



LABORATORY CHANGES IN COVID-19

Saidov F. A.

Department of Hematology and Clinical Laboratory

Diagnostics Bukhara State Medical Institute,

Bukhara, Uzbekistan

ANNOTATION

Despite the current active development of methods for specific laboratory diagnosis of a new coronavirus infection, there are many difficulties in identifying asymptomatic carriers of SARS-CoV-2. The ongoing COVID-19 pandemic forces many scientists around the world to fight to prevent and address its dire consequences and complications. Given the high variability of COVID-19 and the different ability of mutated coronaviruses to affect human immunity and cause disruption of the organs and systems of the body, it is necessary to determine the level of laboratory parameters of blood serum, which are closely related to the assessment of the development of a secondary bacterial infection, as well as the nature of the course, severity and prognosis in patients with COVID-19

Keywords: SARS-CoV 2, COVID-19, PCR analysis, CT, antiviral antibodies

ЛАБОРАТОРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЕ ПРИ COVID-19

Саидов Ф. А.

Кафедра гематологии и клиническая лабораторная диагностика

Бухарского государственного медицинского института,

Бухара, Узбекистан

АННОТАЦИЯ

Несмотря на активное развитие в настоящее время методов специфической лабораторной диагностики новой коронавирусной инфекции остаётся немало сложностей для выявления бессимптомных носителей SARS-CoV-2. Продолжающаяся пандемия COVID-19 заставляет многих ученых во всем мире бороться за предотвращение и устранение ее тяжелых последствий и осложнений. Учитывая высокую изменчивость COVID-19 и различную способность мутированных коронавирусов воздействовать на иммунитет человека и вызывать нарушения работы органов и систем организма, необходимо определение уровня лабораторных показателей сыворотки крови, которые имеют тесную взаимосвязь с оценкой развития вторичной



бактериальной инфекции, а также характером течения, тяжестью и прогнозом у больных COVID-19

Ключевые слова: SARS-CoV-2, COVID-19, ПЦР-анализ, КТ, противовирусные антитела

COVID-19 DA LABORATOR O'ZGARISHLAR

Saidov F.A.

Gematologiya va klinik laboratoriya diagnostikasi bo'limi

Buxoro davlat tibbiyot instituti, Buxoro, O'zbekiston

ANNOTATSIYA

Hozirgi vaqtda yangi koronavirus infektsiyasining maxsus laboratoriya diagnostikasi usullarining faol rivojlanishiga qaramay, SARS-CoV-2 asemptomatik tashuvchilarni aniqlashda ko'plab qiyinchiliklar mavjud. Davom etayotgan COVID-19 pandemiyasi butun dunyo bo'ylab ko'plab olimlarni uning dahshatli oqibatlari va asoratlarning oldini olish va bartaraf etish uchun kurashishga majbur qilmoqda. COVID-19 ning yuqori o'zgaruvchanligini va mutatsiyaga uchragan koronaviruslarning inson immunitetiga ta'sir qilish va tananing a'zolari va tizimlarining buzilishiga olib keladigan turli xil qobiliyatini hisobga olgan holda, qon zardobining laboratoriya ko'rsatkichlari darajasini aniqlash kerak, bu ikkilamchi bakterial infektsiyaning rivojlanishini baholash, shuningdek, COVID-19 bilan kasallangan bemorlarda kurs, zo'ravonlik va prognozning tabiati bilan chambarchas bog'liq.

Kalit so'zlar: SARS-CoV 2, COVID-19, PCR tahlili, КТ, antvirus antitelalar

Коронавирусная инфекция (COVID-19) — острое инфекционное заболевание, вызываемое вирусом SARS-CoV-2 и характеризующееся активацией системы гемостаза. В результате этого могут развиваться тяжелые состояния, т.е. коагулопатии. Остается неясным, является ли COVID-19 непосредственной причиной этих состояний или они возникают при развитии инфекционного процесса. Частота бессимптомных и клинически очевидных тромботических тромбоэмболических осложнений при COVID-19 остается неясной. Такое положение во многом связано с трудностями диагностики. Однако, по некоторым данным, частота венозных и артериальных тромбозов у пациентов с COVID-19 значительно выше. При этом особенности течения заболевания



вызвали интерес с точки зрения поиска и изучения его вызывающих факторов и вызвали много дискуссий [1,4,5].

В конце 2019 г. человечество столкнулось с новым представителем семейства Coronaviridae – SARS-CoV-2 (суб-род Sarbecovirus, род Betacoronavirus) [4], который, как и SARS-CoV, наиболее близкородственен к вирусам летучих мышей (88% сходства нуклеотидных последовательностей), но при этом обладает меньшей степенью сходства с SARS-CoV – 79% [5–7]. Появление данного вируса привело к тяжелым последствиям для человечества, вызвав пандемию тяжелого респираторного заболевания COVID-19, которая охватила все страны и континенты, унесла и продолжает уносить сотни тысяч человеческих жизней. В ходе эффективного противостояния этой беспрецедентной биологической угрозе мировое медицинское сообщество стремится разработать различные стратегии лечения и профилактики COVID-19, успех реализации которых напрямую зависит от эффективности применяемых подходов, методов и технологий лабораторной диагностики инфекции. Ключевым компонентом постановки диагноза и мониторинга течения COVID-19 являются лабораторные методы диагностики [2,7,9]. При этом должны использоваться надежные тесты для выявления активных случаев инфицирования с различной выраженностью клинических симптомов, оценки иммунного ответа и контроля излеченности, а также диагностики и дифференциальной диагностики характерных сопутствующих состояний и осложнений. В связи с этим, лабораторная диагностика при COVID-19 является комплексной и включает в себя специфические тесты, направленные на выявление собственно вируса и иммунного ответа на его инвазию, маркеры, используемые для дифференциальной диагностики вирусной и бактериальной инфекции, а также общеклинические исследования, позволяющие проводить мониторинг воспалительной реакции, органной дисфункции, состояния свертывающей системы крови и др. В случае бактериальной ко-инфекции важное значение имеют методы микробиологической диагностики [3,6,8]. Также существует возможность получения при постановке ПЦР ложноположительных ответов. Несмотря на уменьшение рисков ДНК (РНК)-контаминации при выполнении ПЦР в реальном времени, по сравнению с электрофорезным форматом учета результатов, эта проблема сохраняет свою значимость и требует высокого уровня организации лабораторных исследований, особенно при их значительных объемах. При этом следует иметь в виду, что положительные ответы ПЦР не означают присутствие в образце живого вируса, так как метод



выявляет только фрагменты РНК — маркеры SARS-CoV-2. Вопросы точности лабораторного исследования неразрывно связаны с особенностями выполнения преаналитического и аналитического этапов диагностики. Можно выделить следующие факторы, во многом определяющие точность диагностического анализа, которые необходимо учитывать при планировании и выполнении преаналитического этапа работ [10,12,16].

Основным методом является ОТ-ПЦР в режиме реального времени. Материалом для исследования служат объединенные назофарингеальный и орофарингеальный мазки, помещенные в 1 пробирку с транспортной средой. При отрицательном результате и в более поздние сроки взятия материала для исследования лучше использовать образцы мокроты или бронхоальвеолярный лаваж у пациентов с тяжелым течением болезни. Отсутствие положительного результата в ОТ-ПЦР на фоне типичных клинических признаков новой коронавирусной инфекции не позволяет достоверно исключить этиологическую роль коронавируса SARS CoV-2, и в этом случае целесообразны методы серодиагностики. При осуществлении серодиагностических исследований необходимо применять самые чувствительные и специфичные диагностические средства, к которым относятся в первую очередь тесты на суммарные (общие) противовирусные антитела (IgM/IgG/IgA), а также IgG (с 8–14 дня после клинических проявлений) [11,13,17]. Раздельное определение IgM и IgG считается менее оправданным, так как результативность обнаружения суммарных антител к SARS-CoV-2 превышает таковую при выявлении отдельных классов против-вирусных иммуноглобулинов [20]. Обнаружение изолированных IgM у пациентов характеризуется более низкой чувствительностью [19], а также может приводить к ложноположительным результатам [21] в связи с их лабильностью и относительно более низкой специфичностью по сравнению с другими классами противовирусных антител. Экспресс-тесты могут иметь низкую чувствительность, являются скрининговыми и не рекомендуются для этиологической лабораторной диагностики COVID-19 [8].

Гуморальный иммунный ответ при COVID-19 формируется по универсальному пути и заключается в последовательном синтезе IgM, появляющихся на 5–7 день, достигающих пика к 14 дню заболевания и уходящих из циркуляции в течение последующих двух недель, IgA со схожей кинетикой и IgG, которые начинают определяться со 2–3 недели заболевания и циркулируют неопределенно долго, предположительно обеспечивая приобретенный иммунитет к данному заболеванию. Для определения наличия и уровня



антител используются тест-системы, основанные на иммунохроматографическом, иммунохемилюминисцентном и иммуноферментном методах [6]. Наиболее простым является качественный иммунохроматографический метод, реализуемый в виде тест-полосок, позволяющих в течение 10–15 мин. выявить наличие или отсутствие антител в цельной крови (венозной или капиллярной), сыворотке или плазме крови. В настоящее время в нашей стране зарегистрирован ряд тест-систем, использующих данный метод. Все эти системы построены по универсальному принципу с использованием меченных коллоидным золотом специфических антител к соответствующим иммуноглобулинам и различаются по виду определяемых антител (только IgG, суммарные антитела, IgM и IgG отдельно), по комплектации, удобству использования, а также легкости считывания получаемого результата (наглядности) [14,20]. Тест системы, использующие иммунохроматографический метод, характеризуются быстротой получения результата, обладают высокой специфичностью при удовлетворительной чувствительности, не требуют высокой квалификации применяющего их персонала, не предъявляют особых требований к условиям хранения и могут быть реализованы повсеместно в целях первичного скрининга, являясь истинными тестами «point of care» [6,15]. Относительным недостатком является невозможность получения количественного результата, позволяющего оценивать динамику изменения уровня иммуноглобулинов. Интерес к широкому применению серологических тестов возрастает, но до сих пор остается много вопросов и неопределенность в отношении степени и продолжительности иммунитета, вызванного инфекцией SARS-CoV-2, частоты ложноположительных и ложноотрицательных результатов теста. По мнению ВОЗ лабораторные тесты, которые выявляют антитела к SARS-CoV-2 у людей, нуждаются в дальнейшей валидации для определения их точности и надежности [14, 16].

Происходит практически одновременно (аналогичная особенность сероконверсии ранее была показана для коронавируса SARS-CoV) или последовательно, с небольшим, в 2–3 дня, интервалом [17]. Причем у части пациентов сначала обнаруживаются IgM, у других – IgG, а спустя 17–23 дня они выявляются у 100%. В течение 3 недель с момента появления клинических симптомов наблюдается постепенное количественное нарастание IgM и Ig G. После 3 недель имеет место снижение титров IgM, тогда как IgG остаются высокими. С учетом этих особенностей максимальную диагностическую чувствительность обеспечивает выявление в крови суммарных антител [18].



Параллельно с изучением иммунного ответа на инфекцию проводились исследования, направленные на изучение кинетики выделения вируса в течение инфекционного процесса [19]. Установлено, что сероконверсия IgM и IgG, происходящая практически синхронно, не связана с прекращением выделения вируса: у большинства пациентов, в крови которых присутствуют IgM и IgG к коронавирусу SARS CoV-2, в респираторном тракте обнаруживается РНК данного возбудителя.

В первых научных публикациях о течении COVID-19 практически сразу была отмечена беспрецедентная распространенность осложнений, вызванных нарушением системы гемостаза. Тромботические осложнения (ТО) и развитие коагулопатии потребления (ДВС) часто сопутствовали тяжелому течению заболевания, а также являлись причиной смерти пациентов. Так, по данным ряда исследований у пациентов ОРВИ даже на фоне тромбопрофилактики частота ТО составляла от 23% до 69% [11,12], при этом 71% пациентов, у которых развился ДВС, умерли. Необходимо отметить, что в более поздних публикациях такая высокая частота коагулопатий более не описывалась, что, возможно, связано с началом рутинного использования гепаринов для коррекции гиперкоагуляционных состояний. По данным метаанализа показатели гемостаза у госпитализированных больных с COVID-19 преимущественно демонстрируют умеренную тромбоцитопению, повышение уровня D-димера, пролонгацию протромбинового времени и повышение уровня фибриногена. Статистически значимые различия между выжившими и умершими пациентами наблюдались в уровнях D-димера (≈ 3 раза) и продуктах деградации фибрина (≈ 2 раза), а также в значимой пролонгации протромбинового времени (на 14%). Изменения различных звеньев системы гемостаза при COVID-19 носят разнонаправленный характер, в связи с чем диагностическая и прогностическая значимость отдельно взятых тестов гемостаза может быть неочевидной и противоречивой. Принятие клинических решений на основании изменения отдельных параметров может приводить к неверному выбору терапии. Так, например, при усугублении течения заболевания, а также при наступлении коагулопатии потребления, уровень фибриногена понижается, также как и уровень антитромбина III, который не измеряется рутинно [1,3,9]. Эти изменения влияют на систему гемостаза по-разному, поэтому определяя один параметр без другого можно прийти к ложным выводам. Именно поэтому многофакторные изменения системы гемостаза, имеющие место на фоне течения коронавирусной инфекции, особенно при развитии критических состояний, наиболее эффективно



оценивать с помощью глобальных тестов, которые показывают результирующее состояние гемостаза больного с учетом всех факторов, включая влияние проводимой терапии. Так, показано, что у пациентов с COVID-19 и острой дыхательной недостаточностью по сравнению с контрольной группой здоровых добровольцев регистрируется гиперкоагуляция по параметрам тромбоэластометрии/-графии, что может говорить о склонности этой группы пациентов к развитию ТО- ПЦР [20].

Данные научных публикаций позволяют достаточно полно охарактеризовать показатели диагностической точности ПЦР-анализа при выявлении вируса SARS-CoV-2 и факторы, оказывающие на них влияние. Это сроки забора материала, с максимальной чувствительностью теста на 5–6 день после появления первых симптомов, тяжесть течения болезни, коррелирующая с продолжительностью детекции маркеров вируса, вид исследуемого материала — большая вероятность нахождения вируса в бронхоальвеолярном лаваже и мокроте (при отделении), по сравнению с материалом из носоглотки и ротоглотки, и низкая выявляемость в крови и моче. При этом даже по самым оптимистичным данным диагностическая чувствительность ПЦР не превышает 90%. На сегодняшний день алгоритм диагностики новой коронавирусной инфекции включает инструментальный (радиологический) и лабораторный методы исследования. С клинической точки зрения результаты КТ, в сочетании с соответствующим эпидемиологическим анамнезом, могут быть использованы в качестве первого и непосредственного ориентира для врачей с целью начала лечения и принятия необходимых противоэпидемических мер, в то время как ПЦР служит инструментом подтверждения, ее результаты могут быть использованы позже для принятия решения о последующих действиях (изоляция, лечение). Но в то же время необходимо отметить, что здравоохранение многих стран столкнулось с нехваткой компьютерных томографов и квалифицированных специалистов, что делает данный метод недоступным для полномасштабных исследований, в отличие от лабораторного молекулярно-генетического теста. ПЦР-анализ незаменим для обследований контактных лиц, мониторинга заболеваемости. Таким образом, именно комплексный подход с использованием ПЦР и КТ, с учетом факторов, влияющих на точность диагностики, позволяет обеспечить получение достоверных результатов, правильно интерпретировать их, что необходимо как для постановки верного диагноза конкретному больному, так и для получения объективных данных о заболеваемости населения,



своевременного принятия решений о проведении необходимых противоэпидемических и профилактических мероприятий.

Пандемия COVID-19, повлекшая за собой беспрецедентные изменения уклада жизни во всем мире, показала, что привычный подход к оценке случая заболевания недостаточен и потребовала экстренной разработки эффективных диагностических тестов, позволяющих с высокой чувствительностью и специфичностью выявлять инфицированных и заболевших, определять стадию заболевания, а также подтверждать излеченность, что необходимо как для ограничения распространения инфекции, так и для проведения соответствующего лечения заболевших [8,10,17]. В практику внедрены методы, позволяющие выявлять наличие коронавируса в различных биологических субстратах, а также оценивать иммунный ответ на инфекцию. Каждый из этих методов имеет свои достоинства и недостатки, точку приложения, особенности применения и оценки результатов. Универсальный способ диагностики COVID-19 отсутствует. Врачи должны тщательно учитывать плюсы и минусы каждого метода и результаты исследований следует интерпретировать с учетом клинической картины болезни и эпидемиологического анамнеза. Требуются дальнейшие исследования для оценки клинической значимости имеющихся методов. Большое значение имеет использование ряда лабораторных тестов и биомаркеров, позволяющих объективно поддерживать принятие соответствующих клинических решений при развитии сопутствующих COVID-19 состояний и осложнений. В первую очередь это касается методов мониторинга нарушений системы гемостаза, а также биомаркеров бактериальной инфекции. Сезонный рост заболеваемости, обусловленной острыми респираторными инфекциями в осенне-зимний период в условиях пандемии COVID-19 будет ожидаемо сопряжен с определенным вкладом нового коронавируса в этиологическую структуру возбудителей ОРВИ. В этой связи большие надежды возлагаются на совершенствование методов диагностики и лечения COVID-19, где лабораторные тесты будут иметь ключевое значение.

USED LITERATURE

1. Cui S, Chen S, Li X, Liu S, Wang F. Prevalence of venous thromboembolism in patients with severe novel coronavirus pneumonia. J Thromb Haemost. 2020. doi:10.1111/JTH.14830.



2. Dolhnikoff M, Duarte-Neto AN, Monteiro RAA, et al. Pathological evidence of pulmonary thrombotic phenomena in severe COVID-19. *J Thromb Haemost.* 2020. doi:10.1111/JTH.14844.
3. Klok F., Kruip M., van der Meer N., Arbous M., Gommers D., Kant K. et al. Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. *Thromb. Res.* 2020; 191: 145–7. DOI: 10.1016/j.thromres.2020.04.013
4. Kalinskaya A., Dukhin O., Molodtsov I., Maltseva A., Sokorev D., Elizarova A. et al. Dynamics of coagulopathy in patients with different COVID-19 severity. *medRxiv.* 2020. DOI: 10.1101/2020.07.02.20145284
5. Zangrillo A, Beretta L, Silvani P, Colombo S, Scandroglio AM, Dell'Acqua A, et al. Fast reshaping of intensive care unit facilities in a large metropolitan hospital in Milan, Italy: facing the COVID-19 pandemic emergency. *Crit Care Resusc* 2020 Apr 1 [Epub ahead of print].
6. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX, et al. Clinical characteristics of Coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med* 2020 Feb 28 [Epub ahead of print].
7. Naimova S. A. Principles of early diagnosis of kidney damage in patients of rheumatoid arthritis and ankylosing spondylarthritis // *British Medical Journal.* – 2021. – T. 1. – №. 1.
8. Anvarovna N. S. Features Of Kidney Damage at Patients with Ankylosing Spondylarthritis // *Texas Journal of Medical Science.* – 2021. – T. 3. – C. 18-22.
9. Shadjanova N. S. Features of hemostasis in rheumatoid arthritis patients with ischemic heart disease // *International Engineering Journal for Research & Development.* - 2022. - Vol. 7. - No. 1-P. - P. 1-5.
10. Boltayev K. J., Naimova S. A. Risk factors of kidney damage at patients with rheumatoid arthritis // *WJPR (World Journal of Pharmaceutical Research).* – 2019. – T. 8. – №. 13.
11. Boltayev K. J. et al. ASSESSMENT OF HEMODYNAMICS OF THE KIDNEYS IN YOUNG PATIENTS WITH ARTERIAL HYPERTENSION // *Web of Scientist: International Scientific Research Journal.* – 2022. – T. 3. – №. 4. – C. 720-725.
12. Boltayev K., Shadjanova N. Anemia associated with polydeficiency in elderly and senile people // *Galaxy International Interdisciplinary Research Journal.* – 2022. – T. 10. – №. 2. – C. 688-694.
13. Naimova N. S. et al. Features of coagulation and cellular hemostasis in rheumatoid arthritis in patients with cardiovascular pathology // *Asian Journal of Multidimensional Research (AJMR).* – 2019. – T. 8. – №. 2. – C. 157-164.



14. Наимова Ш. А. THE DEGREE OF SECONDARY OSTEOPOROSIS IN RHEUMATOLOGICAL PATIENTS AND WAYS OF ITS PREVENTION //Новый день в медицине. – 2020. – №. 1. – С. 56-58.
15. Алиахунова М. Ю., Наимова Ш. А. FEATURES OF KIDNEY DAMAGE AT PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS //Новый день в медицине. – 2020. – №. 2. – С. 47-49.
16. Наимова Н. Ш., Хамидова Н. К., Азамов Б. З. Особенности коагуляционного и клеточного гемостаза при ревматоидном артрите у лиц с сердечно-сосудистой патологией //Новый день в медицине. – 2019. – №. 2. – С. 219-222.
17. Наимова Ш. А., Латипова Н. С., Болтаев К. Ж. Коагуляционный и тромбоцитарный гемостаз у пациентов с ревматоидным артритом в сочетании с сердечно-сосудистом заболеванием //Инфекция, иммунитет и фармакология. – 2017. – №. 2. – С. 150-152.
18. Tulkinjanovna S. G., Anvarovich R. A. The influence of deficiency of microelements in children with bronchial hyperreactivity// ACADEMICIA: An International Multidisciplinary Research Journal (ISSN: 2249-7137)–2020. April. - 2020. - T. 10. - No. 4. - S. 846-853.
19. Ding L, Wang L, Ma W, He H. Efficacy and safety of early prone positioning combined with HFNC or NIV in moderate to severe ARDS: a multi-center prospective cohort study. Crit Care 2020; 24: 28.
20. Baig AM, Khaleeq A, Ali U, Syeda H. Evidence of the CO-VID-19 Virus Targeting the CNS: Tissue distribution, host-virus interaction, and proposed neurotropic mechanisms. ACS Chem Neurosci 2020; 11: 995–998.
21. Ulrich, H., & Pillat, M. M. (2020). CD147 as a Target for COVID19 Treatment: Suggested Effects of Azithromycin and Stem Cell Engagement. Stem Cell Reviews and Reports.