



Original Paper

Identification of SARS-CoV-2 Genome in the Blood Samples of COVID-19 Patients

Bahman Aghcheli¹ , Abdolvahab Moradi (Ph.D)² , Alijan Tabarraei (Ph.D)³
Hamed Naziri (Ph.D)⁴ , Mohammad Reza Kalani (Ph.D)⁵ , Alireza Tahamtan (Ph.D)^{*6}

¹ Ph.D Candidate in Medical Virology, Department of Microbiology, School of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran. ² Professor of Medical Virology, Department of Microbiology, School of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran. ³ Professor of Medical Virology, Infectious Diseases Research Center, School of Medicine, Department of Microbiology, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran. ⁴ Assistant Professor of Medical Virology, Department of Microbiology, School of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran. ⁵ Assistant Professor of Molecular Medicine, Department of Molecular Medicine, School of Advanced Technologies in Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran. ⁶ Assistant Professor of Medical Virology, Infectious Diseases Research Center, School of Medicine, Department of Microbiology, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran.

Abstract

Background and Objective: Since the onset of the COVID-19 (Corona Virus Disease 2019) pandemic, several challenges have been proposed to the disease and the causing viral agent. Accurate and rapid diagnosis of the virus is essential to control the spread and progression of the disease. Choosing a suitable sample in different phases of the disease will reduce the false-negative results. This study was performed to identify the SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2) genome in the blood samples of COVID-19 patients.

Methods: This descriptive-analytical study was performed by census method on 100 whole blood samples of patients (50 recovery and 50 deceased) with a definitive diagnosis of COVID-19 (positive Real-Time RT-PCR test of nasopharyngeal swab samples) admitted to Shahid Sayyad Shirazi educational and medical center in Gorgan during 2020-21. Clinical and laboratory findings were compared in the two groups of patients. The viral nucleic acid was extracted from the whole blood samples of the patients, and the presence of the virus genome was investigated using primer and probes via the Real-Time RT-PCR method.

Results: The age of the recovered patients (49.06 ± 15.1 years) was significantly lower than deceased patients (58.3 ± 12.4 years) ($P < 0.05$). Clinical symptoms including cough, shortness of breath, sputum secretion, and vomiting in deceased patients were significantly more than recovery group ($P < 0.05$). The lymphocytes count and platelet level in the deceased group were lower than in the recovered group. Level of lactate dehydrogenase (LDH) was higher in the deceased group in compare to recovered group ($P < 0.05$). The virus genome identified in the blood samples of 7 patients (3 recovered and 4 deceased), which had no significant relationship with the outcome of the disease.

Conclusion: The use of blood samples for the diagnosis of COVID-19 is not appropriate.

Keywords: COVID-19, SARS-CoV-2, COVID-19 Nucleic Acid Testing

*Corresponding Author: Alireza Tahamtan (Ph.D), E-mail: alireza.tmn@gmail.com

Received 18 May 2021

Revised 16 Nov 2021

Accepted 21 Nov 2021

Published online 12 Mar 2022

Cite this article as: Aghcheli B, Moradi A, Tabarraei A, Naziri H, Kalani MR, Tahamtan A. [Identification of SARS-CoV-2 Genome in the Blood Samples of COVID-19 Patients]. J Gorgan Univ Med Sci. 2022; 23(4): 40-46. [Article in Persian]





تحقیقی

شناسایی ژنوم سارس کرونا ویروس ۲ در نمونه خون بیماران مبتلا به کووید-۱۹

بهمن آقچه لی^۱ ID، دکتر عبدالوهاب مرادی^۲ ID، دکتر علیجان تبرائی^۳ ID،
دکتر حامد نذیری^۴ ID، دکتر محمدرضا کلانی^۵ ID، دکتر علیرضا تهمتن^{۶*} ID

^۱ دانشجوی دکتری تخصصی ویروس شناسی پزشکی، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. ^۲ استاد ویروس شناسی پزشکی، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. ^۳ استاد ویروس شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات بیماری های عفونی، دانشکده پزشکی، گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. ^۴ استادیار ویروس شناسی پزشکی، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. ^۵ استادیار پزشکی مولکولی، گروه پزشکی مولکولی، دانشکده فناوری های نوین، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. ^۶ استادیار ویروس شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات بیماری های عفونی، دانشکده پزشکی، گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: از زمان شروع پاندمی بیماری کووید-۱۹ (Corona Virus Disease 2019: COVID-19) چالش های متعددی در خصوص این بیماری و عامل ویروسی ایجاد کننده آن مطرح است. تشخیص سریع و دقیق ویروس به منظور کنترل گسترش و پیشرفت بیماری امری ضروری است. انتخاب نمونه مناسب در فازهای مختلف بیماری باعث کاهش نتایج منفی کاذب خواهند شد. این مطالعه به منظور شناسایی ژنوم سارس کرونا ویروس ۲ (Sever Acute Respiratory Syndrome Corona Virus 2: SARS-CoV-2) در نمونه خون بیماران مبتلا به COVID-19 انجام شد.

روش بررسی: این مطالعه توصیفی - تحلیلی به روش سرشماری بر روی ۱۰۰ نمونه خون تام بیماران (۵۰ مورد بهبودی و ۵۰ مورد مرگ) با تشخیص قطعی ابتلا به COVID-19 (مثبت شدن تست Real-Time RT-PCR نمونه های سوآپ نازوفارنکس) بستری در مرکز آموزشی و درمانی شهید صیاد شیرازی شهر گرگان طی سال ۱۳۹۹ انجام شد. یافته های بالینی و آزمایشگاهی در دو گروه از بیماران مقایسه گردید. اسیدنوکلئیک ویروس از نمونه های خون تام بیماران استخراج شد و با استفاده از پرایمر و پروب های اختصاصی کیت و با روش Real-Time RT-PCR بررسی حضور ژنوم ویروس انجام شد.

یافته ها: سن بهبودیافتگان (۶۱/۵±۴۹ سال) به طور معنی داری کمتر از سن فوت شدگان (۷۴/۳±۵۸ سال) بود ($P<۰/۰۵$). علایم بالینی شامل سرفه، تنگی نفس، ترشح خلط و تهوع در فوت شدگان در مقایسه با بهبودیافتگان به طور معنی داری بیشتر بود ($P<۰/۰۵$). تعداد لنفوسیت ها و سطح پلاکت در بیماران فوت شده در مقایسه با بهبودیافتگان پایین تر و سطح آنزیم لاکتات دهیدروژناز بالاتر بود ($P<۰/۰۵$). ژنوم SARS-CoV-2 در نمونه خون ۷ بیمار شامل ۳ بیمار بهبود یافته و ۴ بیمار فوت شده شناسایی گردید که با پیامد بیماری ارتباط آماری معنی داری نشان نداد.

نتیجه گیری: استفاده از نمونه خون به منظور تشخیص ژنوم ویروس COVID-19 نامناسب ارزیابی شد.

واژه های کلیدی: کووید-۱۹، سارس کرونا ویروس ۲، تست اسیدنوکلئیک کووید-۱۹

* نویسنده مسئول: دکتر علیرضا تهمتن، پست الکترونیکی alireza.tmn@gmail.com

نشانی: گرگان، ابتدای جاده قدیم گرگان به کردکوی، مجموعه آموزش عالی (شادروان فلسفی) دانشگاه علوم پزشکی گلستان، دانشکده پزشکی، گروه میکروب شناسی

تلفن ۰۱۷-۳۲۴۲۱۶۵۱، نمابر ۳۲۴۴۰۲۲۵

وصول ۱۴۰۰/۲/۲۸ اصلاح نهایی ۱۴۰۰/۸/۲۵ پذیرش ۱۴۰۰/۸/۳۰ انتشار ۱۴۰۰/۱۲/۲۱

مقدمه

(Sever Acute Respiratory Syndrome Corona Virus 1: SARS-CoV-1) توسط

کمیته بین المللی نامگذاری ویروس ها، به نام سارس کرونا ویروس ۲ (SARS-CoV-2) نامگذاری گردید.^۱ این ویروس از گیرنده آنزیم مبدل آنژیوتانسین ۲ استفاده می کند. البته گیرنده های کمکی دیگری نیز برای این ویروس شناسایی شده اند.^۲ گیرنده آنزیم مبدل آنژیوتانسین ۲ به میزان بالا در روده باریک، بیضه، کلیه، قلب،

در اواخر دسامبر ۲۰۱۹ پنومونی کشنده از شهر ووهان کشور چین گزارش شد که به تدریج به تمام دنیا گسترش یافت. این بیماری تهدید کننده حیات بشر توسط سازمان بهداشت جهانی به نام بیماری کووید-۱۹ (Corona Virus Disease 2019: COVID-19) نامگذاری شد. همچنین به دلیل شباهت عامل بیماری با ویروس سارس کرونا ویروس ۱

تیروئید و به میزان متوسط در ریه، روده بزرگ، مثانه، کبد، غده آدرنال و به میزان کم در سلول‌های خونی، طحال، مغز استخوان و مغز بیان می‌شود.^۳ عمدتاً SARS-CoV-2 به‌طور مستقیم از طریق قطرات تنفسی نظیر عطسه یا سرفه و یا به‌صورت غیرمستقیم منتقل می‌شود؛ اما راه‌های محتمل دیگری شامل انتقال از هوا، مدفوعی-دهانی، خون و مشتقات آن نظیر سرم و پلاسما، چشم، انتقال مکانیکی توسط حشرات، عفونت داخل رحمی، مایع آمنیوتیک، خون بندناف و شیردهی نیز مطرح هستند.^{۴-۶} به‌طور کلی بیماری COVID-19 دارای چهار مرحله است. الف) مرحله بدون علامت بالینی (Asymptomatic) با یا بدون ویروس قابل تشخیص؛ ب) مرحله علامت‌دار (Symptomatic) یا دارای علائم خفیف با حضور ویروس در بدن؛ ج) مرحله شدید (Critical) با تیر بالای از ویروس و د) مرحله بهبودی (Recovery) که دارا یا فاقد ویروس قابل تشخیص در بدن است.^۷ برای تشخیص ویروس از روش مولکولی Real-Time RT-PCR که تستی حساس و دقیق است؛ استفاده می‌شود.^۸ تشخیص مستقیم ژنوم ویروس از نمونه سوآپ حلق و بینی گزینه اول پیشنهادی توسط WHO و FDA است که بایستی در زمان مناسب و با دقت انجام شود. علی‌رغم حساسیت بالای این تست، در تشخیص COVID-19 دارای بیش از ۳۰ درصد منفی کاذب است.^۹ وجود منفی کاذب بالا در این تست می‌تواند به خاطر عوامل مختلفی نظیر نوع نمونه، کیفیت و کمیت نمونه‌ها، زمان نمونه‌گیری، نحوه استخراج ژنوم و انجام تست، میزان مهارت کارکنان، کیفیت کیت‌های مورد استفاده و تغییرات در ژنوم ویروس باشد.^{۱۰} اگرچه RT-PCR استاندارد طلایی برای تشخیص اسید نوکلئیک است؛ اما عملکرد آنها برای تجزیه و تحلیل نمونه به غلظت کافی از RNA ویروسی در نمونه بیمار نیاز دارد. این می‌تواند یک عیب اساسی باشد. زیرا غلظت RNA ویروسی در نمونه بیمار ثابت نیست و نمی‌توان مقدار آنها را کنترل کرد. اگرچه بهترین نمونه برای شناسایی ویروس در روزهای نخستین، سوآپ نازوفارنکس و در روزهای آتی، نمونه‌های گرفته شده از دستگاه تنفس تحتانی است؛ لیکن نمونه‌های متعددی همچون سوآپ گلو، خون و مدفوع نیز می‌تواند برای شناسایی استفاده شود. البته به‌طور قابل توجهی درصد جداسازی RNA ویروسی در این نمونه‌ها کاهش می‌یابد.^{۱۱، ۱۲}

حضور ذرات ویروسی یا سلول‌های عفونی در خون می‌تواند نشانگر مهمی از تخریب بافت ریه و پخش شدن ویروس‌ها یا ذرات عفونی در گردش خون باشد. همچنین می‌تواند با طوفان سایتوکائینی یا وضعیت بیماری نیز مرتبط باشد.^{۱۳} زمان خونگیری و وضعیت بیماری در میزان تشخیص ژنوم ویروس در خون موثر است.^{۱۴} در خصوص شناسایی ژنوم ویروس در خون و احتمال انتقال ویروس از طریق خون اطلاعات دقیقی در دسترس نیست و گزارشات در این

خصوص ضد و نقیض است. بررسی نمونه‌های گرفته شده از بخش‌های مختلف بدن سبب بهبود حساسیت تشخیص و کاهش نتایج منفی کاذب خواهد شد. لذا این مطالعه به منظور شناسایی ژنوم SARS-CoV-2 در نمونه خون بیماران مبتلا به COVID-19 انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه توصیفی - تحلیلی به روش سرشماری بر روی ۱۰۰ نمونه خون تام بیماران با تشخیص قطعی ابتلا به COVID-19 بستری در مرکز آموزشی و درمانی شهید صیاد شیرازی شهر گرگان طی سال ۱۳۹۹ انجام شد.

این مطالعه در کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی گلستان (IR.GOUMS.REC.1399.007) مورد تایید قرار گرفت.

نمونه خون از بخش مراقبت‌های ویژه و سایر بخش‌ها اخذ شد و بیماران با توجه به پیامد بیماری به دو گروه بهبود یافته (۵۰ نفر) و فوت شده (۵۰ نفر) تقسیم شدند. تست Real-Time RT-PCR نمونه‌های سوآپ نازوفارنکس بیماران مثبت شده بود.

اطلاعات دموگرافیک، بالینی و آزمایشگاهی با استفاده از پرسشنامه و از طریق پرونده بیماران با مجوز کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی گلستان دریافت گردید. برای شناسایی ژنوم SARS-CoV-2 در نمونه خون، ابتدا RNA ویروسی با استفاده از کیت و مطابق دستورالعمل شرکت (پیشگامان انتقال ژن، ایران) استخراج گردید. بررسی حضور ژنوم ویروس با روش Real-Time RT-PCR و با استفاده از TaqMan PCR Master Mix شرکت (پیشاز طب، ایران) که به صورت One step است و نیز با استفاده از توالی‌های پرایمر و پروب‌های طراحی شده برای ژن نوکلئوپروتئین (N) و ORF1ab انجام شد. مراحل طبق گایدلاین آزمایشگاه کشوری کروناویروس و پروتکل کیت و با استفاده از دستگاه Real-Time (ABI PRISM 7900, USA) در آزمایشگاه مرجع کرونا ویروس استان گلستان به عمل آمد.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-22 تجزیه و تحلیل شدند. برای بررسی متغیرهای کمی با توزیع نرمال از آزمون T-test، برای داده‌های غیر نرمال از آزمون من ویتنی و برای متغیرهای کیفی از آزمون کای دو استفاده گردید. سطح معنی‌داری آزمون‌ها کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

تعداد مردان و زنان هر دو گروه بهبود یافته و فوت شده ۵۰ نفر بود. میانگین سنی کل بیماران $52/01 \pm 18/02$ سال بود. میانگین سنی گروه بهبود یافته $49/06 \pm 15/1$ سال و گروه فوت شده $58/3 \pm 12/4$ سال تعیین شد که این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < 0/035$).

حاکی از آن است که سن بالاتر یک عامل خطر برای ابتلا به بیماری COVID-19 است.^{۱۵}

علائم بالینی شامل سرفه، تنگی نفس، ترشح خلط، تهوع و استفراغ در بیمارانی که فوت شدند در مقایسه با بیماران بهبودیافته به طور معنی داری بیشتر بود که نشان دهنده وخامت بیماری در گروه فوت شده است. تنگی نفس و اختلال در سطح هوشیاری جزو شایع ترین علائم در بیماران فوت شده است که بررسی و مشاهده علائم بالینی بیماران ممکن است به پزشکان در شناسایی و پیش آگهی کمک نماید.^{۱۶}

در یافته های آزمایشگاهی مشخص گردید که تعداد گلبول های سفید در گروه فوت شدگان نسبت به بهبود یافتگان بیشتر و تعداد لنفوسیت ها کمتر بوده است. این نتایج حاکی از اثر مستقیم و یا غیرمستقیم SARS-CoV-2 بر سیستم ایمنی به ویژه لنفوسیت ها است. در بررسی سطح پلاکت خون مشخص گردید که گروه فوت شده به طور معنی داری نسبت به گروه بهبودیافته سطح پلاکت کمتری داشتند؛ اما سطح آنزیم لاکتات دهیدروژناز در فوت شدگان بالاتر بود. نتایج مطالعه حاضر مطابق با نتیجه گیری سایر تحقیقات^{۱۷} نشان می دهد که این اختلالات آزمایشگاهی بیشتر در بیماران فوتی ناشی از بیماری COVID-19 مشاهده می شود؛ اما مکانیسم ایجاد کننده این موارد به طور دقیق مشخص نشده است. همچنین ژنوم SARS-CoV-2 در ۳ بیمار بهبود یافته و ۴ بیمار فوت شده شناسایی گردید که با پیامد بیماری ارتباط معنی داری نداشت.

انتخاب نمونه مناسب در زمان درست با توجه به دفع ویروس (shedding) از نمونه های مختلف بدن حایز اهمیت است که چالش هایی در این زمینه وجود دارد. مطالعات نشان داده اند ژنوم ویروس در نمونه خون یا سوآپ گرفته شده از مقعد بیمارانی که تست مولکولی آنها منفی بوده است؛ مثبت گزارش شده است.^{۱۸} این افراد می توانند ناقل بیماری باشند و افراد بیشتری را در جامعه آلوده کنند. بنابراین استفاده از دیگر نمونه های بدن برای اعتبار نتایج مهم است.^{۱۹} زمان خونگیری و وضعیت بیماری در میزان تشخیص ژنوم ویروس در خون موثر است. ژنوم این ویروس ممکن است با تعداد کمی کم در حدود ۱۰ درصد از نمونه های خون افرادی که قبل از روز ۲۸ ام گرفته شده باشند؛ یافت شود. اگر نمونه خون از افراد مبتلا به بیماری شدید و قبل از ۴ هفته اول گرفته شود؛ شانس تشخیص ژنوم ویروس در نمونه خون بیشتر خواهد بود.^{۲۰} میزان ژنوم ویروس در خون افراد مبتلا به تدریج از هفته اول افزایش یافته و به دنبال آن در هفته سوم کاهش می یابد. همچنین افراد با بیماری شدیدتر نسبت به افراد با علائم خفیف، دارای ژنوم بیشتری در سرم خود هستند.^{۲۱} در خصوص شناسایی ژنوم ویروس در خون عواملی نظیر شدت بیماری (بیمار بدون علامت، خفیف، متوسط، شدید) یا فازهای

علائم بالینی بدو بستری نظیر سرفه، تنگی نفس، ترشح خلط و تهوع در فوت شدگان در مقایسه با بهبودیافتگان به طور معنی داری بیشتر بود ($P < 0.05$) (جدول یک).

متغیرها	بهبود یافته تعداد (درصد)	فوت شده تعداد (درصد)	p-value
تب	۳۱ (۶۲)	۳۲ (۶۴)	۰/۷۲
سرفه	۱۱ (۲۲)	۴۲ (۸۴)	۰/۰۲۷
تنگی نفس	۲۱ (۴۲)	۳۰ (۶۰)	۰/۰۱۵
درد عضلاتی	۲۲ (۴۴)	۲۷ (۵۴)	۰/۵۲
سردرد	۱۴ (۲۸)	۱۹ (۳۸)	۰/۶۶
خلط	۲ (۴)	۸ (۱۶)	۰/۰۱
گلو درد	۳ (۶)	۴ (۸)	۰/۸۸
اسهال	۱ (۲)	۳ (۶)	۰/۸۶
تهوع	۰ (۰)	۳ (۶)	۰/۰۳۶

تعداد گلبول های سفید در بیماران فوت شده نسبت به بیماران بهبود یافته بیشتر بود ($P < 0.049$). تعداد لنفوسیت ها ($P < 0.049$) و سطح پلاکت ($P < 0.021$) در فوت شدگان نسبت به بهبودیافتگان به طور معنی داری کمتر بود. سطح آنزیم لاکتات دهیدروژناز در بیماران فوت شده نسبت به بیماران بهبود یافته بالاتر بود ($P < 0.033$) (جدول ۲). ژنوم SARS-CoV-2 در ۷ نفر از بیماران شامل ۳ بیمار بهبود یافته (۲ بیمار زن و یک بیمار مرد) و ۴ بیمار فوت شده (۲ بیمار زن و ۲ بیمار مرد) شناسایی گردید. این یافته با پیامد بیماری ارتباط آماری معنی داری نشان نداد.

متغیرها	بهبود یافته	فوت شده	p-value
WBC ($\times 10^3 / \mu\text{L}$)	۹/۱	۱۰/۱	۰/۰۴۹
RBC ($\times 10^6 / \mu\text{L}$)	۳/۹	۳/۳	۰/۹۴
HB (mg/dl)	۱۱/۹۱	۱۱/۳۹	۰/۶۶
HCT (%)	۳۵/۰۵	۳۵/۸۰	۰/۵۷
MCV (fl)	۸۶/۱۳	۸۶/۰۲	۰/۸۶
MCH (pg)	۲۸/۹	۲۷/۹۹	۰/۶۹
MCHC (ug/dl)	۳۳/۱۳	۳۴/۰۵	۰/۶۵
PLT (mm ³ /μl)	۲۰۰۴۰۰	۱۷۰۵۱۰	۰/۰۲۱
Rdw-sd (fl)	۴۸/۱۱	۴۸/۳۴	۰/۶۹
Urea (mg/dl)	۶۱/۰۵	۶۰/۰۶	۰/۷۵
Creatinine (mg/dl)	۱/۴۹	۱/۹	۰/۸۱
AST (IU/L)	۸۹/۰۳	۷۴/۴۶	۰/۵۶
ALT (IU/L)	۴۷/۲۱	۵۰/۰۷	۰/۶۴
ALP (IU/L)	۱۸۱/۰۸	۱۹۱/۱	۰/۵۴
LDH (U/L)	۶۹۰/۱۱	۸۶۷/۳	۰/۰۳۳
Ca (mg/dL)	۷/۴	۷/۷	۰/۶۷
P (mg/dL)	۳/۹	۳/۹۹	۰/۸۸
PMN (%)	۸۱/۸۸	۸۶/۴	۰/۶۹
Lymph (%)	۱۲/۰۷	۱۰/۲۳	۰/۰۳۸
Eosinophil (%)	۱/۹	۱/۷	۰/۶۸

بحث

با توجه به نتایج مطالعه حاضر، میانگین سنی بیماران فوت شده نسبت به بیماران بهبود یافته به طور معنی داری بالاتر بود. داده ها

جدول ۳: مروری بر مطالعات انجام شده درخصوص تشخیص ژنوم SARS-CoV-2 با استفاده از نمونه های خون				
منبع	یافته اصلی	تعداد نمونه	نوع نمونه	کشور
Yu و همکاران ^{۲۲}	عدم شناسایی ژنوم ویروس در کل نمونه	۴ بیمار کووید قطعی	خون تام	چین
Xie و همکاران ^{۲۳}	عدم شناسایی ژنوم ویروس در کل نمونه	۹ بیمار کووید قطعی	خون تام	چین
Wang و همکاران ^{۲۴}	۳ نمونه دارای ژنوم ویروس	۳۰۷ بیمار کووید قطعی	خون تام	چین
Young و همکاران ^{۲۵}	یک نمونه دارای ژنوم ویروس	۱۲ بیمار کووید قطعی بستری	خون تام	چین
Wu و همکاران ^{۲۶}	۴ نمونه دارای ژنوم ویروس	۱۳۲ بیمار کووید قطعی بستری	خون تام	چین
جوکار و همکاران ^{۱۲}	۲۴ نمونه دارای ژنوم ویروس	۱۰۰ بیمار کووید قطعی	خون تام	ایران
Lescure و همکاران ^{۲۷}	یک نمونه دارای ژنوم ویروس	۵ بیمار کووید قطعی بستری	پلاسما	فرانسه
Duan و همکاران ^{۲۸}	۷ نمونه دارای ژنوم ویروس	۱۰ بیمار کووید قطعی	پلاسما	چین
Chen و همکاران ^{۲۹}	۵ نمونه دارای ژنوم ویروس	۴۸ بیمار کووید قطعی بستری	پلاسما	چین
Chen و همکاران ^{۳۰}	۶ نمونه دارای ژنوم ویروس	۵۷ بیمار کووید قطعی بستری	پلاسما	چین
Huang و همکاران ^{۳۱}	۶ نمونه دارای ژنوم ویروس	۴۱ بیمار کووید قطعی بستری	پلاسما	چین
Okwuraibe و همکاران ^{۳۲}	۶ نمونه دارای ژنوم ویروس	۱۲۵ نمونه پلاسما	پلاسما	نیجریه
Colagrossi و همکاران ^{۳۳}	۸ نمونه دارای ژنوم ویروس ۴ نمونه در گروه فوت شدگان	۴۱ بیمار COVID-19 قطعی (۷ بیمار فوت شده و ۳۴ بیمار بهبود یافته)	پلاسما	ایتالیا
Jiehao و همکاران ^{۳۴}	عدم شناسایی ژنوم ویروس در کل نمونه	۵ بیمار کووید قطعی	سرم	چین
Wölfel و همکاران ^{۳۵}	عدم شناسایی ژنوم ویروس در کل نمونه	۹ بیمار کووید قطعی	سرم	آلمان
Zheng و همکاران ^{۳۶}	۳۹ نمونه دارای ژنوم ویروس	۹۶ بیمار کووید قطعی بستری	سرم	چین
COVID-19 Investigation Team ^{۳۷}	یک نمونه دارای ژنوم ویروس	۱۱ بیمار کووید قطعی بستری	سرم	آمریکا
Peng و همکاران ^{۳۸}	۲ نمونه دارای ژنوم ویروس	۹ بیمار کووید قطعی بستری	سرم	چین
Corman و همکاران ^{۳۹}	یک نمونه دارای ژنوم ویروس	۱۸ بیمار کووید قطعی بستری	سرم	آلمان
Hogan و همکاران ^{۴۰}	۲۸ نمونه دارای ژنوم ویروس	۸۵ بیمار کووید قطعی بستری	سرم	آمریکا

نمونه های خون در جدول ۳ آمده است. از محدودیت های این مطالعه می توان به تعداد کم نمونه ها و عدم دسترسی به نمونه خون در بدو بستری اشاره نمود.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان دهنده نامناسب بودن نمونه خون به منظور تشخیص بیماری COVID-19 بود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی (شماره ۱۱۱۵۳۹ مورخ ۱۳۹۹/۱/۱۴) مصوب معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی گلستان بود. بدین وسیله از تمامی کارکنان مرکز آموزشی درمانی شهید صیاد شیرازی گرگان سپاسگزاری می گردد.

References

- Ganesh B, Rajakumar T, Malathi M, Manikandan N, Nagaraj J, Santhakumar A, et al. Epidemiology and pathobiology of SARS-CoV-2 (COVID-19) in comparison with SARS, MERS: An updated overview of current knowledge and future perspectives. Clin Epidemiol Glob Health. 2021 Apr-Jun; 10: 100694. DOI: 10.1016/j.cegh.2020.100694
- Samadzadeh S, Masoudi M, Rastegar M, Salimi V, Shahbaz MB, Tahamtan A. COVID-19: Why does disease severity vary among individuals? Respir Med. 2021 Apr-May; 180: 106356. DOI: 10.1016/j.rmed.2021.106356
- Chen F, Zhang Y, Li X, Li W, Liu X, Xue X. The Impact of ACE2 Polymorphisms on COVID-19 Disease: Susceptibility, Severity, and Therapy. Front Cell Infect Microbiol. 2021 Oct; 11: 753721. DOI: 10.3389/fcimb.2021.753721
- Peng L, Khan S, Ali A, Ahmed S, Ali L, Han G, et al. Vertical transmission potential of SARS-CoV-2 from infected mother to

مختلف بیماری، نوع واریانت و ویروسی، داشتن بیماری های زمینه ای یا بیماری های مزمن، حساسیت و اختصاصیت کیت تشخیصی، زمان درست نمونه گیری و حجم نمونه مورد بررسی ممکن است در گسیختگی گزارشات صورت گرفته از نقاط مختلف دنیا اثرگذار باشد.^{۳۳،۳۵} برخی از مطالعات نیز هیچ ژنومی را در خون افراد مبتلا به بیماری تشخیص نداده اند؛^{۲۲،۲۳،۲۴،۳۵} که متناقض با یافته مطالعه حاضر و سایر یافته های گزارش شده است.^{۳۲-۳۴،۳۶-۴۰} برخی از مطالعات انجام شده بر روی نمونه خون بیماران بیان می کنند که فراوانی ژنوم ویروس در افراد دارای علائم شدید نسبت به علائم خفیف بیشتر بوده است.^{۳۰،۳۳،۴۱-۴۲} در مطالعه ما و مطالعات دیگران ارتباط معنی داری با شدت بیماری مشاهده نشد.^{۲۹،۳۱،۳۶،۴۳} مروری بر مطالعات انجام شده برای تشخیص ژنوم SARS-CoV-2 با استفاده از

- twin neonates. Future Virol. 2021 May; 10.2217/fvl-2020-0324. DOI: 10.2217/fvl-2020-0324
- He Y, Wang J, Ren J, Zhao Y, Chen J, Chen X. Effect of COVID-19 on Male Reproductive System - A Systematic Review. Front Endocrinol (Lausanne). 2021 May; 12: 677701. DOI: 10.3389/fendo.2021.677701
- Balaraman V, Drolet BS, Mitzel DN, Wilson WC, Owens J, Gaudreault NN, et al. Mechanical transmission of SARS-CoV-2 by house flies. Parasit Vectors. 2021 Apr; 14(1): 214. DOI: 10.1186/s13071-021-04703-8
- Shi L, Ding R, Zhang T, Wu W, Wang Z, Jia X, et al. Comparative Characterization and Risk Stratification of Asymptomatic and Presymptomatic Patients With COVID-19. Front Immunol. 2021 Jul; 12: 700449. DOI: 10.3389/fimmu.2021.700449
- Tahamtan A, Ardebili A. Real-time RT-PCR in COVID-19

- detection: issues affecting the results. *Expert Rev Mol Diagn.* 2020 May; 20(5): 453-54. DOI: 10.1080/14737159.2020.1757437
9. Clerici B, Muscatello A, Bai F, Pavanello D, Orlandi M, Marchetti GC, et al. Sensitivity of SARS-CoV-2 Detection With Nasopharyngeal Swabs. *Front Public Health.* 2021 Jan; 8: 593491. DOI: 10.3389/fpubh.2020.593491
10. Parvu V, Gary DS, Mann J, Lin YC, Mills D, Cooper L, et al. Factors that Influence the Reported Sensitivity of Rapid Antigen Testing for SARS-CoV-2. *Front Microbiol.* 2021 Oct 5;12:714242. DOI: 10.3389/fmicb.2021.714242
11. Rabaan AA, Tirupathi R, Sule AA, Aldali J, Mutair AA, Alhumaid S, et al. Viral Dynamics and Real-Time RT-PCR Ct Values Correlation with Disease Severity in COVID-19. *Diagnostics (Basel).* 2021 Jun; 11(6): 1091. DOI: 10.3390/diagnostics11061091
12. Joukar F, Yaghubi Kalurazi T, Khoshsorour M, Taramian S, Mahfooz L, Balou HA, et al. Persistence of SARS-CoV-2 RNA in the nasopharyngeal, blood, urine, and stool samples of patients with COVID-19: a hospital-based longitudinal study. *Virology.* 2021 Jul; 18(1): 134. DOI: 10.1186/s12985-021-01599-9
13. Melo AKG, Milby KM, Caparroz ALMA, Pinto ACPN, Santos RRP, Rocha AP, et al. Biomarkers of cytokine storm as red flags for severe and fatal COVID-19 cases: A living systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2021 Jun; 16(6): e0253894. DOI: 10.1371/journal.pone.0253894
14. Rodríguez-Serrano DA, Roy-Vallejo E, Zurita Cruz ND, Martín Ramírez A, Rodríguez-García SC, Arevalillo-Fernández N, et al. Detection of SARS-CoV-2 RNA in serum is associated with increased mortality risk in hospitalized COVID-19 patients. *Sci Rep.* 2021 Jun; 11(1): 13134. DOI: 10.1038/s41598-021-92497-1
15. Bajaj V, Gadi N, Spilman AP, Wu SC, Choi CH, Moulton VR. Aging, Immunity, and COVID-19: How Age Influences the Host Immune Response to Coronavirus Infections? *Front Physiol.* 2021 Jan; 11: 571416. DOI: 10.3389/fphys.2020.571416
16. Sobhani S, Aryan R, Kalantari E, Soltani S, Malek N, Pirzadeh P, et al. Association between Clinical Characteristics and Laboratory Findings with Outcome of Hospitalized COVID-19 Patients: A Report from Northeast Iran. *Interdiscip Perspect Infect Dis.* 2021 Feb; 2021: 5552138. DOI: 10.1155/2021/5552138
17. Serrano-Lorenzo P, Coya ON, López-Jimenez A, Blázquez A, Delmiro A, Lucia A, et al. Plasma LDH: A specific biomarker for lung affection in COVID-19? *Pract Lab Med.* 2021 May; 25: e00226. DOI: 10.1016/j.plabm.2021.e00226
18. Turner JS, Day A, Alsoussi WB, Liu Z, O'Halloran JA, Presti RM, et al. SARS-CoV-2 Viral RNA Shedding for More Than 87 Days in an Individual With an Impaired CD8+ T Cell Response. *Front Immunol.* 2021 Jan; 11: 618402. DOI: 10.3389/fimmu.2020.618402
19. Glenet M, Lebreil AL, Heng L, N'Guyen Y, Meyer I, Andreoletti L. Asymptomatic COVID-19 Adult Outpatients identified as Significant Viable SARS-CoV-2 Shedders. *Sci Rep.* 2021 Oct; 11(1): 20615. DOI: 10.1038/s41598-021-00142-8
20. Liu Y, Liao W, Wan L, Xiang T, Zhang W. Correlation Between Relative Nasopharyngeal Virus RNA Load and Lymphocyte Count Disease Severity in Patients with COVID-19. *Viral Immunol.* 2021 Jun; 34(5): 330-35. DOI: 10.1089/vim.2020.0062
21. Richter E, Al Arashi D, Schulte B, Bode C, Marx B, Aldabbagh S, et al. Detectable SARS-CoV-2 RNAemia in Critically Ill Patients, but Not in Mild and Asymptomatic Infections. *Transfus Med Hemother.* 2021 May; 48(3): 154-60. DOI: 10.1159/000515841
22. Yu F, Yan L, Wang N, Yang S, Wang L, Tang Y, et al. Quantitative Detection and Viral Load Analysis of SARS-CoV-2 in Infected Patients. *Clin Infect Dis.* 2020 Jul; 71(15): 793-98. DOI: 10.1093/cid/ciaa345
23. Xie C, Jiang L, Huang G, Pu H, Gong B, Lin H, et al. Comparison of different samples for 2019 novel coronavirus detection by nucleic acid amplification tests. *Int J Infect Dis.* 2020 Apr; 93: 264-67. DOI: 10.1016/j.ijid.2020.02.050
24. Wang W, Xu Y, Gao R, Lu R, Han K, Wu G, Tan W. Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. *JAMA.* 2020 May; 323(18): 1843-44. DOI: 10.1001/jama.2020.3786
25. Young BE, Ong SWX, Kalimuddin S, Low JG, Tan SY, Loh J, et al. Epidemiologic Features and Clinical Course of Patients Infected With SARS-CoV-2 in Singapore. *JAMA.* 2020 Apr; 323(15): 1488-94. DOI: 10.1001/jama.2020.3204
26. Wu J, Liu J, Li S, Peng Z, Xiao Z, Wang X, et al. Detection and analysis of nucleic acid in various biological samples of COVID-19 patients. *Travel Med Infect Dis.* 2020 Sep-Oct; 37: 101673. DOI: 10.1016/j.tmaid.2020.101673
27. Lescure FX, Bouadma L, Nguyen D, Parisey M, Wicky PH, Behillil S, et al. Clinical and virological data of the first cases of COVID-19 in Europe: a case series. *Lancet Infect Dis.* 2020 Jun; 20(6): 697-706. DOI: 10.1016/S1473-3099(20)30200-0
28. Duan K, Liu B, Li C, Zhang H, Yu T, Qu J, et al. Effectiveness of convalescent plasma therapy in severe COVID-19 patients. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2020 Apr; 117(17): 9490-96. DOI: 10.1073/pnas.2004168117
29. Chen X, Zhao B, Qu Y, Chen Y, Xiong J, Feng Y, et al. Detectable Serum Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Viral Load (RNAemia) Is Closely Correlated With Drastically Elevated Interleukin 6 Level in Critically Ill Patients With Coronavirus Disease 2019. *Clin Infect Dis.* 2020 Nov; 71(8): 1937-42. DOI: 10.1093/cid/ciaa449
30. Chen W, Lan Y, Yuan X, Deng X, Li Y, Cai X, et al. Detectable 2019-nCoV viral RNA in blood is a strong indicator for the further clinical severity. *Emerg Microbes Infect.* 2020 Feb; 9(1): 469-73. DOI: 10.1080/22221751.2020.1732837
31. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020 Feb; 395(10223): 497-506. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5
32. Okwuraiwe AP, Onwuamah CK, Shaibu JO, Amoo SO, Ige FA, James AB, et al. Low level SARS-CoV-2 RNA detected in plasma samples from a cohort of Nigerians: Implications for blood transfusion. *PLoS One.* 2021 Jun; 16(6): e0252611. DOI: 10.1371/journal.pone.0252611
33. Colagrossi L, Antonello M, Renica S, Merli M, Matarazzo E, Travi G, et al. SARS-CoV-2 RNA in plasma samples of COVID-19 affected individuals: a cross-sectional proof-of-concept study. *BMC Infect Dis.* 2021 Feb; 21(1): 184. DOI: 10.1186/s12879-021-05886-2
34. Jiehao C, Jin X, Daojiong L, Zhi Y, Lei X, Zhenghai Q, et al. A Case Series of Children With 2019 Novel Coronavirus Infection: Clinical and Epidemiological Features. *Clin Infect Dis.* 2020 Sep; 71(6): 1547-51. DOI: 10.1093/cid/ciaa198
35. Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange S, Müller MA, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature.* 2020 May; 581(7809): 465-69. DOI: 10.1038/s41586-020-2196-x
36. Zheng S, Fan J, Yu F, Feng B, Lou B, Zou Q, et al. Viral load dynamics and disease severity in patients infected with SARS-

- CoV-2 in Zhejiang province, China, January-March 2020: retrospective cohort study. *BMJ*. 2020 Apr; 369: m1443. DOI: 10.1136/bmj.m1443
37. COVID-19 Investigation Team. Clinical and virologic characteristics of the first 12 patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) in the United States. *Nat Med*. 2020 Jun; 26(6): 861-68. DOI: 10.1038/s41591-020-0877-5
38. Peng L, Liu J, Xu W, Luo Q, Chen D, Lei Z, et al. SARS-CoV-2 can be detected in urine, blood, anal swabs, and oropharyngeal swabs specimens. *J Med Virol*. 2020 Sep; 92(9): 1676-80. DOI: 10.1002/jmv.25936
39. Corman VM, Rabenau HF, Adams O, Oberle D, Funk MB, Keller-Stanislawski B, et al. SARS-CoV-2 asymptomatic and symptomatic patients and risk for transfusion transmission. *Transfusion*. 2020 Jun; 60(6): 1119-22. DOI: 10.1111/trf.15841
40. Hogan CA, Stevens BA, Sahoo MK, Huang C, Garamani N, Gombar S, et al. High Frequency of SARS-CoV-2 RNAemia and Association With Severe Disease. *Clin Infect Dis*. 2021 May; 72(9): e291-e295. DOI: 10.1093/cid/ciaa1054
41. Mancuso P, Gidaro A, Gregato G, Raveane A, Cremonesi P, Quarna J, et al. Circulating endothelial progenitors are increased in COVID-19 patients and correlate with SARS-CoV-2 RNA in severe cases. *J Thromb Haemost*. 2020 Oct; 18(10): 2744-50. DOI: 10.1111/jth.15044
42. Chang L, Zhao L, Gong H, Wang L, Wang L. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 RNA Detected in Blood Donations. *Emerg Infect Dis*. 2020 Jul; 26(7): 1631-33. DOI: 10.3201/eid2607.200839
43. Fang Z, Zhang Y, Hang C, Ai J, Li S, Zhang W. Comparisons of viral shedding time of SARS-CoV-2 of different samples in ICU and non-ICU patients. *J Infect*. 2020 Jul; 81(1): 147-78. DOI: 10.1016/j.jinf.2020.03.013