Özgün Çalışma/Original Article *Mikrobiyol Bul 2022;56(2):263-273*/doi: 10.5578/mb.20229806

Geliş Tarihi (Received): 03.10.2021 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 30.01.2022

Solunum Yolu Örneklerinde SARS-CoV-2 Tespiti için Hızlı Antijen Tespit Kitinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Birlikte Değerlendirilmesi

Evaluation of the Rapid Antigen Detection Kit with the Polymerase Chain Reaction for Detection of SARS-CoV-2 in Respiratory Samples

Aylin ERMAN DALOĞLU(ID), Halil ER(ID), Nevgün SEPİN ÖZEN(ID), Yeşim ÇEKİN(ID)

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Antalya.
University of Health Sciences, Antalya Education and Research Hospital, Medical Microbiology Laboratory, Antalya, Turkey.

**Bu çalışma, Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıpta Uzmanlık Eğitim Kurulu (TUEK) tarafından kabul edilen araştırma projesi olarak desteklenmiştir (Tarih: 16.4.2021, Karar No: 66).*

Makale Atıfı: *Erman Daloğlu A, Er H, Sepin Özen N, Çekin Y. Solunum yolu örneklerinde SARS-CoV-2 tespiti için hızlı antijen tespit kitinin polimeraz zincir reaksiyonu ile birlikte değerlendirilmesi. Mikrobiyol Bul 2022;56(2):263-273.*

ÖZ

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından, 11 Şubat 2020'de şiddetli akut solunum sendromu koronavirüsü-2 [Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS-CoV-2)]'nin neden olduğu hastalık koronavirüs hastalığı-2019 [Coronavirus disease-2019 (COVID-19)] olarak adlandırılmıştır. Solunum yolu örneklerinde uygulanan SARS-CoV-2'ye özgül revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) testi, COVID-19 tanısında altın standart yöntemdir. Solunum yolu örneklerinde virüse ait protein antijenlerinin varlığını tespit edebilen hızlı antijen testinin ise, özellikle RT-PCR olanağının bulunmadığı ya da test kapasitesinin aşıldığı durumlarda, daha kısa sürede sonuç vermesi, uygulama kolaylığı, düşük maliyeti, özel ekipman ve personel gerekliliğinin olmaması gibi nedenlerle alternatif bir test olarak kullanımı araştırılmaktadır. Bu çalışmada ticari bir SARS-CoV-2 hızlı antijen test sonuçlarının RT-PCR ile karşılaştırılarak performansının değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Belirli bir tarihten itibaren, COVID-19 ilişkili semptom ve bulgularla SARS-CoV-2 RT-PCR çalışılmak üzere Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına rutin çalışma için gönderilen solunum yolu örneklerinden ardışık olarak saptanan ilk 80 pozitif ve 40 negatif örnek çalışmaya dahil edilmiş, yeterli sayıya ulaşıldığında örnek alımı sonlandırılmıştır. Örneklerin RT-PCR testleri, BioSpeedy SARS-CoV-2 RT-PCR kiti (Bioeksen, Türkiye) ile rutin çalışmalar dahilinde gerçekleştirilmiştir. Hızlı antijen testleri, RT-PCR testleri ile eş zamanlı olarak Wesail COVID-19 Ag test kiti (Guangdong, Çin) ile gerçekleştirilmiştir. RT-PCR pozitif saptanmış 24 (%20) örnekte hızlı antijen testi negatif olarak saptanmıştır. RT-PCR negatif örneklerden oluşan kontrol grubunun tümünde hızlı antijen testiyle negatif sonuç alınmıştır. Her iki testin kalitatif sonuçları arasında orta derecede uyum saptanmıştır (Kappa= 0.609, p< 0.001). PCR testine göre hızlı Ag testinin; duyarlılığı %70, özgüllüğü %100, pozitif prediktif değeri (PPD) %100, negatif prediktif değeri %62.5 ve doğruluğu %80 (96/120) olarak bulunmuştur. RT-PCR testine göre; "cycle threshold" (Ct) değeri < 17 olan 54 örnekte hızlı antijen testinin duyarlılığı %92.6, Ct değeri < 20 olan 62 örnekte duyarlılık %88.7, Ct değeri < 22 olan 72 örnekte duyarlılık %77.8, Ct değeri < 25 olan 75 örnekte duyarlılık %74.7 olarak

İletişim (Correspondence): *Doç. Dr. Yeşim Çekin, Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı İdari Sorumlusu, 07100, Antalya, Türkiye.* ***Tel (Phone):*** *+90 (242) 249 44 00,* ***E-posta (E-mail):*** *yesimcekin@hotmail.com*

hesaplanmıştır. Çalışma verilerimize göre; hızlı antijen testi RT-PCR testine göre daha az duyarlı bulunmuştur. Hızlı antijen testi ile elde edilen negatif sonuçlar SARS-CoV-2 enfeksiyonunu dışlayamamakta ve RT-PCR ile doğrulanması gerekmektedir. Ayrıca hızlı antijen test pozitifliğinin, RT-PCR Ct değerlerine göre elde edilen ROC analizine göre, hızlı antijen testinin klinik performansının, Ct değerleri 20'den daha düşük olan örneklerde iyi olduğunu ve yüksek viral yüke sahip hastalarda güvenilir bir tarama testi olarak değerlendirilmesi gerekliliğini göstermektedir. Literatürde, çalışmamızda kullanılan Wesail COVID-19 hızlı antijen test kiti (Guangdong, Çin) ile yapılan başka bir çalışma ulaşılabildiğimiz kadarıyla henüz bulunmamaktadır. Pandeminin ılımlı seyrettiği düşük prevalanslı bir dönemde gerçekleştirdiğimiz çalışmamızda dahi PPD'in %100 bulunmuş olması, pandeminin yoğun seyrettiği dönemlerde pozitif hastaların ilk basamak hızlı ve etkin bir şekilde hızlı antijen testiyle taranmasına imkan sağlayacaktır. Bu bilgiler ve sonuçlarımız ışığında ilk basamakta hızlı antijen testinin tarama testi olarak kullanılıp sadece negatif hastaların RT-PCR ile doğrulanmasının pandemi sürecinin hem süre hem maliyet açısından etkin bir şekilde yönetilmesine katkı sağlayacağı öngörülebilir. Çalışma neticesinde duyarlılığı düşük ancak PPD yüksek bulunan hızlı antijen testi; yüksek viral yükü olan hastaların hızlı tanımlanması, tedavilerinin başlanması ve filyasyonun sağlanması açısından tanı algoritmasında ilk basamakta kolaylaştırıcı test olarak yer alabilir.

Anahtar kelimeler: *Hızlı antijen testi; COVID-19; SARS-CoV-2; RT-PCR.*

ABSTRACT

The disease caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2) was named as coronavirus disease-2019 (COVID-19) by the World Health Organization (WHO) in February 11, 2020. The rapid diagnosis of COVID-19 patients is essential to reduce the disease spread. The reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) is the gold standard test to diagnose SARS-CoV-2 acute infection. The rapid antigen test which can detect the presence of viral protein antigens in respiratory tract samples is being investigated as an alternative option, especially in cases where RT-PCR is not available or the test capacity is exceeded, due to its faster results, ease of application, low cost and lack of special equipment and personnel. In this study, it was aimed to evaluate the performance of a commercial rapid antigen test using nasopharyngeal samples of COVID-19 patients confirmed with RT-PCR. From the first day of the research, the first 80 consecutively SARS-CoV-2 RT-PCR positive and 40 RT-PCR negative respiratory samples sent to the Medical Microbiology Laboratory for routine SARS-CoV-2 RT-PCR testing were included in the study. RT-PCR tests of the samples were performed in routine studies with the BioSpeedy SARS-CoV-2 RT-PCR kit (Bioeksen, Turkey). Rapid antigen tests were performed with the Wesail COVID-19 antigen test kit (Guangdong, China) simultaneously with RT-PCR tests. Amongst the 80 positive RT-PCR samples, 56 were detected by the rapid antigen test. All the samples detected as positive with the rapid antigen tests were also positive with RT-PCR. There was a moderate agreement between the qualitative results of both tests (Kappa= 0.609, $p< 0.001$). According to the PCR test, the sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), negative predictive value, and accuracy of the rapid antigen test were; 70%, 100%, 100%, 62.5%, and 80% (96/120), respectively. The sensitivities of the rapid antigen test were calculated as 92.6% in 54 samples with a cycle threshold (Ct) value of < 17, 88.7% in 62 samples with a Ct value of < 20, 77.8% in 72 samples with a Ct value of < 22, and 74.7% in 75 samples with a Ct value of < 25. According to our study data; the rapid antigen test was found less sensitive than the RT-PCR test. Negative results obtained with rapid antigen testing cannot exclude SARS-CoV-2 infection and must be confirmed by RT-PCR. In addition, according to the ROC analysis of rapid antigen test positivity obtained according to RT-PCR Ct values, the clinical performance of the rapid antigen test is good in samples with Ct values < 20. The rapid antigen test should be evaluated as a reliable screening test in patients with high viral load. To the best of our knowledge, there is no other study in the literature performed with the Wesail COVID-19 rapid antigen test kit (Guangdong, China) used in our study. The fact that PPV was found to be 100% even at a low prevalence period of the pandemic will enable positive patients to be screened quickly and effectively with rapid antigen tests in the first step during the high prevalence period of the pandemic. In the light of these data and our results, it can be predicted that using the rapid antigen test as a screening test in the first step and confirming only negative patients with RT-PCR will contribute to the effective management of the pandemic process in terms of both time and cost. As a result of the study, the rapid antigen test with low sensitivity but high PPD can be included as a facilitating test in the first step of the diagnostic algorithm in terms of rapid identification of the patients with high viral load, initiation of treatment and providing filiation.

Keywords: *Rapid antigen test; COVID-19; SARS-CoV-2; RT-PCR.*

GİRİŞ

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından, 11 Şubat 2020'de SARS-CoV-2'nin neden olduğu hastalık COVID-19 olarak adlandırılmıştır. Solunum yolu örneklerinde uygulanan SARS-CoV-2 RT-PCR testi, COVID-19 tanısında altın standart yöntem olarak kabul edilmektedir. Solunum yolu örneklerinde virüse ait protein antijenlerin varlığını tespit edebilen hızlı antijen testinin ise, özellikle RT-PCR olanağının bulunmadığı ya da test kapasitesinin aşıldığı durumlarda, daha kısa sürede sonuç vermesi, uygulama kolaylığı, düşük maliyeti, özel ekipman ve personel gerekliliğinin olmaması gibi nedenlerle alternatif bir test olarak kullanımı araştırılmaktadır. Her ne kadar hızlı test olarak adlandırılsa da "United States Food and Drug Administration" tarafından laboratuvar bazlı antijen testleri olarak tanımlanmış ve yalnız sağlık kurumlarında uygulanması önerilmiştir. Bu testler, en iyi performansı viral yükün yüksek olduğu akut enfeksiyon döneminde (semptom başlangıcından itibaren ilk yedi gün) ve genel olarak RT-PCR testinde daha yüksek viral yüke (> 1 000 000 kopya/ml) işaret eden düşük Ct değerlerine sahip (Ct≤ 25) örneklerde göstermektedir[1].

Potansiyel olarak bulaştırıcı olguların erken tespiti ve temaslı takibinin triyajdan itibaren sağlanması pandeminin yayılmasını önlemede son derece önemlidir. Bu nedenle, COVID-19 tanı algoritması belirlenirken hızlı antijen testlerinin ilk planda kullanımının araştırılması maliyet etkin, hızlı ve güvenilir test arayışında önem arz etmektedir. Şimdiye kadar yapılmış araştırmalarda hasta örneğindeki antijen seviyesinin kullanılan kitin tespit limitinin altında olması ya da hedef epitop bölgesinde aminoasit değişikliğine uğramış SARS-CoV-2 virüsüyle enfeksiyon durumu gibi nedenlerle farklı ticari hızlı antijen testlerinin duyarlılık ve özgüllük değerlerinin değişkenlik gösterdiği bildirilmektedir. Ticari hızlı antijen test kitlerinin RT-PCR testlerine göre duyarlılık ve özgüllük değerleri halen araştırılmakta, bu nedenle de yüksek duyarlılığa sahip kitlerin belirlenmesi önem arz etmektedir[2].

Bu çalışmada ticari bir SARS-CoV-2 hızlı antijen test sonuçlarının RT-PCR ile karşılaştırılarak performansının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

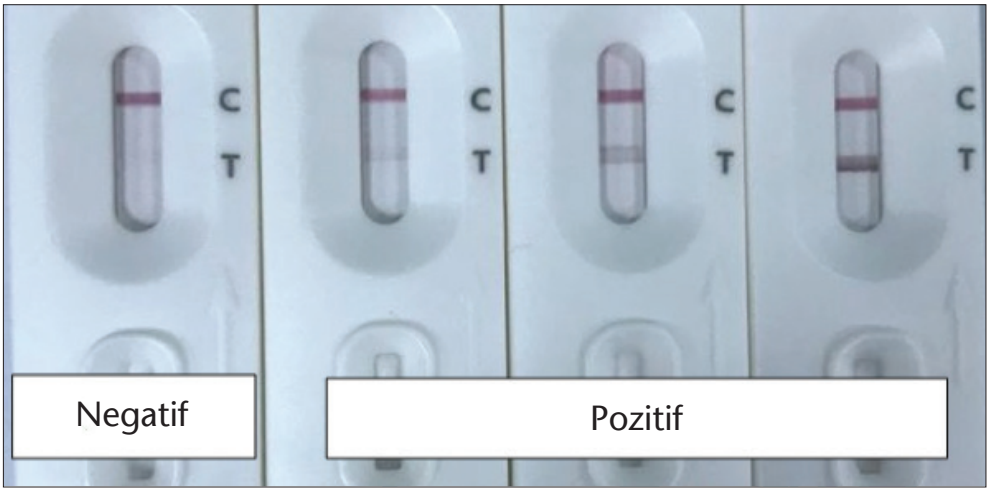
Bu çalışma, Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı ile gerçekleştirildi. (Tarih: 11.03.2021 ve Karar No: 2/11). Bu çalışma, T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü tarafından onaylandı (Tarih: 17.1.2021 ve Karar No: 2021-01-16T16_18_35).

23 Haziran 2021 tarihinden itibaren COVID-19 ilişkili semptom ve bulgularla Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi pandemi poliklinik ve servislerinden SARS-CoV-2 RT-PCR çalışılmak üzere Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına rutin çalışma için gönderilen solunum yolu örneklerinden ardışık olarak saptanan ilk 80 pozitif ve 40 negatif örnek çalışmaya dahil edildi, 27 Haziran 2021 tarihinde yeterli sayıya ulaşılarak örnek alımı sonlandırıldı.

Örneklerin RT-PCR testleri, BioSpeedy SARS-CoV-2 RT-PCR kiti (Bioeksen, Türkiye) ile rutin çalışmalar dahilinde gerçekleştirildi. Bu yöntemde üretici firma önerileri doğrultusunda, 2.5 µl ekstrakt ile total 10 µl reaksiyon hacmi kullanıldı ve SARS-CoV-2'ye özgül ORF (Open Reading Frame) 1Ab ve N (Nucleocapsid) genleri ile internal kontrol olarak insan RNaseP (Ribonükleaz P) geni hedeflendi. Amplifikasyon aşaması, RotorGene (Qiagen, Almanya) cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. Test analizi üretici firmanın önerileri doğrultusunda yapıldı. Viral yük Ct olarak ifade edildi ve test SARS-CoV-2 gen hedefleri için Ct değerleri ≤ 33 olan sonuçlar pozitif olarak kabul edildi.

Örneklerin hızlı antijen testleri, RT-PCR testleri ile eş zamanlı olarak Wesail COVID-19 Ag test kiti (Guangdong, Çin) ile gerçekleştirildi. Hızlı antijen testi, "lateral-flow" (yanal akış) yöntemiyle nazofarengeal örneklerde SARS-CoV-2 nükleokapsid proteinini immüno-sandviç prensibiyle kalitatif olarak tespit edebilen immünokromatografik bir testtir. PCR testleri için viral nükleik asit transport (vNAT) transfer tüpüne alınan nazofarengeal örnekler aynı zamanda antijen testleri için de kullanıldı. Beş saniye süreyle vortekslenen viral taşıma besiyerinden 600 µl alınarak sıvı kit içeriğinde yer alan lizis tampon çözeltisi (1:1 oranında olacak şekilde) içeren tüpe eklendi. On defa nazikçe çalkalama ve bir dakika inkübasyon sonrası tüpün koruyucu kapağı açılarak (iki damla kadar atık kutusuna damlatıldıktan sonra) kitin numune ekleme bölümüne üç damla (90 µl) eklendi. Test sonucu 15 dakikalık beklemeden sonra çift kör değerlendirildi. Bütün işlemler biyogüvenlik kabini içinde gerçekleştirildi. Test bandının renk yoğunluğunun numunede bulunan SARS-CoV-2 antijen miktarına bağlı olarak değiştiği bildirilmekle birlikte test bandının üretici firmanın önerileri doğrultusunda çok hafif renkte olması durumunda dahi sonuç pozitif olarak yorumlandı (Şekil 1).

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS Version 22.0 programı kullanıldı. Yaş gibi sürekli değişkenlerin normallik varsayımının kontrol edilmesi için Shapiro-Wilk testi uygulandı. Hasta ve kontrol grubu arasında cinsiyet dağılımı açısından anlamlı fark olup olmadığı



Şekil 1. *Wesail SARS-CoV-2 hızlı antijen test sonuçları görseli.*

Pearson ki-kare testi, yaş dağılımı açısından anlamlı fark olup olmadığı bağımsız grup t testi ile analiz edildi. SARS-CoV-2 RT-PCR ve hızlı antijen testi ile elde edilen her bir hasta için sonuçlar pozitif ve negatif şeklinde kategorik değişken olarak kaydedildi. Bu kalitatif sonuçların arasındaki uyum Cohen's Kappa değeri hesaplanarak analiz edildi. Kappa değeri: < 0.20 zayıf, 0.21-0.40 ortaya yakın, 0.41-0.60 orta düzeyde, 0.61-0.80 önemli düzeyde ve 0.81-1.00 neredeyse mükemmel uyum olarak kategorize edildi. RT-PCR altın standart test olarak kabul edilerek, RT-PCR testine göre hızlı antijen testinin duyarlılık ve özgüllük değerleri karşılaştırmalı tablo oluşturularak hesaplandı. Ek olarak RT-PCR test sonucu pozitif olan örneklerin bu test ile elde edilen Ct değerleri kaydedildi ve "Receiver Operating Characteristic (ROC)" analizi ile antijen testinin yüksek duyarlılık ve özgüllükte pozitiflik verdiği Ct eşik değeri hesaplandı. Ct değerlerine göre gruplandırma yapıldığında gruplar arasında hızlı antijen test pozitifliği açısından anlamlı fark olup olmadığı Kruskal-Wallis testi (K-bağımsız grup t testi) ile analiz edildi. İstatistiksel olarak anlamlı kabul edilen p değeri < 0.05 olarak belirlendi.

BULGULAR

SARS-CoV-2 RT-PCR pozitif olan hasta grubunun ortanca yaş değeri 32 (aralık= 6-73) ve cinsiyet dağılımı 38 (47.5%)'i erkek, 42 (52.5%)'si kadın şeklinde belirlenmiştir. SARS-CoV-2 RT-PCR negatif olan kontrol grubunun ortanca yaş değeri 36 (aralık= 0-82) ve cinsiyet dağılımı 16 (40%)'sı erkek, 24 (60%)'ü kadın şeklinde belirlenmiştir. Her iki grup arasında cinsiyet ve yaş dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p= 0.43, p= 0.36).

RT-PCR pozitif saptanmış 24 (%20) örnekte hızlı antijen testi negatif olarak saptanmıştır. RT-PCR negatif örneklerden oluşan kontrol grubunun tümünde hızlı antijen testiyle negatif sonuç alınmıştır (Tablo I). Her iki testin kalitatif sonuçları arasında orta derecede uyum saptanmıştır (Kappa= 0.609, p< 0.001).

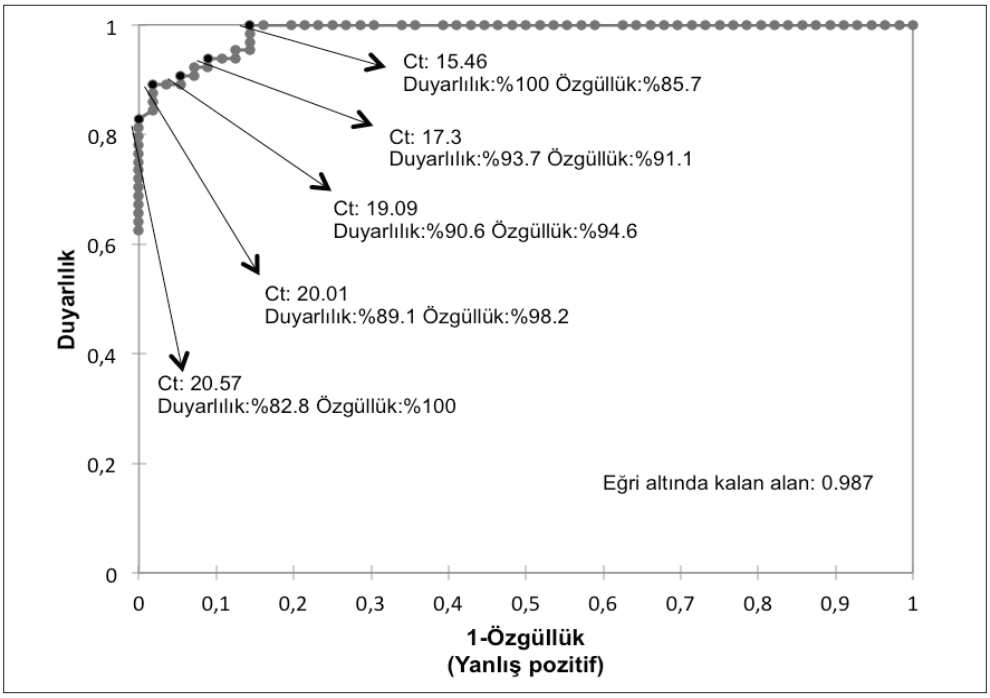
PCR testine göre hızlı Ag testinin; duyarlılığı %70, özgüllüğü %100, pozitif prediktif değeri (PPD) %100, negatif prediktif değeri (NPD) %62.5 ve doğruluğu %80 (96/120) olarak bulunmuştur.

RT-PCR ile pozitif sonuç alınan tüm örneklerin (n= 80) ortanca Ct değeri 14.54 (ortalama 15.89, aralık= 7.46-28.18) olarak hesaplanmıştır. Her iki testte pozitif sonuç alınan örneklerin (n= 56) ortanca Ct değeri 13.49 (ortalama 13.54, aralık= 7.46-20.19), RT-PCR

Tablo I. *Wesail SARS-CoV-2 Hızlı Antijen Kiti ile SARS-CoV-2 RT-PCR Testinin Karşılaştırmalı Sonuçları*

		PCR testi		
Testler		**Pozitif**	**Negatif**	**Toplam**
Hızlı Ag testi	Pozitif	56	0	56
	Negatif	24	40	64
	Toplam	80	40	120

PCR: Polimeraz zincir reakisyonu, Ag: Antijen.



Şekil 2. *Wesail SARS-CoV-2 hızlı antijen testinin ROC analizi.*

ile pozitif; hızlı antijen testi ile negatif sonuç alınan örneklerin (n= 24) ortanca Ct değeri 21.06 (ortalama 21.38, aralık= 15.46-28.18) olarak hesaplanmıştır (p< 0.001).

RT-PCR testine göre; Ct değeri < 17 olan 54 örnekte hızlı antijen testinin pozitiflik yüzdesi %92.6, Ct değeri 17-20 olan sekiz örnekte pozitiflik yüzdesi %62.5, Ct değeri 20-22 olan 10 örnekte duyarlılık %10 olarak hesaplanmış, Ct değeri 22-25 olan üç örneğin hepsi Wesail hızlı antjen testiyle negatif bulunmuştur (p< 0.001).

ROC analiziyle farklı Ct değerlerinde SARS-CoV-2 RT-PCR testine karşılık gelen Wesail SARS-CoV-2 Hızlı Antijen testinin duyarlılık ve özgüllük değerleri Şekil 2'de verilmiştir .

TARTIŞMA

Sunulan çalışmada, SARS-CoV-2 nükleokapsid proteininin tespitine yönelik lateral akım prensibine dayalı ticari hızlı antijen test sonuçları, SARS-CoV-2'ye özgül RT-PCR test sonuçları ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

Çalışma verilerimize göre; toplam 24 (%20) örnekte uyumsuz sonuç elde edilmiş, her iki testin kalitatif sonuçları arasında orta derecede uyum saptanmıştır (Kappa= 0.609, p< 0.001). PCR testi altın standart test olarak değerlendirildiğinde hızlı antijen testinin; duyarlılığı %70, özgüllüğü %100, PPD %100, NPD %62.5 ve doğruluğu %80 olarak bulunmuştur. Hızlı antijen testlerinin RT-PCR testlerine göre bildirilen duyarlılık ve özgüllük değerleri değişkenlikler göstermekte ve bu konuda araştırmalar devam etmektedir.

Bu kitlerin minimum antijen saptama performansı açısından DSÖ tarafından önerilen duyarlılık ve özgüllük değerleri sırasıyla ≥ %80 ve ≥ %97 olarak belirtilmiştir[1]. Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi [European Center for Disease Prevention and Control (ECDC)]'ne göre ise duyarlılığın ≥ %90, özgüllüğün ≥ %97 olması gerekliliği belirtilmektedir[2]. Sunulan bu çalışmada kullanılan Wesail ticari hızlı antijen test kitinin üretici firma tarafından bildirilen performans verileri; saptama sınırı (LoD) için 8 x 102.0 TCID50 (median tissue culture infectious dose)/ml, duyarlılık ve özgüllük değerleri için sırasıyla %90 ve %99.2'dir. Çalışmamızda bu kit için klinik olarak elde edilen duyarlılık değeri %70 olarak saptanmıştır. Çalışmamızda elde edilen sonuçlar hem üretici firmanın bildirdiği hem de DSÖ ve ECDC tarafından önerilen saptama performansından düşük olsa da, yüksek viral yük değerlerine sahip örneklerde duyarlılığın arttığı saptanmıştır.

Krüttgen ve arkadaşlarının 150 hastanın nazofarengeal sürüntü örneklerinden ticari bir hızlı antijen testi (Roche, İsviçre) ve RT-PCR ile elde ettikleri test sonuçlarını karşılaştırdıkları çalışmalarında[3], bizim verilerimize benzer şekilde hızlı antijen test duyarlılığını %70.7, özgüllüğünü %96 olarak bulmuşlardır. Toptan ve arkadaşları araştırmalarında, iki farklı merkezden elde ettikleri nazofarengeal örneklerde (örneklem büyüklüğü; 67 ve 70) ticari (R-biopharm, Almanya) hızlı antijen testini RT-PCR testiyle karşılaştırmışlar ve çalışma verilerimize benzer şekilde duyarlılık, özgüllük, doğruluk ve Kappa değerlerini iki merkez için sırasıyla; %77.6, %100, %80.6, 0.48 ve %50, %100, %77.1, 0.52 olarak bulmuşlardır[4].

Aynı şekilde Krüttgen ve arkadaşlarının çalışmalarında, çalışmamız ile paralel şekilde Ct değerinin düşmesiyle duyarlılığın arttığı gösterilmiştir. Hızlı antijen test duyarlılığının Ct< 30 olan numunelerde %95 gibi değerlerde iken, Ct değeri 30-35 arasında ve Ct> 35 olan numunelerde sırasıyla %45 ve %22'ye kadar düştüğü bildirilmiştir[3]. Salvagno ve arkadaşlarının benzer şekilde ticari hızlı antijen testi (Roche, İsviçre) ile gerçekleştirdikleri çalışmalarında; Ct değeri < 25 olan örneklerde antijen testinin duyarlılığının %97-100 arasında olduğu, Ct değeri 25-30 arasında olan örneklerde duyarlılığın %50-81 değerlerine kadar düştüğü gözlenmiş, hızlı antijen testinin duyarlılığının viral yüke bağımlı olduğu belirtilmiştir[5].

Mak ve arkadaşlarının farklı örnek türlerinde hızlı antijen test sonuçlarını değerlendirdikleri çalışmalarında[6] ise; farklı bir ticari (BIOCREDIT, Almanya) hızlı antijen kiti ile tespit yapabildikleri maksimum Ct değerinin nazofarengeal aspirat örnekleri için 20.99, nazofarengeal sürüntü örnekleri için bu değerin 17.52 olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda farklı örnek türlerinde hızlı antijen test duyarlılığı araştırılmamıştır. Her ne kadar hızlı antijen testiyle saptanabilen maksimum Ct değeri nazofarengeal aspirat örneklerinde nazofarengeal sürüntü örneklerine göre daha yüksek olsa da, tanı algoritmasında örnek alım kolaylığı açısından özellikle nazofarengeal sürüntü örneklerinin değerlendirildiği hızlı antijen test çalışmaları öne çıkmaktadır.

Çalışmamızda kullandığımız ticari hızlı antijen test kiti kolloidal altın bağlı antikorlarla tasarlanmıştır. Farklı olarak, floresan işaretli antikorlarla tasarlanmış olan ticari hızlı antijen testinin (Bioeasy Biotechnology Co., Shenzhen, Çin) RT-PCR ile karşılaştırıldığı 127 ör-

neklemden oluşan başka bir çalışmada; hızlı antijen testinin duyarlılığı %93.9, özgüllüğü %100, doğruluğu %96.1, Kappa değeri 0.9 olacak şekilde iki test arasında mükemmel uyum saptanmıştır. Ancak yüksek Ct değerlerinde duyarlılığın %72'ye kadar düştüğü bildirilmiştir[7].

Genel olarak ticari hızlı antijen testi ile yapılan çalışmalarda ortak bir bulgu olarak Ct değerinin düşük olduğu örneklerde duyarlılığın ve kasetteki görsel bant yoğunluğunun artış gösterdiği bildirilmektedir[8-13]. Farklı antijen testlerinin performansının araştırıldığı çalışmalarda, bulgularımıza benzer şekilde yüksek özgüllük değerleri elde edilmekte, ancak üretici firmaların bildirdiği değerlerden daha düşük, geniş bir yelpazede dağılım gösteren duyarlılık değerleri gözlenmektedir. Hızlı antijen test performansının, Ct değerlerinin belli aralıklarla kategorize edilerek değerlendirildiği çalışmalarda standardize edilmemiş, farklı RT-PCR testlerinden elde edilen Ct değerlerinin kullanıldığı, bu durumun da farklı duyarlılık değerlerine neden olabileceği belirtilmiştir[14].

Genellikle hızlı antijen testleri, nazofarengeal sürüntüden doğrudan çalışılmak üzere standardize edilmektedir. Sunulan çalışmada kullanılan Wesail hızlı antijen testi, nazofarengeal sürüntü örneklerinin yanı sıra PCR için kullanılan viral taşıma besiyerinden de çalışılmak üzere tasarlanmıştır. Viral taşıma besiyerinden hızlı antijen testinin çalışılmasının, olası antijen dilüsyonu nedeniyle test duyarlılığını düşürme ihtimaline rağmen aynı klinik örnekten hem RT-PCR hem de antijen testinin uygulanması hastalar ve hekimlere kolaylık sağlamakta ve olası sürüntü örneği karışıklığının önüne geçmektedir. Ülkemizde pandeminin başından günümüze kadar nazofarengeal/nazal sürüntü örneklerinin doğrudan ekstraksiyon aşamasını sağlayan vNAT transfer tüpüne alınmaktadır. Bu çalışmada üretici firmanın önerileri arasında yer alan nazofarengeal/nazal sürüntü ya da viral taşıma besiyerinden uygulamanın dışında vNAT sıvısı kullanılmıştır. Çalışmamızın sonuçları, doğrudan sürüntü örneğinden ya da besiyerinden çalışılarak gerçekleştirilmiş farklı ticari hızlı antijen ve PCR kitleri ile yapılmış diğer karşılaştırma çalışmaları ile paralellik göstermiştir.

Bazı araştırmalarda, nazofarengeal sürüntü örneğinin içinde bulunduğu sıvıdan antijen test kitinin numune kuyusuna direkt olarak yükleme yapılarak çalışıldığı görülmektedir[7]. Ancak bu çalışmada birkaç örnekte yapılan denemeler neticesinde; kit içeriğindeki lizis tampon çözeltisi ile örneğin işleme tutulması sonrasında çalışılacak örneğin cihazın numune kuyusuna yüklenmesiyle elde edilen görsel bant yoğunluğunun, numune kuyusuna örneğin direkt yüklenmesiyle elde edilen görsel bant yoğunluğundan daha fazla olduğu gözlenmiştir.

Çalışma verilerimize göre; hızlı antijen testi RT-PCR testine göre daha az duyarlı bulunmuştur. Hızlı antijen testiyle elde edilen negatif sonuçlar SARS-CoV-2 enfeksiyonunu dışlayamamakta ve RT-PCR ile doğrulanması gerekmektedir. Ayrıca hızlı antijen test pozitifliğinin, RT-PCR Ct değerlerine göre elde edilen ROC analizine göre, hızlı antijen testinin klinik performansının, Ct değerleri 20'den daha düşük olan örneklerde iyi olduğunu ve yüksek viral yüke sahip hastalarda güvenilir bir tarama testi olarak değerlendirilmesi gerekliliğini göstermektedir. Çalışmaların yapıldığı dönemdeki prevalansın, seçilen popülas-

yonun ve kullanılan PCR kitine bağlı olarak Ct değerlerindeki değişkenlikler neticesinde hızlı antijen test sonuçlarında da farklılıklar olabilmektedir.

Çalışmamızda RT-PCR ile pozitif; hızlı antijen testiyle negatif şekilde uyumsuz sonuç alınan 24 (%20) örneğin Ct değerleri incelendiğinde; 17 (%70.8) örnekte Ct değerlerinin 20'den büyük olan viral yük açısından düşük pozitiflik gösteren örnekler olduğu gözlenmiştir. Ancak kalan yedi örneğin Ct değerleri yüksek pozitif diyebileceğimiz 15.46-19.09 aralığındadır. Bu çalışmada, RT-PCR Ct değerlerine göre elde edilen ROC analizine göre; Ct değeri < 15.46 olan örneklerde hızlı antijen testinin duyarlılığı %100 iken, Ct değeri < 17.3 olan örneklerde duyarlılığın %93.7'e gerilediği gözlenmektedir. Bir sistematik analizde, Ct değeri 25 ve altında olan örneklerde yapılan çalışmalar ayrı olarak değerlendirildiğinde; hızlı antijen test kitlerinin duyarlılığının %21 ile %100 arasında değişkenlik gösterdiği ve potansiyel olarak yüksek viral yüklü örneklerde de yanlış negatifliklerin saptandığı görülmektedir[10]. Literatür bilgileri eşliğinde de çalışmamızdaki gibi hızlı antijen test kitlerinin yüksek pozitif örnekleri %100 saptaması söz konusu olmamaktadır. Pozitif hızlı antijen test sonucunun tanısal değeri mevcuttur ancak negatif sonuçların doğrulanması gerekmektedir. PCR testiyle doğrulama imkanı mümkün değilse, hasta örneğinin aynı ya da farklı bir hızlı antijen testi ile ikinci kez çalışılmasının önemini vurgulamak gerekmektedir.

Antijen testlerinin özgüllüğü genellikle PCR testi kadar yüksektir ve üreticinin talimatlarına göre uygulandığında bir antijen testinin yanlış pozitif sonuç vermesi olası değildir. Özellikle antijen testleri gibi in vitro tanı testlerinin PPD ve NPD'leri, test öncesi olasılığa yani test edilen popülasyondaki enfeksiyonun prevalansına bağlı olarak değişir. Prevalans yüksekse test öncesi olasılık da genellikle yüksek kabul edilmektedir. Buna göre, toplumda enfeksiyon prevalansı yüksek seviyede ise; PPD artmakta, NPD düşmekte, yanlış negatiflik artmaktadır. Bu durumda, hızlı antijen testinin yüksek prevalanslı popülasyonlarda uygulanması halinde; negatif antijen test sonucunun (yanlış negatiflik açısından), düşük prevalanslı popülasyonlarda uygulanması halinde; pozitif antijen test sonucunun (yanlış pozitiflik açısından), PCR ile doğrulanması önerilmektedir[1,15]. Bu çalışmanın yapıldığı dönemde (Haziran 2021) örneklerin toplandığı bir haftalık süreçte ortalama COVID-19 prevalansı %10.48 olarak hesaplanmıştır. Pandeminin ılımlı seyrettiği düşük prevalanslı bir dönemde gerçekleştirdiğimiz çalışmamızda dahi PPD'in %100 bulunmuş olması, pandeminin yoğun seyrettiği dönemlerde pozitif hastaların ilk basamak hızlı ve etkin bir şekilde hızlı antijen testi ile taranmasına imkan sağlayacaktır. Bu bilgiler ve sonuçlarımız ışığında ilk basamakta hızlı antijen testinin tarama testi olarak kullanılıp sadece negatif hastaların RT-PCR ile doğrulanmasının pandemi sürecinin hem süre hem maliyet açısından etkin bir şekilde yönetilmesine katkı sağlayacağı öngörülebilir.

Klinik tablo, altta yatan hastalıklar, diğer patojenlerle enfeksiyon, hastalığın başlangıcından laboratuvar testine kadar geçen süre, örneklerin nasıl toplandığı ve işlendiği gibi diğer bazı faktörler sonuçların yorumunu potansiyel olarak etkileyebilmektedir. Bu gibi faktörlerin değerlendirilebileceği çalışmalar hızlı antijen test kitlerinin duyarlılık ve özgüllüğünü daha net şekilde ortaya koyabilecektir. Ancak, laboratuvar araştırması olarak

planlanmış olan bu çalışmada, hızlı antijen testinin hastaneye başvuran bireylerde klinik değişkenlerden bağımsız olarak ilk basamakta kolaylaştırıcı bir tarama testi olarak uygulanabilirliği araştırılmıştır.

Sonuç olarak, bu hızlı immünolojik testlerin duyarlılıklarındaki farklılıklar nedeniyle geniş kapsamlı, analitik ve klinik olarak kit değerlendirme çalışmaları önemini korumaktadır. Ulaşılabildiği kadarı ile bu çalışmada kullanılan Wesail COVID-19 hızlı antijen test kiti (Guangdong, Çin) ile yapılan bir çalışma henüz literatürde bulunmamaktadır. Çalışma neticesinde duyarlılığı düşük ancak pozitif prediktif değeri yüksek bulunan hızlı antijen test kiti; yüksek viral yükü olan hastaların hızla tanımlanması, tedavilerinin başlanması ve filyasyonun sağlanması açısından tanı algoritmasında ilk basamakta kolaylaştırıcı test olarak yer alabilir. Bu çalışma, 120 hastalık küçük bir popülasyonda uygulanmış olmakla birlikte, bildirilen farklı duyarlılık oranları nedeniyle farklı ticari markalara ait hızlı antijen testleri ile klinik olarak yapılan her çalışmanın literatüre katkı sağlayacağı düşüncesindeyiz.

ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışma, Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı ile gerçekleştirildi. (Tarih: 11.03.2021 ve Karar No: 2/11). Bu çalışma, T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü tarafından onaylandı (Tarih: 17.1.2021 ve Karar No: 2021-01-16T16_18_35).

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri (CDC). Interim Guidance for Antigen Testing for SARS-CoV-2. Available from: https://www.cdc.gov
2. Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi (ECDC). Options for the Use of Rapid Antigen Tests for COVID-19 in the EU/EEA. Available from: https://www.ecdc.europa.eu
3. Krüttgen A, Cornelissen CG, Dreher M, Hornef MW, Imöhl M, Kleines M. Comparison of the SARS-CoV-2 Rapid antigen test to the real star Sars-CoV-2 RT PCR kit. J Virol Methods 2021; 288: 114024. https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2020.114024
4. Toptan T, Eckermann L, Pfeiffer AE, Hoehl S, Ciesek S, Drosten C, et al. Evaluation of a SARS-CoV-2 rapid antigen test: Potential to help reduce community spread? J Clin Virol 2021; 135: 104713. https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104713
5. Salvagno GL, Gianfilippi G, Bragantini D, Henry BM, Lippi G. Clinical assessment of the Roche SARS-CoV-2 rapid antigen test. Diagnosis 2021; 8(3): 322-6. https://doi.org/10.1515/dx-2020-0154
6. Mak GC, Cheng PK, Lau SS, Wong KK, Lau CS, Lam ET, et al. Evaluation of rapid antigen test for detection of SARS-CoV-2 virus. J Clin Virol 2020; 129: 104500. https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104500
7. Porte L, Legarraga P, Vollrath V, Aguilera X, Munita JM, Araos R, et al. Evaluation of a novel antigen-based rapid detection test for the diagnosis of SARS-CoV-2 in respiratory samples. Int J Infect Dis 2020; 99: 328-33. https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.05.098
8. Strömer A, Rose R, Schäfer M, Schön F, Vollersen A, Lorentz T, et al. Performance of a point-of-care test for the rapid detection of SARS-CoV-2 Antigen. Microorganisms 2020; 9(1): 58. https://doi.org/10.3390/microorganisms9010058

9. Lanser L, Bellmann-Weiler R, Öttl K-W, Huber L, Griesmacher A, Theurl I, et al. Evaluating the clinical utility and sensitivity of SARS-CoV-2 antigen testing in relation to RT-PCR Ct values. Infection 2021; 49(3): 555-7. https://doi.org/10.1007/s15010-020-01542-0

10. Dinnes J, Deeks JJ, Adriano A, Berhane S, Davenport C, Dittrich S, et al. Rapid, point-of-care antigen and molecular-based tests for diagnosis of SARS-CoV-2 infection. Cochrane Database Syst Rev 2020; 8(8): CD013705. https://doi.org/10.1002/14651858.CD013705

11. Pilarowski G, Lebel P, Sunshine S, Liu J, Crawford E, Marquez C, et al. Performance characteristics of a rapid SARS-CoV-2 antigen detection assay at a public plaza testing site in San Francisco. medRxiv 2020; 2020.11.02.20223891. https://doi.org/10.1101/2020.11.02.20223891

12. Falzone L, Gattuso G, Tsatsakis A, Spandidos DA, Libra M. Current and innovative methods for the diagnosis of COVID-19 infection (Review). Int J Mol Med 2021; 47(6): 1-23. https://doi.org/10.3892/ijmm.2021.4933

13. Scohy A, Anantharajah A, Bodéus M, Kabamba-Mukadi B, Verroken A, Rodriguez-Villalobos H. Low performance of rapid antigen detection test as frontline testing for COVID-19 diagnosis. J Clin Virol 2020; 129: 104455. https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104455

14. Kohmer N, Toptan T, Pallas C, Karaca O, Pfeiffer A, Westhaus S et al. The comparative clinical performance of four SARS-CoV-2 rapid antigen tests and their correlation to ınfectivity ın vitro. J Clin Med 2021; 10(2): 328. https://doi.org/10.3390/jcm10020328

15. Peeling RW, Olliaro PL, Boeras DI, Fongwen N. Scaling up COVID-19 rapid antigen tests: promises and challenges. Lancet Infect Dis 2021; 21(9): e290-e295. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(21)00048-7