



РОЛЬ ИФА ПРИ ОБОСНОВАНИИ КЛИНИЧЕСКОГО ДИАГНОЗА COVID 19

Осланов А. А., Кадиров Ж. Ф., Самибаева У. Х.

Самаркандский государственный медицинский институт

✓ Резюме

Цель этого исследования - показать, что возникновение случаев повторного заражения вирусом среди тех, кто перенес COVID-19 или получил высокоэффективную вакцину, является признаком того, что организм может иметь вторичный иммунный ответ. Авторы попытались доказать, что обнаружение коронавирусов методом ПЦР в биологических образцах, взятых из горла или носа, не может быть достаточным основанием для клинической диагностики заболевания. Было проведено сравнительный анализ методом ИФА 32 пациентов с клинико-лабораторными подтвержденными анализами на COVID19 ПЦР(+), которые получали стационарное лечение в 2020-2021 году и 25 пациентов с COVID 19 ПЦР(+) получающие стационарное и амбулаторное лечение в данный момент. Чтобы поставить полноценный и клинически обоснованный диагноз Covid 19 необходимо определить антитела против коронавирусов классов M и G в динамике. Несмотря на высокую специфичность и чувствительность (95%) обычно проводимого ПЦР-исследования авторами было показано важность, что биологические образцы для ПЦР получены из слизистой верхнего отдела респираторного тракта, является недостаточным критерием для обоснование диагноза.

Ключевые слова: COVID 19, первичный и вторичный иммунный ответ, иммуноглобулин M, иммуноглобулин G, ПЦР, ИФА.

COVID-19 КЛИНИК ТАШХИСИНИ АСОСЛАШДА ИФА РОЛИ

Осланов А.А., Кадиров Ж.Ф., Самибаева У.Х.

Самарканд Давлат тиббиёт институти

✓ Резюме

Маъқур тадқиқотнинг мақсади COVID-19 ни бошдан кечирганлар ёки юқори самарали вакцина олганлар орасида вирус билан қайта зарарланиш ҳолатларини учраб туриши организмни иккиламчи иммун жавоб реакцияси бўлиши мумкинлигини ўрганишдан иборатдир. Муаллифлар ҳалқумдан ёки бурундан олинган биологик намуналарда ПЗР ёрдамида короновирларни аниқланиши касалликка клиник диагноз қўйиши учун етарлича асос бўла олмайди деб хулоса чиқаришига олиб келишини исботлашга ҳаракат қилишган. 2020-2021-йилларда COVID-19 билан касалланиб махсус шифохоналарда ва амбулатор шароитларда даволанган, бироқ ҳозирги кунда COVID-19 га ПЗР мусбат чиққан 21 нафар кишилар қон зардобидаги иммуноглобулин M ва G синфлари титрларини, ҳозирда COVID-19 билан амбулатор ва махсус шифохоналарда даволанаётган 17 нафар беморлар қон зардобидаги иммуноглобулин M ва G синфлари титрларини ИФТ усулида динамикада қийслаб ўрганишган. Тўлақонли етарли даражада асосланган COVID-19 деб клиник диагноз қўйишида қон зардобидаги короновирларга қарши ишлаб чиқарилган антитаначаларни M ва G синфлари ИФА усулда динамикада аниқлаш кераклиги қайд этилган. Мунтазам равишда қўлланилиб келинаётган ПЗР таҳлилининг спецификлиги ва сезгилигига (95%) юқори бўлишига қарамасдан, олинган биологик намуналар нафас йўллари шиллигидан олинишини ҳисобга олиши кераклигини билдиришган.

Калит сўзлар: COVID 19, бирламчи ва иккиламчи иммун жавоб, иммуноглобулин M, иммуноглобулин G, ПЗР, ИФТ.



THE ROLE OF ELISA IN SUBSTANTIATION OF THE CLINICAL DIAGNOSIS OF COVID 19

Oslanov A.A., Kadirov J.F., Samibaeva U.Kh.

Samarkand State Medical Institute

✓ *Resume*

The purpose of this study is to show that the occurrence of cases of re-infection with the virus among those who have had COVID-19 or received a highly effective vaccine is a sign that the body may have a secondary immune response. The authors tried to prove that the detection of coronaviruses by PCR in biological samples taken from the throat or nose may not be a sufficient basis for the clinical diagnosis of the disease. A comparative analysis was carried out by ELISA of 21 patients with clinical and laboratory confirmed COVID-9 tests, who received inpatient treatment in 2020-2021 and 17 patients with COVID-19, also with confirmed clinical and laboratory tests, who received inpatient treatment at the moment. To put a complete and a clinically justified diagnosis of Covid 19, it is necessary to determine the dynamics of antibodies against coronaviruses of classes M and G. Despite the high specificity and sensitivity (95%) of the usual PCR study, the authors showed the importance that biological samples for PCR were obtained from the mucosa of the upper respiratory tract, which is an insufficient criterion for substantiating the diagnosis.

Keywords: COVID-19, primary and secondary immune response, immunoglobulin M, immunoglobulin G, PCR, ELISA.

Актуальность

Вспышка пневмонии неизвестной этиологии в городе Ухань в Китае, официальные сведения о которой были впервые опубликованы 31 декабря 2019 г. китайским офисом Всемирной организации здравоохранения, привлекла внимание не только узких специалистов, но и всей мировой общественности и 30 января 2020 г. была признана чрезвычайной ситуацией в здравоохранении, имеющей международное значение. Первые случаи заболевания были зарегистрированы 12 декабря 2019 г. в Китае, а 31 января 2020 г. было сообщено о случаях выявления данной инфекции на территории России у двух граждан Китая. Возбудитель инфекции — новый коронавирус SARS-CoV-2, который ранее не выявлялся, был идентифицирован китайскими исследователями 7 января 2020 г. [1] Драматически изменил уклад жизни во многих странах, угрожая дальнейшими экономическими потрясениями [8]. В настоящей публикации кратко представлены известные данные об иммунном ответе на SARS-CoV 2, а также проанализированы возможности и ограничения серологического тестирования на антивирусные антитела, которые следует учитывать при планировании популяционных исследований и интерпретации их результатов. Через год после начала пандемии в августе 2021 года систематический обзор показал, что среди инфицированных Covid 19 повторно заразились 3 случая на 1000 человек. Некоторые авторы сообщают, что у людей, выздоровевших от COVID-19, антитела, нейтрализующие вирус, сохраняются в течение длительного времени и незначительно снижаются через 6 месяцев. Другие исследования показали, что у 40% из 9500 домохозяйств, прошедших тестирование в течение девяти месяцев, были обнаружены противовирусные антитела [11]. В исследовании с участием 12 541 медицинского работника при исследовании антител класса IgG к шиповидному белку постинфекционный иммунитет был значительно снижен в течение 6-месячного периода. После контакта макроорганизма с антигеном иммунный ответ организма развивается в стадии первичного и вторичного иммунного ответа, которые имеют свои особенности. Первичный иммунный ответ организма начинается при первом контакте макроорганизма с антигеном, а после латентного периода IgM (5-7 дней), затем IgG (появляется на 14-й день, достигает высоких титров на 30-й день, и титры сохраняются пожизненно). Первичный иммунный ответ начинается при стимуляции антигеном и стихает через 2-3 недели, обычно сохранив в памяти лимфоцитов.

В развитии первичного иммунного ответа организма имеются четыре стадии;

-Первая стадия длится 3-4 дня и специфические антитела в сыворотке не определяются.

В этот латентный период В-клетки последовательно принимающие антиген, который происходит между шестью-восемью последовательными клонами плазматических клеток,

секретирующие антитела, в течение некоторого периода времени, пока антиген не будет стимулирован;

На втором этапе в сыворотке хозяина вырабатываются сывороточные М (IgM) антитела и через 10-14 дней после начала высвобождения антигена вырабатываются первичные антитела класса G (IgG);

- на третьем этапе наблюдается постоянное определение титров классов IgM и IgG;
- Четвертая стадия обычно длительна (1 месяц), и и титр антител постепенно снижается.

Вторичный иммунный ответ организма развивается, когда иммунная система повторно сталкивается с антигеном. Клетки-клоны Т- и В-лимфоцитов отвечают за «память» информации об антигене, находящемся в движении (фаза G1), находясь в мембране антигенспецифических рецепторов (В-клеточные, IgG, IgA и IgE, Т-клетки). При вторичном иммунном ответе организма синтез антител и Т-клеток происходит быстро (через 1-3 дня), а титр антител быстро нарастает (период полураспада 15 дней). За короткое время синтезируется IgG, его титр во много раз превышает первичный иммунный ответ, повышается его близость к антигену (аффинность). Некоторые антитела связываются с Fc-рецепторами лейкоцитов.

В норме иммунный ответ постепенно замедляется после достижения своего пика, а его снижение провоцируется элиминацией антигена или резким уменьшением его количества и связыванием его с дендритными клетками, а также действием специфических супрессорных механизмов. Вторичный иммунный ответ макроорганизма отличается от первичного иммунного ответа следующими особенностями;

- его активация даже при контакте с малыми дозами антигена;
- быстрое начало антителообразования (индуктивная фаза сокращается до 5-6 часов); продукция большого количества антител (как минимум в 3 раза больше, чем при первичном иммунном ответе);
- раннее достижение высокого уровня синтеза иммуноглобулинов (3-5 сутки);
- высокая аффинность;
- производство высокоавидных антител;
- классы IgG изначально делятся на свободные высокоаффинные антитела (при первичном иммунном ответе IgG не высокоаффинный);
- синтезированные антитела остаются в организме длительное время.

Антигенная рестимуляция также может приводить к развитию иммунопатологий, таких как аллергия и аутоиммунные реакции в организме. Подсчитано, что клетки, пролиферирующие с антигеном, подвержены влиянию клетки памяти, которая сильно реагирует на перестройку антигена. Эти В-клетки семейства В-лимфоцитов обладают потенциалом перехода от синтеза IgM к синтезу IgG, что приводит к тому, что эти клетки начинают продуцировать IgG при вторичном иммунном ответе. Иммунологическая память на разные антигены может быть разной: кратковременной (день, неделя), долговременной (мысли, годы) и пожизненной.

Цель исследования. Изучить состояние вторичного иммунного ответа у больных перенесших COVID-19 или получивших высокоэффективную вакцину.

Материал и методы

Было проведено сравнительный анализ методом ИФА 32 пациентов с клинико-лабораторными подтвержденными анализами на COVID - 19, которые получали стационарное лечение в 2020-2021 году и 25 пациентов с COVID - 19, также с подтвержденными клинико-лабораторными анализами получавшие стационарное лечение в данный момент. Титры иммуноглобулинов М и G классов в сыворотке крови сравнивали в динамике методом ИФА. Возраст обследованных больных колебался от 5 до 65 лет, а их средний возраст составил (36,5 +- 10) лет. Наблюдаемые пациенты были разделены на 2 группы. У пациентов в каждой клинической группе наблюдали титры Ig M и G, и дифференцированно наблюдали на первой, второй и третьей неделе.

В I группе 32 пациента с клинико-лабораторными подтвержденными анализами на COVID - 19 ПЦР(+), которые получали стационарное лечение в 2020-2021 году. II контрольная группа включала 25 пациентов с COVID-19 ПЦР(+) анализами, которые в настоящее время проходят лечение в специализированных стационарах и амбулаторно.

В I и II клинической группе наблюдали динамику повышения сывороточных иммуноглобулинов классов М и G на 7, 14 и 21 сутки методом ИФА. (1)

1- таблица

Клиническая группа	Имуноглобулины класса М			Имуноглобулины класса G		
	1-неделя	2-неделя	3-неделя	1-неделя	2-неделя	3-неделя
I				2,856	2,856	2,856
II	1,874	5,873	5,243		1,986	3,657

В I клинической группе у 28 (87,5 %) пациентов на 7-е сутки при проведении исследования в сыворотки крови антитела класса М не обнаружены. У 4 (12,5%) пациентов антитела класса М были в очень низких концентрациях. Отмечено, что иммуноглобулин класса G у всех пациентов I клинической группы выявлялся в высоких титрах на 5-7 сутки, и сохранялось на 14 и 21 сутки.

У пациентов II клинической группе у 18 (78,2%) был диагностирован сывороточный иммуноглобулин класса М на 5-7 сутки в низких титрах, но на 14 сутки отмечается повышение титр антител класса М, которые сохраняются высокими и на 21 сутки. У 5 (20%) больного иммуноглобулины класса G не определялись на 7-е сутки, и выявлялись в низких титрах на 14-е сутки, и отмечалось повышение их титра на 21-е сутки. У 2 (8%) больных из II группы антитела класса М не выявлены. У 1 пациентов наблюдали, что антитела появлялись на 21-е сутки.

Выводы

1. Выявлено, что у больных из I группе с ПЦР (+) анализами, иммуноглобулины класса G выявляется через 5-7 сутки, и не обнаруживаются иммуноглобулины класса М, говорит о том, что в организме этих пациентов выработался вторичный иммунный ответ

2. Во II контрольной группе у 18 (78,2%) был диагностирован сывороточный иммуноглобулин класса М на 5-7 сутки в низких титрах, но на 14 сутки отмечается повышение титр антител класса М, которые сохраняются высокими и на 21 сутки позволили сделать вывод о том, что у этих больных в организме выработался первичный иммунный ответ.

Рекомендации. В случаях, при повторном исследовании положительного результат анализа ПЦР на COVID – 19 у людей, им рекомендуется определить реакцию первичного или вторичного иммунного ответа против коронавирусов путем проверки методом ИФА в динамике классов М и G антител, вырабатываемых против коронавирусов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Романов Б.К. Коронавирусная инфекция COVID-2019. Безопасность и риск фармакотерапии. 2020;8(1):3–8. <https://doi.org/10.30895/2312-7821-2020-8-1-3-8>
2. 10 национальная временная декларация Министерства здравоохранения Республики Узбекистан по диагностике и лечению Covid-19 Ташкент 2022
3. COVID - 19 Всемирная организация здравоохранения (Общая информация о COVID - 19.).
4. Ланселот Марк Пинто, Вирал Нанда, Айша Сунавала, Камилла Родригес. Повторное заражение COVID - 19: обзорный обзор (англ.) // Медицинский журнал, Вооруженные силы Индии.- 2021.- Июль(т.77).ISSN0377-1237).
5. Сахара Сотудех Горбани, Нилуфар Тахерпур, Сахара Баят, Али Гаджари, Париса Мохсени. Эпидемиологические характеристики случаев повторного заражения, рецидива и повторной госпитализации в связи с COVID-19: систематический обзор и мета-анализ (англ.) // Журнал медицинской вирусологии.- 2022.-январь (т. 94, iss. 1).-С.44-53.-ISSN 1096-9071.
6. Дженнифер М. Сан, Хосе Матеус, Ю. Като, Кэтрин М. Хасты, Эстер Дон Ю. Иммунологическая память к SARS-CoV-2 оценивалась в течение 8 месяцев после заражения (англ.) // Наука.-2021.-6 января.-ISSN 1095-9203 0036-8075, 1095-9203.
7. Обновления исследований COVID: Пожилые люди подвергаются более высокому риску заражения COVID дважды (англ.). Портфолио Nature (19 марта 2021 года.
8. Oblokulov A.R., Niyozov G.E. Clinical and epidemiological characteristics of patients with COVID-19 (2020) //International Journal of Pharmaceutical Research, 12 (4), pp. 3749-3752.
9. F. Coperchini, L. Chiovato, L. Croce, F. Magri, M. Rotondi The Cytokine storm in COVID-19: An overview of the involvement of the chemokine/chemokine- receptor system.
10. D. Yang, Y. Xing, X. Song, Y. Qian The impact of lung microbiota dysbiosis on inflammation //Immunology, 159 (2) (2020), pp. 156-166.
11. Oblokulov A.R., Husenova Z.Z., Ergashev M.M. (2021). Procalcitonin as an indicator of antibacterial therapy in covid-19. //Annals of the Romanian Society for Cell Biology, 5220-5224.

Поступила 09.02.2022