

МЕТОДЫ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ SARS-2-COV-19

Джайнакбаев Н.Т., Давлягшин Т.И., Давлятшина Е.В,
Маншарипова А.Т., Сафонов Д.П., Давлягшин Т.Т.

КазРосмедуниверситет, Алматы
Т-хелпер, Алматы

К представителям семейства коронавирусов, являющихся возбудителями респираторных заболеваний с тяжелыми клиническими проявлениями, по системе ВОЗ, относится РНК-геномный вирус SARS-Cov2 (COVID-19), передаваемый от человека человеку, а также некоторыми животными (в случае с пандемией 2020 – летучими мышами и возможно панголинами), и характеризующийся следующими особенностями [1,2,3]:

- 1) длительный инкубационный период – 14 и выше дней;
- 2) низкая температура, сопровождающая период контагиозности;
- 3) высокая вирулентная активность;
- 4) повышенная мутабельность;
- 5) большая масса вирусной частицы;
- 6) несколько способов попадания в организм – воздушно-капельный, адсорбция на шероховатых поверхностях различных предметов, орально-фекальный.

С момента вхождения в организм и до возникновения ощутимой реакции иммунной системы человека, проходит от 10 до 14 и более суток. Инкубационный период и последующий иммунный ответ во многом зависит от иммунного статуса инфицируемого и скорости достижения вируса критической массы в данном организме [1,4,5].

Классическая схема развития специфического иммунного ответа человека, определяемая как «собственно заболевание» сопровождается синтезом антител, которые не гарантируют защиты от повторного заражения, предполагает следующую схему: 1 этап – наработка иммуноглобулинов острой фазы класса М - IgM до 3-7 (10) суток [1,2,3] в случае с COVID-19 может увеличиваться до 14 дней и более. Это связано с тем, что возрастает период «необращения»; 2 этап – наработка более специфических антител класса А - IgA, в период с 7-14 (реже до 21) суток; и, наконец, 3 этап-возникновение антител с высокой специфичностью – класса G – IgG, которые, в свою очередь, делятся на низкоспецифические, и высокоспецифичные (аффинитет). Низкий аффинитет [6,7], чаще всего ассоциируется с впервые возникшим заболеванием или персистенцией, в то время как высокий - связывают с хронизацией процесса и выздоровлением.

Из вышесказанного видно, что ранняя диагностика COVID-19 является сложным и неоднозначным процессом.

В период пандемии, объявленной в 2020 году, идет интенсивная работа по разработке и производству специфических диагностических тестов. По литературным данным с конца 2019г. производятся специфические диагностические тест-системы следующего направления: 1) - тест системы основанные на ПЦР к сайтам генома РНК вируса; 2) - на определении антительного ответа самого организма с помощью ИФА-диагностики [1,2,3].

Для анализа используется биоматериал, забранный из носоглотки, мокрота, кровь, моча и кал.

Кроме того, существующие методы специфической лабораторной диагностики делятся на методы экспресс-диагностики, позволяющей давать ответ в течении короткого времени от 30-40 минут – экспресс полоски с определением иммуноглобули-

нов классов М и G, а также тест-системы, способные оценить полный иммунный ответ организма.

Методы ПЦР-диагностики являются стандартом [1,2,3]: 1) ОТ- ПЦР - с обратной транскрипцией- превращение одноцепочечной молекулы РНК коронавируса в комплементарную молекулу ДНК, которую в дальнейшем подвергают обычной обработке. Они требуют специального оборудования, определенной реагентике, нередко переоборудования и переориентации лаборатории. Различные производители выбирают различные последовательности РНК вирусов. Так, предлагаются российские тест-системы, из которых ПЦВБ «ВЕКТОР» дает результат около 2 часов; НПФ «Литех» имеет 2 варианта: базовый - 3 часа и экспресс-метод - 2 часа; компания «ДНК-технология», диагностирующая от 10 копий вируса, время не уточняет; компания DRD Biotech, Сколково - в течение нескольких минут позволяет проводить анализ в домашних условиях; SARS-Cov-2 detection kits, BGI Group (Китай) - время анализа до 3 часов.

2) Методы с использованием петлевой лазерной амплификации, она же LAMP - выведены компаниями «Генериум», «Медико-Биологическим Союзом», Abbott Labs одобрены FDA; KK Mirai, Genomics обладают лучшей чувствительностью и меньшим временем экспозиции. Проводятся в режиме 5-13 минутного теста (американские тест-системы), 30-60 минут – российские тест-системы.

Разрабатываются и внедряются не менее чувствительные по сравнению с ПЦР, но более быстрые и экономичные специфические методы ИФА/ИХА-диагностики: 1) Смешанные - содержащие антитела классов - М и G; 2) антитела классов А и G (Anti-Sars-Cov-2 ELISAs, Германия) 3) антитела только класса G.

В настоящее время в России разрабатываются тесты, на основе ИФА/ИХА, которые позволят выявить людей уже переболевших коронавирусной инфекцией, т.е. приобретших временный иммунитет – Центром генетики и репродуктивной медицины Genetico и Институтом Молекулярной Биологии им. В.А. Энгельгардта (ИМБ РАН) [3].

В данное время в РК используют тест-системы, полученные на безвозмездной основе из России, в режиме реального времени разработанные учеными ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» - на основе ПЦР, также имеются сведения о наличии тест систем производства Южной Кореи. Недавно было заявлено, что разрабатывается отечественные тест системы на базе Национального биотехнологического центра и Национального центра по биобезопасности.

Учитывая наличие длительного скрытого периода развития инфекции и определенную привязанность к локализации забора биоматериала для проведения ПЦР-диагностики, а также связанные с этим сложности в плане качественной диагностики - представляется необходимым производство, внедрение и использование тест-систем самых различных типов. На ранних этапах инфекции наиболее информативными могут быть тест-системы, использующие ПЦР, а мониторинг дальнейшего течения заболевания, обнаружение перенесших заболевание, сопрягается с иммунным ответом организма, а, следовательно, с ИФА. Кроме того, общеизвестно, что эти два вида исследова-

