Republic of Iraq
Ministry of Higher Education
and Scientific Research
University of Diyala
College of Science
Department of Biology

Immunological and Biochemical Study of COVID-19 Patients

A Thesis
Submitted to the Council of College of Science/University of Diyala in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Biology

by

Mushtaq Karim Mash Abbas Al-Shammari
B.Sc. Biology/ University-Madenat Alelem

(2017)

Supervised by
Prof. Dr. Ibrahim Hadi Muhammed

2022 A.C **1444 A.H**

Introduction

Corona Virus Disease 2019 (COVID-19) is RNA virus that was discovered in Wuhan, China in December 2019 with a typical crown-like look under an electron microscope due to the presence of glycoprotein spikes on its envelope, and caused a 2% mortality risk (Huang *et al*., 2020a). This disease is caused by infection with Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) zoonotic virus, which has recently emerged (Rodriguez-Morales *et al*., 2020).

Coronaviruses (CoVs) are a big family of respiratory viruses, that can cause diseases reaching from common cold, to middle east respiratory syndrome (MERS), and severe acute respiratory syndrome (SARS) which both cause fatal lower respiratory tract infection and extra pulmonary manifestations (Al-Tawfiq *et al*., 2019). Coronaviruses are small (64-125 nm in diameter) and contain a single-stranded RNA that ranges in size from 25 to 32 kilo-bases (kb). The coronavirus family is divided into four subgroups: alpha (α), beta (β), gamma (γ), and delta (δ) (Shereen *et al*., 2020).

COVID-19 can have a two-week incubation time or perhaps longer (WHO, 2020a). The disease may still be infectious through the latent infection period. Respiratory droplets and close touch can spread the virus from person to person (Topcuoglu, 2020).

Cytokine release syndrome (CRS) may play a substantial role in severe COVID-19, according to evidence. Interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6), interleukin-2 (IL-2), induced protein 10 (IP10), and monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) were significantly elevated in COVID-19 patients, and some were more usually seen in severe patients than in non-severe patients (Yang *et al*., 2020).

Acute respiratory distress syndrome (ARDS) is a common complication when disease cannot be controlled (She *et al*., 2020). About 10% of patients who are actively infected require ARDS treatment with extended activated thromboplastin time, muscular enzyme level ,elevated C-reactive protein, lymphocytes, total white blood count, and platelets are lower than the usual. The amount of lymphocytes in the body decreases as the disease progresses. Cytokine storm, or the secretion of cytokines such as IL1RA, IL1B, IL6, IL2, and IL8, is related to illness severity (Dong *et al*., 2020).

Immunoassays are commonly used in clinical practice to determine and monitor complement activation by measuring specific components, such as the complement proteins C3 and C4. complement C3 and C4 testing in COVID-19 patients may provide helpful information on the balance between 'physiological' and 'abnormal' complement activation, as well as overall clinical risk (Ramaiah *et al*., 2021).

Aim of Study

To evaluate the role of some immunological , biochemical and hematological parameters pathogenesis of Covid-19 (i.e severity of disease) by:

1. Evaluation the serum levels of interleukin-2 and interleukin-6 in patients with Covid-19 compared with healthy control.
2. Evaluation the serum levels of complement (C3) and complement (C4) among patients with Covid-19 compared with healthy control.
3. Evaluation the serum levels of biochemical and Immunological indicators (Urea, Creatinine, Lactate Dehydrogenase, C-Reactive Protein, D- Dimer and Ferritin) among patients with Covid-19 compared with healthy control.
4. Evaluation of hematological parameters among patients with Covid-19 compared to healthy controls (ESR and CBC).

الخلاصة

اشتملت الدراسة الحالية على جمع 130 عينة سريرية (مسحات من الانف والبلعوم والدم) ومن كلا الجنسين وأعمار تتراوح بين (18-65) ,من المرضى الذين تم إدخالهم إلى وحدة المراقبة الوبائية في قسم الطوارئ في مستشفى بعقوبة التعليمي في ديالى ومستشفى العطاء ومستشفى ضاري الفياض في بغداد في الفترة من 5 سبتمبر إلى 2 ديسمبر 2021. تم إهمال أربعين عينة لأن الحالات كانت خفيفة وليست شديدة.

تم تشخيص جميع العينات باستخدام الاختبار السريع للأضداد (IgG و IgM) و النسخ العكسي لتفاعل البوليميراز المتسلسل (RT-PCR) للتأكد من إصابتهم بـ فايروس COVID-19. وأظهرت النتائج أن 67٪ أصيبوا بـ COVID-19 بينما 33٪ لم يصابوا تم اختيارهم ليمثلوا المجموعة الضابطة . أظهرت RT-PCR و IgG و IgM إصابة بـ COVID-19 بنسبة 53 (88.3٪) و 27 (45٪) و 29 (48.3٪) على التوالي ، بينما أظهرت مجموعة السيطرة 5 (16.7٪) و 4 (13.3٪) و 3 (10٪) على التوالي. كان العدد الإجمالي للمرضى المصابين ب COVID-19 60 (45%)27 منهم من الذكور و 33 (55%) ، كانوا من الإناث ، بالمقارنة مع الاشخاص الاصحاء 30 ، كانت نسبة الذكور 17 (56.7%) بينما كانت نسبة الاناث 13 (43.3%).

تم تقسيم المرضى إلى أربع فئات ؛ (18-30) سنة ، (31-41) سنة ، (42-52) سنة و (53-65) سنة. كان أعلى عدد للمرضى 28 (46.6%) في الفئة العمرية 18-30 سنة ، تليها 20 (33.3%) في الفئة العمرية 31-41 سنة ، تليها 9 (15%) الفئة العمرية 42-52. في حين لوحظ انخفاض التكرار 3 (5%) حالات ضمن الفئة العمرية 53-65 سنة. بينما لوحظ ارتفاع نسبة 53.3 % في المجموعة العمرية 31-41 سنة في المجموعة السيطرة وتوجد حالة واحدة (3.3%) في نفس المجموعة 53-65 سنة بعد تقسيمها بنفس الطريقة.

تم استخدام المقايسة الامتصاصيَّة المناعيَّة للإنزيم المرتبط (ELISA) للكشف عن الانترلوكين-6 و الانترلوكين 2 في مصل الدم. متوسط مستوى المصل لـ IL-6 في مصل المريض المصاب بـ -COVID 19 والسيطرة (71.88 ± 7.32 و 41.14 ± 4.28) نانوغرام / مل على التوالي. يظهر التحليل الإحصائي أن هناك فرقا معنويا ($P = 0.001$) عند تركيز الانترلوكين-6 . بينما متوسط مستوى المصل لـ -2IL في