятия (лекции, конференции, кружки и пр.) с участием более 10 человек. Студенты и специалисты могут обучаться, используя онлайн-лекции и оцифрованный учебный материал. Приветствуется самостоятельное освоение дисциплин. Связь с обучаемым может осуществляться через различные цифровые платформы, подобные Zoom (Zoom Video Communications, Inc. San Jose, CA), учитывая возможные неполадки в трансляции.

Если существующие правила и положения позволяют, патологоанатомы могут записать часть случаев на виртуальные слайды (WSI), используя одобренные FDA (Управление по контролю за качеством продуктов и лекарств, США) сканеры. В предварительной оценке и подготовке материала допускается участие специалистов с небольшим профессиональным стажем.

Очевидно, что многие из нас не имеют достаточного опыта в проведении онлайн-обучения с использованием видеотехнологий. В эти беспрецедентные времена необходимо приложить максимальные усилия для организации данного формата обучения, поддерживая контакт с коллегами, используя альтернативные технологии, выбирая наиболее результативные стратегии. Организация обратной связи с обучаемым необходима не только для оценки эффективности освоения материала, но и для создания максимально комфорtnого образовательного процесса.

Коммуникация и взаимодействие

Важно учитывать тот факт, что эта эпидемия неизбежно вызывает стресс, страх и беспокойство среди всего персонала лаборатории, стажеров и патологов [57, 58]. Психологический дискомфорт может по-разному восприниматься разными людьми и связан с особенностями личностных характеристик, такими как возраст, пол, состояние здоровья, исходный уровень тревоги и восприятие риска. Более серьезные психологические расстройства могут проявляться с усилением симптомов посттравматического стресса [59]. Психологические расстройства могут быть связаны с повышенной рабочей нагрузкой из-за невыхода на работу коллег, отсутствия общения с друзьями и коллегами, отсутствия развлекательных мероприятий из-за закрытия тренажерных залов, ресторанов, кинотеатров и других развлекательных заведений, а также из-за повышенного напряжения в семье и в воспитании детей вследствие того, что дети находятся дома в результате закрытия школ и детских садов. Также это может быть связано с наличием инфекции у друзей или членов семьи. Все работники здравоохранения могут также испытывать беспокойство и тревогу из-за боязни заразиться, страха передачи заболевания членам семьи или финансовых трат, связанных с ограничениями, введенными на этот период. В течение этого периода руководители лабораторий и патологоанатомы должны быть готовы предоставить обновленную информацию о самых последних данных о заболеваемости и правдивую информацию о всех аспектах работы персонала. Хотя такая информация также может быть доступна из различных источников, включая CDC, веб-сайты медицинских

центров. Для ослабления страха и беспокойства важно иметь четкие каналы связи, передавать информацию лично и отвечать на любые вопросы, которые могут возникнуть. В настящее время крайне важно обеспечить эмоциональную поддержку и возможность обсудить любые личные и семейные проблемы. Очень важно на доступном уровне сообщать о риске персоналу лаборатории и стажерам, не слишком их пугая и признавая, что многое еще неизвестно об этой инфекции. Не менее важно как можно скорее сообщать о любых изменениях в приказах или распоряжениях [60].

Если очные встречи невозможны из-за принятых мер социального дистанцирования, можно использовать веб-конференции с использованием различных платформ. Это может включать в себя текстовые SMS-сообщения, электронные письма, с использованием как общедоступной, так и личной электронной почты, если необходимо, обсуждения в небольших группах на веб-сайтах, в дополнение к онлайн-обсуждению с помощью таких приложений, как Skype или Microsoft Teams (Microsoft Redmond, WA), Face Time Apple Inc, Купертино, Калифорния), GoTo Meeting (Log MeIn, Inc., Бостон, Массачусетс), Zoom (Zoom Video Communications, Inc., Сан-Хосе, Калифорния), Webex (CiscoWebex, Milpitas, CA) и др. Крайне важно обеспечить эффективные и дублирующие каналы связи, в том числе простые технологичные решения для обеспечения доступа медицинских работников с разными уровнями технологических навыков и умений. Помните, что могут возникнуть трудности в получении доступа к внутренней сети организации и электронной почте из дома. Доступ к высокоскоростному Интернету также может быть затруднен. При использовании любого из этих средств связи, которые не являются безопасными или не совместимыми с HIPAA, используйте те же базовые принципы, регулирующие использование социальных сетей [61, 62], то есть не используйте какую-либо конкретную информацию о пациенте или данные о количестве или степени тяжести состояния пациентов, которых лечат в медицинских учреждениях. Наконец, в дополнение к этим мерам, направленным на предотвращение заражения на рабочем месте, всем патологам, стажерам, цитотехнологам и персоналу лаборатории следует также обладать здравым смыслом для предотвращения заражения вне лаборатории. Это может включать, в дополнение к мерам личной гигиены (мытье рук, избегать касания глаз, носа и рта), «социальное дистанцирование». Стоит избегать тесного контакта с другими людьми, и, если возможно, избегать общественного транспорта, не находиться в толпе и в скоплениях более 10 человек, уклоняться от контакта с людьми, которые могут быть больны (например, люди с лихорадкой и симптомами поражения дыхательных путей).

Таблица 1. Лабораторные исследования**ЧТО ДЕЛАТЬ:**

- Пересмотрите процедуры, выполняемые в подразделении, или исключите этапы, которые могут привести к образованию аэрозоля или образованию капель
- Пересмотрите показания для быстрой оценки (материала) на месте (ROSE) и пересмотрите ее необходимость после обсуждения с клиницистами; устранит ненужное воздействие
- Создайте цепочку управления (делегирование полномочий), план действий в аварийных ситуациях и план действий в непредвиденных обстоятельствах
- Пересматривайте ситуацию еженедельно или раз в две недели и вносите необходимые изменения
- Внедрите меры по сокращению скопления людей: пересмотрите кадровые потребности и скорректируйте их с учетом рабочей нагрузки; рассмотрите вопрос о работе посменно, чтобы уменьшить скученность
- Придерживайтесь методических рекомендаций CDC/B03 для рутинной обработки образцов в соответствии с руководящими принципами для 2-го уровня биобезопасности
- Обрабатывайте все образцы, имеющие в своей технологической последовательности этапы, которые могут привести к образованию аэрозолей или капель (включая нанесение мазков, окрашивание и сушку воздухом или их термофиксацию), в шкафу биологической безопасности II класса (BSC)
- Соблюдайте любые дополнительные или обновленные рекомендации CDC
- Будьте в курсе последних событий, связанных с пандемией COVID-19, и информируйте персонал о любых новых научных знаниях, устранит неправильные представления
- Будьте в курсе новейших внутрибольничных тенденций и процедур и информируйте персонал о любых изменениях
- Поддерживайте открытую коммуникацию с коллегами и сотрудниками и создавайте виртуальное сообщество посредством ежедневных «чатов» с участием людей, работающих дома

ЧТО ДЕЛАТЬ НЕЛЬЗЯ:

- Не доставляйте ненужных хлопот и не провоцируйте панику, но будьте откровенны в отношении рисков
- Не распространяйте и не поддерживайте слухи или информацию, поступающую не из авторитетных источников (CDC, FDA, WHO, рецензируемые публикации)

Таблица 2. Образовательная деятельность: что можно и что нельзя? Рекомендации для обучения студентов и специалистов

- Отмените мероприятия с участием более 10 человек (лекции, конференции, кружки и пр.)
- Ограничьте практические занятия и лекции с использованием микроскопа с мультидискуссионной приставкой (multiheaded microscope)
- Отдайте предпочтение последовательному просмотру готовых слайдов с изображениями, а не параллельному сканированию и оценке препаратов
- Используйте в обучении онлайн-лекции и оцифрованный методический материал
- Убедитесь, что все обучаемые имеют доступ к интерактивным образовательным платформам, включая тех, кто находится дома
- Поощряйте самостоятельное обучение
- Делитесь с обучаемыми полезными рекомендациями и идеями
- Сформулируйте краткие обзоры для необычных и сложных случаев
- Предлагайте небольшие задания и тесты
- Подумайте о создании дискуссионных групп (чатов) для поддержания чувства общности в процессе обучения
- Поощряйте вопросы и будьте доступны для предоставления ответов
- Осуществляйте регулярную и содержательную обратную связь, будьте максимально конкретны
- Попробуйте использовать неформальную обратную связь
- Используйте качественную технику и платформы для обучения
- Следуйте современным тенденциям в онлайн-обучении и перенимайте успешный опыт коллег в данной сфере
- Выделите отдельное время для ответа на вопросы слушателей
- Убедитесь в удовлетворительном психическом и физическом состоянии слушателей
- Не отказывайтесь от преподавания в этот период
- Учитывайте обучающихся, работающих на дому
- Не используйте в учебном процессе личных данных пациентов, за исключением сертифицированных защищенных интерактивных платформ, совместимых с HIPAA

ЛИТЕРАТУРА

- Johnson NP, Mueller J. Updating the accounts: global mortality of the 1918-1920 «Spanish» influenza pandemic. *Bull Hist Med.* 2002;76: 105-115.
- Taubenberger JK, Morens DM. 1918 Influenza: the mother of all pandemics. *Emerg Infect Dis.* 2006;12: 15-22.
- Bootsma MC, Ferguson NM. The effect of public health measures on the 1918 influenza pandemic in U.S. cities. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104: 7588-7593.
- Markel H, Lipman HB, Navarro JA, et al. Nonpharmaceutical interventions implemented by US cities during the 1918-1919 influenza pandemic. *Jama.* 2007;298: 644-654.
- Mizumoto K, Chowell G. Estimating Risk for Death from 2019 Novel Coronavirus Disease, China, January-February 2020. *Emerg Infect Dis.* 2020;26.
- Yang Y, Peng F, Wang R, et al. The deadly coronaviruses: The 2003 SARS pandemic and the 2020 novel coronavirus epidemic in China. *J Autoimmun.* 2020; 102434.
- Team C-NIRS. COVID-19, Australia: Epidemiology Report 6 (Reporting week ending 19:00 AEDT 7 March 2020). *Commun Dis Intell.* (2018). 2020;44.
- Porcheddu R, Serra C, Kelvin D, Kelvin N, Rubino S. Similarity in Case Fatality Rates (CFR) of COVID-19/SARS-CoV-2 in Italy and China. *J Infect Dev Ctries.* 2020;14: 125-128.
- Wilson N, Kvalsvig A, Barnard LT, Baker MG. Case-fatality risk estimates for COVID-19 calculated by using a lag time for fatality. *Emerg Infect Dis.* 2020;26.
- Battegay M, Kuehl R, Tschudin-Sutter S, Hirsch HH, Widmer AF, Neher RA. 2019-novel Coronavirus (2019-nCoV): estimating the case fatality rate - a word of caution. *Swiss Med Wkly.* 2020;150: w20203.
- Nishiura H, Kobayashi T, Yang Y, et al. The rate of underascertainment of novel coronavirus (2019-ncov) infection: Estimation using Japanese passengers data on evacuation flights. *J Clin Med.* 2020;9.
- Taubenberger JK, Morens DM. The 1918 influenza pandemic and its legacy. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2019.
- Bradley BT, Bryan A. Emerging respiratory infections: The infectious disease pathology of SARS, MERS, pandemic influenza, and Legionella. *Semin Diagn Pathol.* 2019;36: 152-159.
- Dicke T. Waiting for the flu: cognitive inertia and the Spanish influenza pandemic of 1918-19. *J Hist Med Allied Sci.* 2015;70: 195-217.
- Sun P, Qie S, Liu Z, Ren J, Li K, Xi J. Clinical characteristics of 50 466 hospitalized patients with 2019-nCoV infection. *J Med Virol.* 2020.
- Wu Z, McGoogan JM. 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.
- Prompetchara E, Ketloy C, Palaga T. Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: Lessons learned from SARS and MERS epidemic. *Asian Pac J Allergy Immunol.* 2020.
- Zhou P, Yang XL, Wang XG, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature.* 2020.
- Sayed AS, Malek SS, Abushahba MF. Seroprevalence of Middle East Respiratory Syndrome Corona Virus in dromedaries and their traders in upper Egypt. *J Infect Dev Ctries.* 2020;14: 191-198.
- Assiri A, McGeer A, Perl TM, et al. Hospital outbreak of Middle East respiratory syndromecoronavirus. *N Engl J Med.* 2013;369: 407-416.
- Abbad A, Perera RA, Anga L, et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) neutralising antibodies in a high-risk human population, Morocco, November 2017 to January 2018. *Euro Surveill.* 2019;24.
- Degnah AA, Al-Amri SS, Hassan AM, et al. Seroprevalence of MERS-CoV in healthy adults in western Saudi Arabia, 2011-2016. *J Infect Public Health.* 2020.
- Leung GM, Lim WW, Ho LM, et al. Seroprevalence of IgG antibodies to SARS-coronavirus in asymptomatic or subclinical population groups. *Epidemiol Infect.* 2006;134: 211-221.
- Low DE. Why SARS will not return: a polemic. *Cmaj.* 2004;170: 68-69.
- Rodriguez-Morales AJ, Cardona-Ospina JA, Gutierrez-Ocampo E, et al. Clinical, laboratory and imaging features of COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Travel Med Infect Dis.* 2020; 101623.
- Bai HX, Hsieh B, Xiong Z, et al. Performance of radiologists in differentiating COVID-19 from viral pneumonia on chest CT. *Radiology.* 2020; 200823.
- Vetter P, Eckerle I, Kaiser L. Covid-19: a puzzle with many missing pieces. *BMJ.* 2020;368: m627.
- 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.
- Ruan Q, Yang K, Wang W, Jiang L, Song J. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. *Intensive Care Med.* 2020.
- Zheng YY, Ma YT, Zhang JY, Xie X. COVID-19 and the cardiovascular system. *Nat Rev Cardiol.* 2020.
- Alsaad KO, Hajer AH, Al Balwi M, et al. Histopathology of Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) infection - clinicopathological and ultrastructural study. *Histopathology.* 2018;72: 516-524.
- Hwang DM, Chamberlain DW, Poutanen SM, Low DE, Asa SL, Butany J. Pulmonary pathology of severe acute respiratory syndrome in Toronto. *Mod Pathol.* 2005;18: 1-10.
- Gu J, Gong E, Zhang B, et al. Multiple organ infection and the pathogenesis of SARS. *J Exp Med.* 2005;202: 415-424.
- Franks TJ, Chong PY, Chui P, et al. Lung pathology of severe acute respiratory syndrome (SARS): a study of 8 autopsy cases from Singapore. *Hum Pathol.* 2003;34: 743-748.
- Hsiao CH, Wu MZ, Hsieh SW, Chien LC, Hwang KC, Su IJ. Clinicopathology of severe acute respiratory syndrome: an autopsy case report. *J Formos Med Assoc.* 2004;103: 787-792.
- Xu Z, Shi L, Wang Y, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med.* 2020.
- Yao XH, Li TY, He ZC, et al. [A pathological report of three COVID-19 cases by minimally invasive autopsies]. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi.* 2020;49: E009.
- Tian S, Hu W, Niu L, Liu H, Xu H, Xiao SY. Pulmonary pathology of early phase 2019 novel coronavirus (COVID-19) pneumonia in two patients with lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2020.

39. Zhang H, Zhou P, Wei Y, et al. Histopathologic changes and SARS-CoV-2 immunostaining in the lung of a patient with COVID-19. *Ann Intern Med.* 2020.
40. Ng DL, Al Hosani F, Keating MK, et al. Clinicopathologic, immunohistochemical, and ultrastructural findings of a fatal case of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus infection in the United Arab Emirates, April 2014. *Am J Pathol.* 2016;186: 652-658.
41. Centers for Disease Control and Prevention. Interim guidance for healthcare facilities: Preparing for community transmission of COVID-19 in the United States. Available from URL: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/healthcare-facilities/guidance-hcf.html>.
42. Tse GM, Hui PK, Ma TK, et al. Sputum cytology of patients with severe acute respiratory syndrome (SARS). *J Clin Pathol.* 2004;57: 256-259.
43. Yu F, Du L, Ojcius DM, Pan C, Jiang S. Measures for diagnosing and treating infections by a novel coronavirus responsible for a pneumonia outbreak originating in Wuhan, China. *Microbes Infect.* 2020.
44. Wang R, Zhang X, Irwin DM, Shen Y. Emergence of SARS-like coronavirus poses new challenge in China. *J Infect.* 2020;80: 350-371.
45. Reusken C, Broberg EK, Haagmans B, et al. Laboratory readiness and response for novel coronavirus (2019-nCoV) in expert laboratories in 30 EU/EEA countries, January 2020. *Euro Surveill.* 2020;25.
46. Winichakoon P, Chaiwarith R, Liwsrisakun C, et al. Negative nasopharyngeal and oropharyngeal swab does not rule out COVID-19. *J Clin Microbiol.* 2020.
47. Zhou J, Chu H, Li C, et al. Active replication of Middle East respiratory syndrome coronavirus and aberrant induction of inflammatory cytokines and chemokines in human macrophages: implications for pathogenesis. *J Infect Dis.* 2014;209: 1331-1342.
48. Iwen PC, Stiles KL, Pentella MA. Safety considerations in the laboratory testing of specimens suspected or known to contain the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Am J Clin Pathol.* 2020.
49. Henwood AF. Coronavirus disinfection in histopathology. *J Histotechnol.* 2020; 1-3.
50. Tan SS, Yan B, Saw S, et al. Practical laboratory considerations amidst the COVID-19 outbreak: early experience from Singapore. *J Clin Pathol.* 2020.
51. Centers for Disease Control and Prevention. Laboratory Biosafety Guidelines for Handling and Processing Specimens As- sociated with SARS-CoV. Available from URL: <https://www.cdc.gov/sars/guidance/f-lab/app5.html>.
52. Centers for Disease Control and Prevention. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). Facemasks Available from URL: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/ppestrategy/face-masks.html>.
53. World Health Organization. Laboratory biosafety guidance related to the novel coronavirus (2019-nCoV). Interim guidance. Available from URL: https://www.who.int/docs/default-source/coronavirus/laboratory-biosafety-novel-coronavirus-version-1-1.pdf?sfvrsn=912a9847_2.
54. U.S. Department of Health and Human Services. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. 5th Edition (HHS Publication No. (CDC) 21-1112). Available from URL: <https://www.cdc.gov/labs/pdf/CDC-BiosafetyMicrobiological-BiomedicalLaboratories-2009-P.PDF>.
55. van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, et al. Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1. *N Engl J Med.* 2020.
56. United States Environmental Protection Agency. List N: Disinfectants for use against SARS-CoV-2. Available from URL: <https://www.epa.gov/pesticide-registration/list-n-disinfectants-useagainst-sars-cov-2>.
57. Alsubaie S, Hani Temsah M, Al-Eyadhy AA, et al. Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus epidemic impact on healthcare workers' risk perceptions, work and personal lives. *J Infect Dev Ctries.* 2019;13: 920-926.
58. Bukhari EE, Temsah MH, Aleyadhy AA, et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) outbreak perceptions of risk and stress evaluation in nurses. *J Infect Dev Ctries.* 2016;10: 845-850.
59. Styra R, Hawryluck L, Robinson S, Kasapinovic S, Fones C, Gold WL. Impact on health care workers employed in high-risk areas during the Toronto SARS outbreak. *J Psychosom Res.* 2008;64: 177-183.
60. Rambaldini G, Wilson K, Rath D, et al. The impact of severe acute respiratory syndrome on medical house staff: a qualitative study. *J Gen Intern Med.* 2005;20: 381-385.
61. Crane GM, Gardner JM. Pathology image-sharing on social media: Recommendations for protecting privacy while motivating education. *AMA J Ethics.* 2016;18: 817-825.
62. Gardner JM, Allen TC. Keep calm and tweet on: Legal and ethical considerations for pathologists using social media. *Arch Pathol Lab Med.* 2019;143: 75-80.