



KLİMİK

TÜRK KLİNİK MİKROBİYOLOJİ VE
İNFEKSİYON HASTALIKLARI DERNEĞİ



Tükrükteki anti-SARS-CoV2 antikorlarını, hızlı antijen testlerine müdahalesi ve COVID-19 taşıyıcılarının hızlı tanımlanmasında yeni bir yöntem

Doç. Dr Mehtap Aydın

SBÜ, Ümraniye Eğitim Araştırma Hastanesi
İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji

Giriş

- SARS-CoV-2 ile infekte kişiler, asemptomatik olsalar bile solunum salgılarında bu virüsü taşıdıkları için bulaştırıcılardır.
- COVID-19'un yayılması ancak erken teşhis ve sıkı izolasyon yöntemleriyle yavaşlatılabilir.
- Tanı için Nasofarengeal sürüntü PCR altın standart
- Teşhis yöntemleri için pratik stratejilerin belirlenmesi kritik öneme sahiptir.
- Antijen testleri taramada amaçlı
 - Aktif İnfeksiyonu tespit edebilen
 - Hızlı ve ucuz
- Tükürük testleri, nazofaringeal sürüntülerle benzer tanısal doğruluk
 - Numunelerin güvenli, basit ve hızlı bir şekilde alınmasını sağlar ve sağlık personeli için daha az maruz kalma riskleri vardır

Amaç

- Bu çalışmada, mikroorganizmaları ve makromoleküllerini MyMagiCon (MMC) (GigaBioMol, Bio-T, İstanbul, Türkiye) adlı yeni bir ürünle konsantre ederek
- Antijen testleri için gargara ve ağız çalkalama suyu kullanımının doğruluğunu araştırdık.

Materyal-Metod

- MyMagiCon[®], küçük molekülleri çözeltilerden hızla uzaklaştıran özel bir polimer baz içeren bir toz karışımıdır.
- Elastik polimer boncuklar, su ve diğer küçük moleküllerin emilmesi yoluyla hızla şişer, böylece mikroorganizmaları ve diğer makromolekülleri dışarıda bırakır ve konsantre eder.

Materyal-Metod

- 1 Mayıs ile 30 Haziran 2021 tarihleri arasında
- Prospektif, gözlemsel, kesitsel
- Ana sonlanım:
 - MyMagiCon ile ağız çalkantı suyunda antijen testinin duyarlılığı,
 - Nötralize edici antikörlerin tespiti

Materyal-Metod

- Gönüllülerden 20ml içme suyunu ağızlarında çalkalamaları ve gargara yapmaları ardından numune tüpüne dökmeleri istendi
- Örnek tüpüne MyMagiCon[®] tozu eklendi, polimerin diğer küçük moleküllerle birlikte suyu emmesi için beş dakika beklendi
- Kalan, konsantre edilmiş 0,5 ila 1,0 ml numune, mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı
- COVID-19 antijen testi için bir hızlı antijen test kasetine bir damla lizis tamponu ve iki damla konsantre gargara ve ağız çalkalama suyu uygulandı

Materyal-Metod

- MMC ile konsantre edilen gargara ve ağız çalkalama suyu hızlı antijen test sonuçları nazofaringeal sürüntü örneği sonuçlarıyla karşılaştırıldı

True positive <u>a</u>	False positive <u>b</u>
False negative <u>c</u>	True negative <u>d</u>

$$\text{Sensitivity} = \left[\frac{a}{a + c} \right] \times 100$$

$$\text{Specificity} = \left[\frac{d}{b + d} \right] \times 100$$

$$\text{Positive Predictive value (PPV)} = \left[\frac{a}{a + b} \right] \times 100$$

$$\text{Negative Predictive Value (NPV)} = \left[\frac{d}{c + d} \right] \times 100$$

True positive 65	False positive 8
False negative 35	True negative 341

$$\textit{Sensitivity} = \left[\frac{65}{65 + 35} \right] \times 100 = 65\%$$

$$\textit{Specificity} = \left[\frac{341}{8 + 341} \right] \times 100 = 97.7\%$$

$$\text{Positive Predictive value (PPV)} = \left[\frac{65}{65 + 8} \right] \times 100 = 89\%$$

$$\text{Negative Predictive Value (NPV)} = \left[\frac{341}{35 + 341} \right] \times 100 = 90.7\%$$

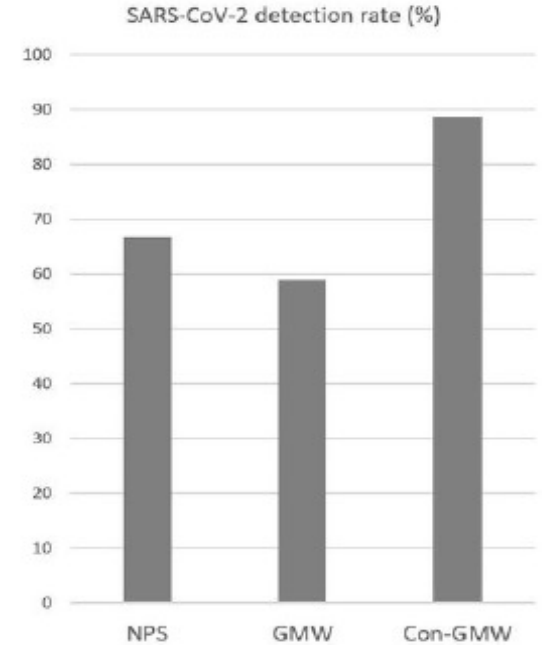
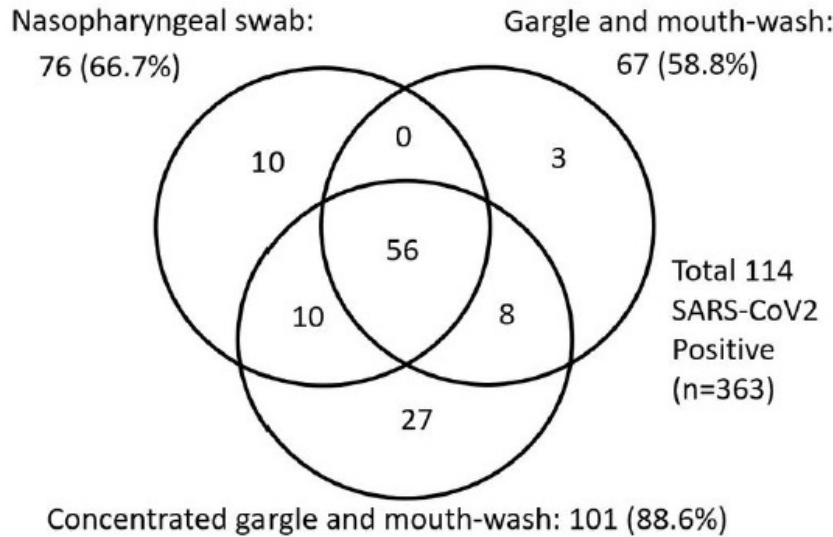
Bulgular

- Toplam 449 COVID-19 şüpheli gönüllüden örnekler toplandı
- Antijen testinin gargara ve ağız çalkalama suyundaki duyarlılığı %65, özgüllüğü %97,7 idi.

SARS-CoV-2 Antigen	NPS +	NPS -	Total (GMS)
GMS +	65	8	73
GMS -	35	341	376
Total (NPS)	100	349	449

- Önceki çalışmada, MMC konsantre gargara ve gargara örneklerinin performansı nazofaringeal sürüntü örneklerinden daha iyiydi (sırasıyla %88.6'ya karşı %66.7)

Kocagöz et al



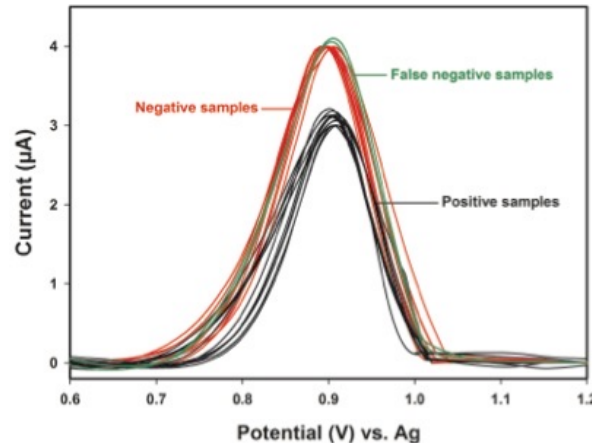
Duyarlılığın beklediğimizden düşük ?

İrdeleme

- IgA antikoru, SARS-CoV-2 spike proteinlerini nötralize ederek, SARS-CoV-2 hedef epitel hücrelerine yapışmayı önler
- SARS-CoV-2 nötralizasyonu, semptomların başlamasından sonra IgA ile başlatılır
- Tükürükteki IgA'nın, solunan tükürük damlacıklarının bulaşıcılığını azaltma, dolayısıyla viral bulaşmayı azaltma potansiyeli vardır

- 35 yanlış negatif örneği RT-PCR ile SARS-CoV-2 RNA'nın varlığını kontrol ettik.
- Bu numunelerin **14 pozitif** ve Ct (eşik) değerleri 30'un altındaydı, bu da test numuneleri içinde daha fazla sayıda SARS-CoV-2 kopyası olduğunu gösterir
- Gargara ve ağız çalkalama suyunda SARS-CoV-2'ye özgü antikorların varlığının olasılığını kontrol etmek için SARS-CoV-2'nin spike proteinleriyle kaplı bir elektrokimyasal biyosensör

- Toplam 28 numune analiz edildi;
 - 14 gerçek negatif ve 14 yanlış negatif idi.
- SARS-CoV-2 RNA'nın PCR testleri ile tespit edildiği 14 yanlış negatif numuneden 12'sinin SARS CoV2'ye özgü antikolar içerdiği bulundu (%86).



Sonuç

- Gargara örneklerinde antijenlerin azalmasından SARS-CoV-2'ye özgü IgA antikorlarının sorumlu olduğu ve dolayısıyla yanlış negatif sonuçlar oluşturduğuna
- Tükürükteki IgA ile nötralize edilmiş virüslerin artık bulaşıcı olmayabileceği sonucuna vardık.

Sonuç

- Gargara örneklerinde SARSCoV-2'ye özgü antijenlerin ve IgA antikorlarının eşzamanlı olarak belirlenmesi, infekte hastalar arasında COVID-19'un hassas bir şekilde saptanmasını sağlayacaktır

Kısıtlılık

- Serum IgA, IgG ve SARS-CoV-2'yi nötralize etme ile ilişkili olabilecek mukozal IgG seviyeleri gibi sonuçlarımızı etkileyebilecek diğer faktörler ölçülmemiştir.