



Importance of SARA-COV-2 serological tests in diagnosis, vaccine productin and treatment

ARTICLE INFO

Article Type Original Research

Authors

Nazila Hajiahmadi¹
Hoorieh Soleimanjahi²
Taravat Bamdad^{3*}

1- Ph.D. student, Department of Virology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran, n.hajiahmadi@modares.ac.ir

2- Professor, Department of Virology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran, soleim_h@modares.ac.ir

3- Associated Professor, Department of Virology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran, bamdad_T@modares.ac.ir

*Correspondence

Department of Virology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. Tel: (+) 98 21 82 88 45 25, Fax: (+) 98 21 88 01 30 30, e-mail: bamdad_T@modares.ac.ir

Article History

Received: August 20, 2020
Accepted: January 10, 2020
ePublished: March 18, 2021

ABSTRACT

SARS-COV-2, the latest member of Coronaviridea family as the cause of the recent global epidemic, has inflicted sever damages in different fields on most governments. Appropriate strategies such as identifying infected individuals and isolating them, trying to produce an effective vaccine, finding efficient treatment and making correct decisions in the social, economic and health fields are the current priorities of the world. Simultaneous serological tests with molecular tests have led to a reduction in false-negative cases of these tests, which leads to the timely isolation of more patients and less spread of the disease. Evaluation of humoral immune responses by serological tests contribute to effective vaccine production. Serological tests can also be effective in optimizing plasma therapy in patients with SARS-COV-2. Finally, performing inexpensive serological tests in high-volume caused more correct epidemiological information that leads to accurate decisions at the community level. Due to the effect of serological tests in various aspects, the use of them is effective in SARS-COV-2 epidemic management.

Keywords: SARA-COV-2, Serological test, Antibody, ELISA, Glycoprotein S, N protein

اهمیت آزمایش های سرولوژیک سارس کرونا ویروس-۲ در تشخیص، تولید واکسن و درمان

نازیلا حاجی احمدی

دانشجوی دکتری، گروه ویروس شناسی، دانشکده علوم پزشکی،
دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

حوریه سلیمانجاهی

استاد، گروه ویروس شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت
مدرس، تهران، ایران

طراوت بامداد*

دانشیار، گروه ویروس شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه
تربیت مدرس، تهران، ایران

چکیده

سارس کرونا ویروس-۲ جدیدترین عضو از خانواده کروناویریده که عامل همه گیری اخیر در سطح جهان است، صدمه های بسیاری را در زمینه های مختلف به اکثر دولت ها تحمیل کرده است. کنترل این بیماری از اولویت های اکنون جهان است. از راهکارهای مناسب برای مبارزه و کنترل این بیماری می توان به مواردی از جمله شناسایی افراد مبتلا و جداسازی آنها، تلاش برای تولید واکسن مؤثر، یافتن راه حل های درمانی مؤثر و کم خطر و در نهایت اتخاذ تصمیم گیری های بهداشتی، اقتصادی و اجتماعی صحیح در سطح کلان جامعه اشاره کرد. انجام هم زمان تست های سرولوژیک با تست های ملکولی به کاهش موارد منفی کاذب این تست ها منجر شده که به ایزوله به موقع بیماران بیشتر و کم تر شدن گسترش بیماری می انجامد. استفاده از این تست ها در زمینه ارزیابی پاسخ های ایمنی هومورال به بحث تولید واکسن مؤثر نیز کمک می کند. همچنین تست های سرولوژیک می توانند در زمینه بهینه سازی پلاسمادرمانی بیماران مبتلا به سارس کرونا ویروس-۲ مؤثر باشند. با انجام تست های سرولوژیک ارزان قیمت در حجم بالا، اطلاعات اپیدمیولوژیک دقیق تری حاصل می شود که به تصمیم گیری های صحیح تری در سطح جامعه منجر می شود. بنابراین با توجه به تأثیر تست های

سرولوژیک در جنبه های مختلف، استفاده از آنها در مدیریت اپیدمی سارس کرونا ویروس-۲ مؤثر است.

کلیدواژه ها: سارس کرونا ویروس-۲، تست سرولوژیک، آنتی-

بادی، الیزا، گیکوپروتئین S، پروتئین N

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۵/۳۰

تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۰/۲۱

*نویسنده مسئول: bamdad_t@modares.ac.ir

مقدمه

بعد از ویروس سارس (Sever Acute Respiratory Syndrome) و مرس (Middle-East Respiratory Syndrome)، سارس کرونا ویروس-۲ جدیدترین عضو از خانواده کروناویریده است که موجب طیفی از بیماری ها به ویژه پنومونی های کشنده در انسان می شود و عامل همه گیری اخیر در سطح جهان است [۱، ۲]. ژنوم اعضای این خانواده یک قطعه RNA تک رشته ای پلاریده مثبت است که پروتئین های ۲ مورد نیاز ویروس را کد می کند. از جمله پروتئین های ویروس می توان به پروتئین S و پروتئین N اشاره کرد. پروتئین S، یک پروتئین سطحی ویروس است که پس از سنتز گلیکوزیله شده و به صورت ساختارهای سه تایی در سطح ویروس قرار می گیرد. دومین های مختلف این پروتئین در اتصال ویروس به رستپور سلولی و فیوژن نقش دارند [۱]. پروتئین N، یک فسفوپروتئین دارای دومین های متصل شونده به RNA است که پس از اتصال به ژنوم ویروسی، نوکلئوکسپید مارپیچی ویروس را شکل می دهد و به جایگیری نوکلئوکسپید شکل گرفته در ذره ویروسی منجر می شود [۱]. هر دو پروتئین S و N قادر هستند پاسخ ایمنی به بدن القا کنند و در تست های سرولوژیک جهت تشخیص ویروس به کار می روند. بر اساس گزارش سازمان بهداشت جهانی، این ویروس تاکنون (۲۰ آگوست ۲۰۲۰) بیش از بیست میلیون نفر را مبتلا کرده و به مرگ بیش از ۷۵۰۰۰۰ فرد در سطح جهان منجر شده است [۳]. که البته این آمار صرفاً تعداد مبتلایان را براساس نتایج تأیید قطعی آزمایشگاهی منعکس می کند و مسلماً تعداد مبتلایان با

پاسخ ایمنی هومورال

آنتی‌بادی‌ها که به آنها ایمونوگلوبولین نیز گفته می‌شود، پروتئین‌های محافظتی هستند که گلبول‌های سفید تخصصی به نام لنفوسیت‌های B در پاسخ به یک ماده خارجی به نام آنتی‌ژن آنها را تولید می‌کنند که بعد از شناسایی اختصاصی آنتی‌ژن به آن متصل می‌شوند. بعد از این برخورد اولیه، تعدادی از لنفوسیت‌های B به صورت سلول‌های خاطره‌ای علیه این آنتی‌ژن در جریان خون باقی می‌مانند تا در مواجهه بعدی با همان آنتی‌ژن، سریع‌تر و قوی‌تر علیه آن، آنتی‌بادی اختصاصی تولید کنند. پنج دسته مختلف آنتی‌بادی عبارت از IgE، IgD، IgA، IgM، IgG هستند. این آنتی‌بادی‌ها از جهات مختلف از جمله ساختار کلی متفاوت هستند. در برخورد با آنتی‌ژن، ابتدا آنتی‌بادی IgM تولید می‌شود و پس از آن IgA روی سطوح مخاط یا IgG در سرم مشاهده می‌شود. آنتی‌بادی IgG، آنتی‌بادی اصلی در پاسخ به آنتی‌ژن است و مسئول اصلی ایمنی طولانی‌مدت بعد از عفونت یا واکسیناسیون است [۹]. دانش در زمینه زمان شروع تولید آنتی‌بادی‌ها و مدت پایداری آنها در بدن در زمینه‌های مختلف مثل تشخیص، بررسی مصونیت و واکسیناسیون بسیار مهم است. این اطلاعات درباره ویروس‌ها یا آنتی‌ژن‌های مختلف متفاوت است. بررسی‌های انجام‌شده روی سایر کروناویروس‌ها نشان داد که پاسخ آنتی‌بادی در فاز حاد بیماری (۱ الی ۷ روز اول) را به‌ندرت می‌توان شناسایی کرد درحالی‌که بعد از هفته دوم یا سوم، افزایش تولید آنتی‌بادی مشاهده شده است [۱۰]. مدت ماندگاری پاسخ آنتی‌بادی در کروناویروس‌های دیگر به طور میانگین حداقل تا ۲ سال گزارش شده است به طوری‌که تیتراژ آنتی‌بادی در سال سوم کاهش می‌یابد [۱۱ و ۱۲]. مطالعات اندک در زمینه کینتیک تولید آنتی‌بادی در سارس کرونا ویروس-۲ نیز نشان می‌دهد که [شکل ۱] بعد از شروع علائم و به طور میانگین طی هفته اول تولید آنتی‌بادی‌های IgA، IgM و IgG آغاز می‌شود، طی هفته دوم میزان هر سه آنتی‌بادی افزایش می‌یابد اما در هفته سوم تیتراژ IgA و IgM افزایش نمی‌یابد درحالی‌که تیتراژ IgG همچنان در حال افزایش است [۱۳-۱۶]. این دانسته‌ها درباره سارس کرونا ویروس-۲ هنوز اندک است و به مطالعات بیشتری در این زمینه نیاز هست.

بررسی حضور یا نداشتن حضور آنتی‌بادی اختصاصی با تست‌های سرولوژیک اطلاعات مفیدی را در زمینه‌های تشخیص، واکسن،

احتساب موارد بدون علامت یا با تست ملکولی منفی کاذب فراتر از این تعداد است. سارس کرونا ویروس-۲ همانند ویروس سارس از طریق اتصال به رسپتور ACE2 (Angiotensin Converting Enzyme 2) به سلول‌های اپی‌تلیالی آلوئولار ریه میزبان متصل می‌شود [۴]. این ویروس بعد از تکثیر و رهاسدن از سلول‌ها، موجب فعال‌شدن سلول‌های سیستم ایمنی می‌شود که به القا تولید و ترشح سیتوکین‌های التهابی و کموکاین‌ها به داخل سلول‌های اندوتلیال رگ‌های ریوی و درنهایت باعث طوفان سیتوکینی منجر می‌شود [۵]. بیماری ناشی از این ویروس تحت عنوان COVID-19 با دوره کمون متوسط ۳ تا ۷ روز در اکثر موارد بدون علائم یا با علائم ملایم است (۸۰ درصد) درحالی‌که مواردی از بیماری شدید که به اکسیژن رسانی محتاجند (۱۵ درصد) و برخی موارد بیماری با پیامدهای جدی که به دستگاه ونتیلاتور نیاز دارند (۵ درصد) نیز وجود دارد [۶]. تب، سرفه و خستگی از شایع‌ترین علائم بیماری هستند [۶، ۵]. به‌رغم برخی تفاوت‌ها، به دلیل تشابه‌های زیاد علائم بالینی این بیماری با بیماری‌های تنفسی دیگر مثل آنفلوآنزا [۷]، تشخیص بر اساس علائم دشوار است و فقط با بررسی‌های آزمایشگاهی می‌توان وجود عفونت را قطعی تأیید کرد. در حال حاضر برای تشخیص از سه روش استفاده می‌شود: ۱. بررسی حضور ژنوم ویروس در نمونه‌های جمع‌آوری‌شده از مجاری تنفسی طی آزمایش ملکولی real time polymerase chain reaction یا RT-PCR، ۲. بررسی ضایعات ریوی طی CT-scan و ۳. بررسی برخی فاکتورهای خونی مثل سطح اکسیژن خون، CRP، D-Dimer و ... [۸]. با توجه به اینکه همه‌گیری این ویروس در سطح جهان به تحمیل صدمات جانی، روحی و اقتصادی شدید منجر شده است، کنترل این بیماری از جمله اولویت‌های کنونی جهان است. از راهکارهای مناسب برای مبارزه و کنترل این بیماری، شناسایی افراد مبتلا و جداسازی آنها، تلاش برای تولید واکسن مناسب، یافتن راه‌حل‌های درمانی مؤثر و کم‌خطر و درنهایت تصمیم‌گیری‌های بهداشتی، اقتصادی و اجتماعی مهم در سطح کلان جامعه جهت کمترکردن صدمه‌های ناشی از این ویروس است. این مقاله نقش تست‌های سرولوژیک در راهکارهای کنترل و مبارزه با ویروس را بررسی می‌کند.

نیست. همچنین به دلیل پایداری پاسخ های ایمنی، این تست ها برای مطالعات گذشته نگر و ارزیابی سابقه ابتلای فرد به ویژه در افرادی که بیماری بدون علامت داشتند یا در زمان بیماری امکان انجام تست ملکولی برای آنها فراهم نبوده است، مفید است.

روش استاندارد برای سنجش آنتی بادی علیه ویروس، تست های خنثی سازی از جمله Virus Neutralization Assay (VNA) و Plaque Reduction Neutralization Test (PRNT) هستند. در این تست ها سرم یا پلاسما بیمار بعد از غیرفعال شدن در ۵۶ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه، رقیق شده، با سوسپانسیون ویروسی مخلوط شده و بعد از مدتی انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتیگراد به کشت سلولی مناسب اضافه و بعد از چند روز انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتیگراد با بررسی اثرات سیتوپاتیک ویروسی و انجام محاسبات، میزان آنتی بادی دارای قدرت خنثی کنندگی در نمونه سرم یا پلاسما تعیین می شود [۱۸-۲۰]. به رغم اینکه روش استاندارد طلایی در بررسی سرولوژیک ویروس ها، تست های خنثی سازی هستند، انجام این تست ها با محدودیت هایی همراهند. از جمله آنها می توان به استفاده از ویروس فعال و خطرات ناشی از آن، زمان بردن آماده شدن نتایج، به تجهیزات کشت سلولی که در هر آزمایشگاهی میسر نیست و به افراد با تجربه بالا جهت بررسی نهایی تست اشاره کرد نیاز نیست. با وجود این برای تأیید کارایی واکسن در تولید آنتی بادی خنثی کننده و نیز برای تأیید کیت های تشخیص سرولوژیک بر اساس روش آنزیمی (ELISA) استفاده از این روش توصیه می شود درحالی که در بررسی های وسیع سرولوژیک استفاده از تست های خنثی سازی مقرون به صرفه و منطقی نیست و استفاده از تست های سرولوژیک بر اساس ELISA و تست های Rapid توصیه می شود. امروزه در تشخیص بسیاری از عفونت ها و همچنین در بررسی حضور آنتی ژن های ویروسی در مطالعات اپیدمیولوژیک از تست های بر پایه ELISA استفاده می شود [۲۱،۲۲].

انجام هم زمان تست های ملکولی و سرولوژیکی به طور معناداری موجب افزایش حساسیت و صحت تشخیص سارس کرونا ویروس-۲ می شود [۱۶،۱۴]. انجام هم زمان تست های سرولوژیکی

درمان و تصمیم گیری های بهداشتی و اجتماعی فراهم می کند. در ادامه به بررسی اهمیت تست های سرولوژیک در این زمینه ها اشاره می کنیم.

آزمایش های سرولوژیک سارس کرونا ویروس-۲ و

تشخیص

یکی از راه های کنترل همه گیری سارس کرونا ویروس-۲، تشخیص سریع افراد آلوده و جداسازی آنها از افراد دیگر جامعه برای جلوگیری از انتقال ویروس به افراد سالم است. همان طور که اشاره شد، روش های کنونی تشخیص شامل تست های مولکولی، CT-Scan و بررسی فاکتورهای خونی می شود [۸]. از بین این روش ها، تست ملکولی مطمئن ترین روش جهت تأیید حضور ژنوم ویروس است اما این روش با محدودیت هایی همراه است که از جمله آنها می توان به زمان بردن آماده شدن نتایج، نیازمندی به فضای آزمایشگاهی مناسب، تجهیزات گران قیمت و نیروی کار باتجربه و آموزش دیده و نتایج منفی کاذب به علت جمع آوری نامناسب نمونه ها یا استخراج نامناسب اسید نوکلئیک اشاره کرد [۱۷]. تست های ملکولی نیز فقط قدرت تشخیص عفونت فعال را دارند و برای مطالعات گذشته نگر مناسب نیستند به طوری که نتیجه منفی این تست برای یک فرد می تواند به هر دو صورت ابتلا نشدن به ویروس یا ابتلا به ویروس و عبور از مرحله فعال عفونت و بهبودی تفسیر شود. بنابراین تست های ملکولی روشی مناسب برای غربالگری افراد جامعه و تشخیص های ساده، ارزان قیمت و سریع نیستند و استفاده از روش های سریع تر و ارزان تر یک نیاز ضروری است [۱۷].

همان طور که اشاره شد، پاسخ ایمنی و آنتی بادی تولید شده علیه ویروس اختصاصی است و تا مدتی در بدن باقی می ماند، بنابراین، بررسی آن می تواند به عنوان یک راهکار در تشخیص مطرح باشد. طراحی تست های سرولوژیکی به ویژه درباره کیت های سریع (Rapid) به گونه ای است که علاوه بر سرعت آماده شدن نتیجه تست، انجام تست به تجهیزات گران و نیروی کار باتجربه چندان وابسته نیست بنابراین مقرون به صرفه ترند و نمونه گیری برای این تست ها، با توجه به استفاده از خون کامل یا سرم، سخت و تهاجمی

در مواردی از جمله نتایج منفی کاذب در تست ملکولی، تطابق- نداشتن نتایج تست ملکولی با CT-Scan و تست‌ها یا علائم دیگر، نداشتن همخوانی دو تست ملکولی با هم به دلیل نتیجه مثبت یا منفی کاذب یکی از دو تست، می‌تواند کمک‌کننده باشد. همچنین با توجه به اینکه به طور میانگین میزان ژنوم ویروس از روز یازدهم روند کاهشی و میزان تولید آنتی‌بادی در همین زمان روند افزایشی می‌یابد [شکل ۱]، همراهی تست‌های ملکولی و سرولوژیک روند تشخیص را کارآمدتر می‌کند [۱۴].

بیماری ناشی از سارس کرونا ویروس-۲ می‌تواند در سه حالت بدون علائم، با علائم ملایم و بیماری با شرایط وخیم و جدی مشاهده شود که انتقال ویروس در هر سه حالت امکان‌پذیر است [۲۳،۲۴]. از طرفی، با توجه به داده‌های یک مطالعه، مدت زمان انتشار ویروس در افراد بدون علائم از افرادی که علائم، طولانی‌تری دارند بیشتر است [۲۵]، بنابراین، شناسایی این گروه از افراد بسیار مهم است چراکه شناسایی نکردن حاملان ویروس بدون علائم بیماری، علاوه بر اینکه در زمینه کنترل انتشار بیماری مشکل ایجاد می‌کند، با ایجاد اختلال در نتایج آماری مانع تصمیم‌گیری‌های بهداشتی و اجتماعی صحیح می‌شود [۲۶]. با توجه به هزینه‌های گزاف تست‌های ملکولی و نمونه‌گیری مشکل آن، غربالگری افراد آلوده بدون علائم از دیگران به کمک تست‌های سرولوژیکی و سپس تأیید حضور یا نداشتن حضور ویروس با تست‌های ملکولی در آنها مسیر تشخیصی مقرون‌به‌صرفه‌تری است. البته مشاهدات نشان دادند که پاسخ ایمنی در افراد بدون علائم از افراد دارای علائم در فاز حاد بیماری ضعیف‌تر است [۲۵] بنابراین در جهت تشخیص این افراد باید از تست‌های سرولوژیکی با حساسیت بالا استفاده شود. مطالعه پاسخ ایمنی هم‌مورال در بیماران مبتلا به ویروس سارس، تفاوت معنادار تولید آنتی‌بادی علیه گلیکوپروتئین S و نوکلئوپروتئین را نشان داد، به‌طوری‌که پاسخ آنتی‌بادی علیه نوکلئوپروتئین بالاتر از گلیکوپروتئین S بود. بنابراین، در تشخیص ویروس سارس، تست‌های سرولوژیک بر اساس نوکلئوپروتئین در مقایسه با گلیکوپروتئین S حساس‌ترند [۲۷]. در مطالعات محدود انجام‌شده درباره سارس کرونا ویروس-۲ چنین اختلافی گزارش نشده است و مقایسه حساسیت تست‌های سرولوژیک طراحی شده بر اساس گلیکوپروتئین S و نوکلئوپروتئین (از نظر آنتی‌بادی IgG)

نشان‌دهنده حساسیت مشابه در آنهاست [۲۷،۲۸]. با وجود این به نظر می‌رسد استفاده تلفیقی از هر دو پروتئین موجب می‌شود درصد نتایج مثبت افزایش شود [۲۷]. همچنین باید در نظر داشت که در غربالگری افراد بدون علائم با تست‌های سرولوژیکی ممکن است گروهی از افراد آلوده که هنوز پاسخ ایمنی مشخصی در آنها ایجاد نشده است، از دست بروند.

توجه به این نکته بسیار مهم است که در شرایط کنونی، استفاده از تست‌های سرولوژیک به تنهایی، ابزاری مناسبی برای تشخیص افراد آلوده یا تعیین شرایط فرد نیست و همراهی این تست با تست‌های ملکولی برای تعیین وضعیت فرد لازم است. برای مثال افراد با نتایج سرولوژیک منفی، ممکن است مبتلا نباشند یا به تازگی مبتلا شده باشند و هنوز پاسخ ایمنی مشخصی در بدن آنها ایجاد نشده باشد [۹]. همچنین در همه مواردی که برای تشخیص از تست‌های سرولوژیکی و پاسخ آنتی‌بادی استفاده می‌شود، نتایج منفی کاذب ناشی از عدم پاسخ مؤثر سیستم ایمنی در افراد دارای نقص در این سیستم را باید در نظر گرفت. در افراد با نتایج سرولوژیک مثبت نیز ممکن است فرد با ویروس مواجه و از آلودگی پاک شده باشد و یا هنوز حامل ویروس باشد [۹]. به‌علاوه از آنجاکه توالی آمینواسیدی گلیکوپروتئین S در دو ویروس سارس و سارس کرونا ویروس-۲ حدود ۷۵ درصد همانند است، تشخیص و تمایز ابتلا به سارس کرونا ویروس-۲ از سارس کرونا ویروس‌های دیگر به کمک تست-های سرولوژیکی که دومین گلیکوپروتئین S را بررسی می‌کنند، مشکل است و احتمال واکنش متقاطع آنتی‌بادی تولید شده علیه کرونا ویروس‌های اندمیک با آنتی‌ژن‌های S کوت‌شده در چاهک-های کیت‌های تشخیصی سرولوژیک وجود دارد که به نتایج مثبت کاذب این تست‌ها منجر می‌شود [۲۹]. طراحی کیت‌های سرولوژیکی که قادرند علیه پروتئین و دومین اختصاصی سارس کرونا ویروس-۲ آنتی‌بادی شناسایی کنند در این زمینه کمک‌کننده است.

در نهایت، اگرچه تست‌های سرولوژیک به تنهایی ابزاری مناسب برای تشخیص نیست، همراهی آنها با تست‌های ملکولی موجب افزایش صحت و حساسیت در تشخیص بیماری می‌شود. ذکر این

علیه این پروتئین و ترجیحاً از تست های سرولوژیک خنثی سازی استفاده شود.

آزمایش های سرولوژیک سارس کرونا ویروس-۲ و درمان

تاکنون هیچ داروی اختصاصی برای درمان بیماری ناشی از سارس کرونا ویروس-۲ مجوز نگرفته است و بیشتر از درمان های علامتی و حمایتی مثل اکسیژن رسانی برای درمان بیماران استفاده می شود. بر اساس مطالعات انجام شده می توان سیر کلینیکی بیماری را به سه مرحله اولیه، حاد و بهبودی تقسیم کرد که مرحله حاد بیماری با پنومونی همراه است. در فرد بدون بیماری زمینه ای و با عملکرد سیستم ایمنی مؤثر در فاز حاد بیماری، تکثیر ویروس مهار و بیمار وارد مرحله بهبودی می شود. درحالی که تعدادی از بیماران از جمله در افراد مسن، افراد دارای بیماری زمینه ای مثل دیابت یا بیماری قلبی و افراد با سیستم ایمنی ناکارآمد، بیماری در مرحله حاد مهار نمی شود و فرد دچار مشکلات حادی مثل نقص در ارگان ها می شود. در این گروه فاکتورهای التهابی مثل سیتوکین های التهابی و D-Dimer افزایش و فاکتورهای سیستم ایمنی مثل سلول های B و T کاهش می یابند. یکی از راهکارهای توصیه شده برای درمان این گروه از افراد، تزریق ایمونوگلوبین های ضد سارس کرونا ویروس-۲ است که در نهایت می تواند موجب کاهش فاکتورهای التهابی و تیترو ویروس و افزایش سلول های B و T شود [۲]. ایمونوگلوبین های ضد سارس کرونا ویروس-۲ در خون بیماران بهبود یافته از COVID-19 وجود دارد. از جمله این ایمونوگلوبین ها می توان به ایمونوگلوبین ضد پروتئین S اشاره کرد که به احتمال زیاد با اتصال به ویروس از اتصال آن به سطح سلول جلوگیری می کند. بنابراین، تزریق پلاسمای خون های اهداشده بیماران بهبود یافته از COVID-19 یک روند درمانی مناسب تحت عنوان پلاسمای درمانی محسوب می شود. برای بهینه سازی این روند درمانی شناسایی افراد دارای ایمونوگلوبین ضد سارس کرونا ویروس-۲، تعیین تیترو آنتی بادی در آنها و نیز استفاده از تیترو مناسب ایمونوگلوبین برای درمان بیماران ضروری است. استفاده از تست های سرولوژیک سارس کرونا

نکته نیز بسیار مهم است که تست های سرولوژیکی مثبت، نشان دهنده ایمن شدن حتمی فرد نیست چراکه هنوز مصونیت زابودن و مدت زمان پایداری پاسخ ایمنی مصونیت زا مشخص نشده است.

آزمایش های سرولوژیک سارس کرونا ویروس-۲ و تولید واکسن

هنوز واکسنی برای پیشگیری از سارس کرونا ویروس-۲ تأیید نشده است. برای طراحی یک واکسن مناسب، چندین عامل باید مطالعه و بررسی شود. شناسایی اپی توپ های محافظت شده و دردسترس که پاسخ ایمنی اختصاصی و مناسب را برای مصونیت ایجاد می کنند، از نیازهای اولیه برای طراحی یک واکسن مناسب است [۲۹]. یکی دیگر از موارد مهم در تولید واکسن، تعیین نوع و ماهیت واکسن است. اینکه واکسن موجب تحریک پاسخ سلولار باشد یا هومورال باید تعیین شود. مطالعه پاسخ سیستم ایمنی در افراد بهبود یافته از ویروس سارس و سارس کرونا ویروس-۲ نشان دهنده مؤثر بودن هر دو پاسخ سلولار و هومورال در بهبودی است. البته پایش مداوم و بررسی سطح آنتی بادی های مصونیت زا با تست های سرولوژیکی در افراد بهبود یافته لازم است تا مدت زمان پایداری پاسخ ایمنی هومورال در افراد تعیین شود ولی طراحی واکسن هایی که هر دو پاسخ ایمنی را تحریک می کنند، توصیه می شود [۶].

بررسی میزان پاسخ ایمنی ناشی از واکسن و پایداری آن در بدن، یکی دیگر از عوامل تعیین کننده در کارآمدی واکسن است. اینکه پاسخ ایمنی ایجاد شده در اثر واکسن تا چه مدت زمان پایدار است و قدرت ایجاد مصونیت دارد، باید بررسی شود. بررسی پاسخ ایمنی هومورال، میزان تحریک سلول های B، و تولید آنتی بادی ضد سارس کرونا ویروس-۲ یکی از عوامل مهم در تعیین کارابودن واکسن های تحریک کننده سیستم ایمنی هومورال است که با کمک آزمایش های سرولوژیک امکان پذیر است. این تست ها در تعیین دوز مناسب واکسن و تعداد دفعات تزریق واکسن نیز می توانند کارایی داشته باشند. توجه به این نکته ضروری است که پاسخ آنتی بادی علیه گلیکوپروتئین S، پاسخ مصونیت زا است و بنابراین در بررسی مصونیت زایی و کارایی واکسن باید از کیت های طراحی شده

ویروس-۲ می‌تواند در پیشرفت در تمامی این زمینه‌ها مفید و مؤثر باشد [۳۰].

آزمایش‌های سرولوژیک سارس کرونا ویروس-۲ و تصمیم‌گیری‌های کلان در جامعه

یکی از راه‌های مبارزه با همه‌گیری سارس کرونا ویروس-۲، قرنطینه است که در بسیاری از کشورها اجرا شده است. هزینه‌های اقتصادی برای ایجاد و دوام قرنطینه برای همه دولت‌ها بسیار سنگین است. علاوه بر بحران مالی، پیامدهای روحی و خستگی افراد فعال جامعه را که به انزوا عادت ندارند نباید دست کم گرفت. بنابراین اتخاذ تصمیم‌هایی برای برون‌رفت از مشکلات ایجاد شده ضروری است.

پیش‌بینی شدت و مدت همه‌گیری سارس کرونا ویروس-۲، جهت برنامه‌ریزی‌ها و تصمیم‌گیری‌های کلان در جامعه لازم است. برای این پیش‌بینی‌ها باید تخمینی مقدماتی از میزان انتقال بیماری (R0) (تعداد افرادی که در یک جامعه مستعد به بیماری از یک فرد آلوده، بیماری را دریافت می‌کند) و میزان تلفات ناشی از بیماری را بدانیم. انجام تست‌های ارزان‌قیمت‌تر و در دسترس‌تر سرولوژیک در سطحی وسیع‌تر از جامعه (به‌ویژه در سطح افرادی از جامعه که علائم بیماری را ندارند درحالی‌که ممکن است به بیماری مبتلا باشند) به جمع‌آوری اطلاعات بیشتر و آنالیزهای آماری صحیح‌تر منجر می‌شود که به تخمین درست‌تر و پیش‌بینی بهتر و بنابراین، تصمیم‌گیری‌های کارآمدتر کمک می‌کند.

یکی از تصمیم‌گیری‌های مهم در این زمینه، اتخاذ راه‌حلی برای بازگشت به کار نیروی فعال جامعه است. انجام تست‌های ارزان-قیمت سرولوژیک می‌تواند افراد در معرض خطر (افراد با نتایج آنتی بادی منفی) را از افراد دیگر غربال کند [۲۶] تا از آنها در فضاهای کاری کم‌خطرتر (برای مثال بخش‌های کم‌خطرتر بیمارستان‌ها با تماس کمتر با افراد مبتلا به ویروس) استفاده شود. همچنین با انجام تست‌های سرولوژیک و شناسایی افراد با تست سرولوژی مثبت و تست مولکولی منفی، می‌توان شرایط بازگشت به کار گروهی از افراد جامعه را که احتمالاً تا مدتی به بیماری مصونیت دارند [۲۶]

فراهم کرد. البته باید در نظر داشت که به دلیل اطلاعات کم از مدت زمان پایداری پاسخ‌های ایمنی ضد ویروس و قدرت مصون‌سازی آن، این افراد نیز باید اصول فاصله‌گذاری اجتماعی و پروتکل‌های پیشگیری و بهداشتی را رعایت کنند و به طور دوره‌ای از نظر سطح آنتی‌بادی ضد ویروس با تست‌های سرولوژیکی بررسی شوند.

نتیجه‌گیری

همه‌گیری سارس کرونا ویروس-۲ هزینه‌های گزافی را در زمینه‌های مختلف به دولت‌ها تحمیل کرده است. بنابراین، تلاش برای مبارزه و کنترل این ویروس از اولویت‌های جهان است. در این زمینه تلاش برای تشخیص افراد آلوده، تهیه واکسن و روند درمانی بی‌خطر، مناسب و مؤثر و درنهایت تصمیم‌گیری‌های بهداشتی، اقتصادی و اجتماعی مهم در سطح کلان جامعه ضروری است. تست‌های مقرون‌به‌صرفه سرولوژیک در پیشرفت در این زمینه‌ها مؤثر هستند.

اگرچه استفاده تنها از تست‌های سرولوژیک در روند تشخیص با محدودیت‌هایی همراه است اما ترکیب این تست‌ها با تست‌های ملکولی تا حد زیادی موجب افزایش صحت و حساسیت روند تشخیص بیماری می‌شود که به ایزوله کردن به‌موقع افراد مبتلا و جلوگیری از گسترش بیماری منجر می‌شود.

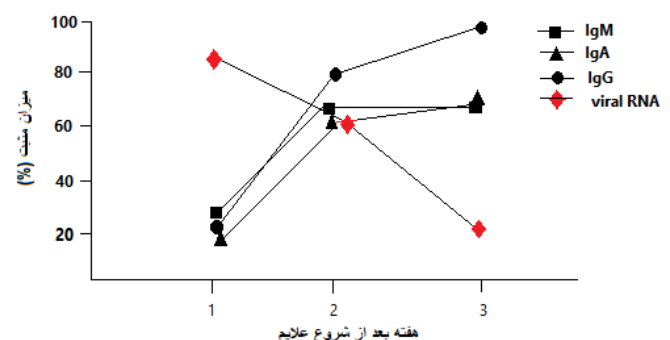
یکی از بحث‌های مهم در زمینه تولید واکسن بررسی پاسخ ایمنی ایجاد شده در اثر واکسن، مدت زمان پایداری آن، تعیین دوز مناسب واکسن و تعداد دفعات تزریق آن است که استفاده از تست‌های سرولوژیک می‌تواند در زمینه بررسی پاسخ‌های ایمنی هومورال مؤثر باشند.

از آنجاکه پلاسما درمانی به‌عنوان یکی از روش‌های مؤثر برای درمان بیماری COVID-19 در حال استفاده است، بهینه‌سازی این روش از طریق تعیین تیتراژ آنتی‌بادی در پلاسما و نیز استفاده از تیتراژ مناسب ایمنوگلوبین جهت درمان بیماران ضروری است و استفاده از تست‌های سرولوژیک می‌تواند در این زمینه مفید باشد.

5. Jiang F, Deng L, Zhang L, Cai Y, Cheung CW, Xia Z. Review of the clinical characteristics of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Journal of general internal medicine*. 2020; 35(5): 1545-9.
6. Rokni M, Ghasemi V, Tavakoli Z. Immune responses and pathogenesis of SARS-CoV-2 during an outbreak in Iran: Comparison with SARS and MERS. *Reviews in Medical Virology*. 2020;30(3): 1-6.
7. Wang C, Yu H, Horby PW, Cao B, Wu P, Yang S, et al. Comparison of patients hospitalized with influenza A subtypes H7N9, H5N1, and 2009 pandemic H1N1. *Clinical infectious diseases*. 2014;58(8):1095-103.
8. Jin Y-H, Cai L, Cheng Z-S, Cheng H, Deng T, Fan Y-P, et al. A rapid advice guideline for the diagnosis and treatment of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infected pneumonia (standard version). *Military Medical Research*. 2020;7(1):1-23.
9. Jacofsky D, Jacofsky EM, Jacofsky M. Understanding antibody testing for covid-19. *The Journal of Arthroplasty*. 2020; 199(3): 74-81.
10. Huang AT, Garcia-Carreras B, Hitchings MD, Yang B, Katzelnick LC, Rattigan SM, et al. A systematic review of antibody mediated immunity to coronaviruses: antibody kinetics, correlates of protection, and association of antibody responses with severity of disease. *medRxiv*. 2020;4(14):1-47.
11. Lin Q, Zhu L, Ni Z, Meng H, You L. Duration of serum neutralizing antibodies for SARS-CoV-2: lessons from SARS-CoV infection. *Journal of Microbiology, Immunology, and Infection*. 2020; 3(15):1-3.
12. Wu L-P, Wang N-C, Chang Y-H, Tian X-Y, Na D-Y, Zhang L-Y, et al. Duration of antibody responses after severe acute respiratory syndrome. *Emerging infectious diseases*. 2007;13(10):1562.
13. Guo L, Ren L, Yang S, Xiao M, Chang D, Yang F, et al. Profiling early humoral response to diagnose novel coronavirus disease (COVID-19). *Clinical Infectious Diseases*. 2020; 71(15): 778-785.
14. Liu L, Liu W, Zheng Y, Jiang X, Kou G, Ding J, et al. A preliminary study on serological assay for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) in 238 admitted hospital patients. *Microbes and Infection*. 2020; 22(4-5): 206-211.
15. Sun B, Feng Y, Mo X, Zheng P, Wang Q, Li P, et al. Kinetics of SARS-CoV-2 specific IgM and IgG responses in COVID-19 patients. *Emerging Microbes & Infections*. 2020(just-accepted):1-36.
16. Zhao J, Yuan Q, Wang H, Liu W, Liao X, Su Y, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. *Clinical Infectious Diseases*. 2020; 1-22.
17. Li Z, Yi Y, Luo X, Xiong N, Liu Y, Li S, et al. Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis. *Journal of medical virology*. 2020; 1-7.
18. GeurtsvanKessel CH, Okba NM, Igloi Z, Bogers S, Embregts CW, Laksono BM, et al. An evaluation of COVID-19 serological assays informs future diagnostics and exposure assessment. *Nature communications*. 2020;11(1):1-5.

هرچه اطلاعات از میزان شیوع و مرگومیر بیماری COVID-19 بیشتر باشد، بهتر می توان برای مقابله با آن برنامه ریزی کرد تا صدمه های اقتصادی و اجتماعی ناشی از آن کاهش یابد. برای بررسی های اپیدمیولوژیکی دقیق، به حجم نمونه بالا نیاز هست. استفاده از تست های گران قیمت ملکولی که قادر نیستند سابقه بیماری در افراد را بررسی کنند، برای این کار مناسب نیستند، درحالی که تست های سرولوژیک ابزار مناسبی برای پیشرفت این مطالعات اپیدمیولوژیکی هستند چراکه به دلیل هزینه کم، امکان استفاده از این تست ها در حجم نمونه بالا مقرون به صرفه است و امکان بررسی سابقه بیماری با این تست ها نیز میسر است.

در نهایت با توجه تاثیر تست های سرولوژیک در جنبه های مختلف مرتبط با کنترل اپیدمی سارس کرونا ویروس-۲، استفاده صحیح و به جا از این تست ها به مدیریت بهتر این اپیدمی کمک می کند.



شکل ۱: روند مثبت شدن آنتی بادی ها و ژنوم ویروسی در هفته های مختلف بعد از شروع علائم بیماری

منابع

1. Soleimanjahi H, Habibian A, Farahmand Z, Khorrami S, Ketabi K, Rastegarvand N, Nasiri Z, Yamini A. *Emerging Diseases in Coronaviruses COVID-19*. 1st ed. Tarbiat Modares university. 2020; P:4-6. (Persian)
2. Lin L, Lu L, Cao W, Li T. Hypothesis for potential pathogenesis of SARS-CoV-2 infection—a review of immune changes in patients with viral pneumonia. *Emerging microbes & infections*. 2020;9(1):727-32.
3. World Health Organization Coronavirus Diseases (covid19).
4. Wan Y, Shang J, Graham R, Baric RS, Li F. Receptor recognition by the novel coronavirus from Wuhan: an analysis based on decade-long structural studies of SARS coronavirus. *Journal of virology*. 2020;94(7):1-9.

24. Rothe C, Schunk M, Sothmann P, Bretzel G, Froeschl G, Wallrauch C, et al. Transmission of 2019-nCoV infection from an asymptomatic contact in Germany. *New England Journal of Medicine*. 2020;382(10):970-1.
25. Long Q-X, Tang X-J, Shi Q-L, Li Q, Deng H-J, Yuan J, et al. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Nature medicine*. 2020;1-5.
26. Lipsitch M, Kahn R, Mina MJ. Antibody testing will enhance the power and accuracy of COVID-19-prevention trials. *Nature Medicine*. 2020; 26: 814-821.
27. Schnurra C, Reiners N, Biemann R, Kaiser T, Trawinski H, Jassoy C. Comparison of the diagnostic sensitivity of SARS-CoV-2 nucleoprotein and glycoprotein-based antibody tests. *Journal of Clinical Virology*. 2020; 129:104544.
28. Liu W, Liu L, Kou G, Zheng Y, Ding Y, Ni W, et al. Evaluation of nucleocapsid and spike protein-based enzyme-linked immunosorbent assays for detecting antibodies against SARS-CoV-2. *Journal of clinical microbiology*. 2020;58(6): 1-7.
29. Walls AC, Park Y-J, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Veersler D. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *Cell*. 2020; 181(2): 281-292.
30. Abbasi J. The promise and peril of antibody testing for COVID-19. *Jama*. 2020;323(19):1881-3.
19. Okba NM, Müller MA, Li W, Wang C, GeurtsvanKessel CH, Corman VM, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2- specific antibody responses in coronavirus disease patients. *Emerging infectious diseases*. 2020;26(7):1478.
20. Wang X, Guo X, Xin Q, Pan Y, Hu Y, Li J, et al. Neutralizing antibody responses to severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in coronavirus disease 2019 inpatients and convalescent patients. *Clinical Infectious Diseases*. 2020; XX(X): 1-7.
21. Hashempour T, Ajorloo M, Bamdad T, Merat S, ZAER RH, Fakharzadeh E, et al. Development of a recombinant based ELISA using specific antibodies to F protein in HCV chronically infected patients-A seroprevalence study. 2010; 4(1): 1-6.
22. Iha K, Inada M, Kawada N, Nakaishi K, Watabe S, Tan YH, et al. Ultrasensitive ELISA Developed for Diagnosis. *Diagnostics*. 2019;9(3):78.
23. Kimball A, Hatfield KM, Arons M, James A, Taylor J, Spicer K, et al. Asymptomatic and presymptomatic SARS-CoV-2 infections in residents of a long-term care skilled nursing facility—King County, Washington, March 2020. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 2020;69(13):377.