Özgün Çalışma/Original Article *Mikrobiyol Bul 2022;56(2):251-262*/doi: 10.5578/mb.20229805

Geliş Tarihi (Received): 18.02.2022 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 31.03.2022

SARS-CoV-2 Hızlı Antijen Testlerinin COVID-19 Hastalarındaki Tanısal Performanslarının Değerlendirilmesi

Evaluation of the Diagnostic Performance of SARS-CoV-2 Rapid Antigen Tests in COVID-19 Patients

Yeşim TUYJİ TOK[1](ID), Harika Öykü DİNÇ[2](ID), Rüveyda AKÇİN[1](ID), Ferhat Osman DAŞDEMİR[1](ID), Önder Yüksel ERYİĞİT[3](ID), Mehmet DEMİRCİ[4](ID), Nesrin GAREAYAGHİ[5](ID), Mert Ahmet KUŞKUCU[1](ID), Bekir Sami KOCAZEYBEK[1](ID)

[1] İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.
[1] Istanbul University-Cerrahpasa, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Istanbul, Turkey.

[2] Bezmialem Vakıf Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.
[2] Bezmialem Vakıf University Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Microbiology, Istanbul, Turkey.

[3] İstanbul Büyükşehir Belediyesi, Sağlık Bilim Kurulu, İstanbul.
[3] Istanbul Metropolitan Municipality, Health Science Board, Istanbul, Turkey.

[4] Kırklareli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kırklareli.
[4] Kırklareli University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Kırklareli, Turkey.

[5] İstanbul Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kan Merkezi, İstanbul.
[5] Istanbul University of Health Sciences, Şişli Hamidiye Etfal Training and Research Hospital Blood Center, Istanbul, Turkey.

Makale Atıfı: *Tuyji Tok Y, Dinç HÖ, Akçin R, Daşdemir FO, Eryiğit ÖY, Demirci M ve ark. SARS-CoV-2 hızlı antijen testlerinin COVID-19 hastalarındaki tanısal performanslarının değerlendirilmesi. Mikrobiyol Bul 2022;56(2):251-262.*

ÖZ

Şiddetli akut solunum yolu sendromu koronavirüs-2 (SARS-CoV-2)'nin kesin tanısında altın standart yöntem, viral ribonükleik asit saptamadaki yüksek duyarlılık ve özgüllükleri nedeniyle nükleik asit amplifikasyon test (NAAT)'leridir. Bununla birlikte, pandemide iki yılı geride bırakırken tüm dünyada gerek ekonomik açıdan gerekse sağlık hizmetleri alanında çalışan insan gücü açısından kaynaklar tükenme noktasına gelmiştir. SARS-CoV-2 enfeksiyonunu teşhis etmek için hızlı, basit ve doğru testlere olan gereksinim devam etmektedir. Bu çalışmada, SARS-CoV-2 hızlı antijen testlerinin (HAgT) koronavirüs hastalığı 2019 (COVID-19) olgularının tanısındaki performans özelliklerinin, gerçek zamanlı ters transkripsiyon-polimeraz zincir reaksiyonu (rRT-PCR) yöntemi ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır. İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Tıp Fakültesi COVID-19 Moleküler Tanı Laboratuvarında, SARS-CoV-2 RNA pozitif saptanmış solunum yolu örneklerinden < 25 Ct (cycle of treshold; eşiği geçen döngü), 25-29 Ct, 30-35 Ct ve 35< Ct değerlerinde viral yüke sahip olmak üzere dört grupta toplam 205 hasta örneği seçilmiştir. Farklı firmalara ait on iki ticari HAgT kullanılarak yanal akış yöntemiyle (lateral-flow assay [LFA]) SARS-CoV-2 pozitif örnekler çalışılmış ve performansları değerlendirilmiştir. Ayrıca klinik olarak solunum yolu enfeksiyonu mevcut olup tabloya neden olan patojen(ler)in tanımlanması için 2020-2022 yılları arasında laboratuvarımıza gönderilmiş ve COVID-19 dışı etken(ler) saptanarak arşivlenmiş çeşitli solunum yolu örneklerinden 90 örnek seçilmiş, olası çapraz reaktivite açısından HAgT'lerin özgüllükleri değerlendirilmiştir. Çalışmaya dahil edilen SARS-CoV-2 HAgT'lerin duyar-

İletişim (Correspondence): *Uzm. Dr. Yeşim Tuyji Tok, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Prefabrik Temel Bilimler Binası, Cerrahpaşa Mah. Kocamustafapaşa Cad. No: 34/E Fatih, İstanbul, Türkiye.* ***Tel (Phone):*** *+90 (212) 414 30 57,* ***E-posta (E-mail):*** *dr.yesimtok@gmail.com*

lılıkları %40.4-97.5 arasında değişirken < 25 Ct değerlerinde kitlerin büyük kısmının (8/12) duyarlılıkları Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi [European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC)]'nin SARS-CoV-2 HAgT kullanımıyla ilgili yayınladığı rehberde asgari sınır olan ≥ %90 duyarlılık düzeyinin üzerinde bulunmuştur. HAgT'lerin özgüllükleri ise %90-100 arasında saptanmıştır. SARS-CoV-2 HAgT'lerinin rRT-PCR pozitifliği ile uyumu kappa katsayısı ile değerlendirildiğinde yalnızca bir HAgT'nin uyumu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Kappa= 0.88). SARS-CoV-2 HAgT'leri; semptomatik kişilerde tanı, toplu yaşam ortamlarında ise rutin tarama aracı olarak ve hasta bireylerin izolasyonunun sonlandırılması gibi durumlarda potansiyel bir kullanıma sahiptir. Her ülke içinde bulunduğu sosyo-ekonomik durum, sağlık hizmetleri alt yapısı ve COVID-19 güncel epidemiyolojik verilerini göz önünde bulundurarak bu testlerin kullanımı öncesi validasyon çalışmalarını gerçekleştirmelidir.

Anahtar kelimeler: *SARS-CoV-2; RT-PCR; hızlı antijen testi (HAgT); lateral-flow assay (LFA).*

ABSTRACT

The gold standard in the definitive diagnosis of severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2) is nucleic acid amplification tests (NAAT) due to their high sensitivity and specificity in detecting viral ribonucleic acid. However, while leaving two years behind in the pandemic, resources have come to the point of exhaustion in terms of both the economy and the manpower working in the field of health services. Therefore, the need for rapid, simple and accurate tests to diagnose SARS-CoV-2 infection continues. In this study, it was aimed to compare the performance characteristics of SARS-CoV-2 rapid antigen tests (RAgT) in the diagnosis of coronavirus disease 2019 (COVID-19) cases with the real-time reverse transcription-polymerase chain reaction (rRT-PCR) method. In Istanbul University-Cerrahpaşa Faculty of Medicine COVID-19 Molecular Diagnosis Laboratory, SARS-CoV-2 RNA positive respiratory tract samples with viral loads of < 25 Ct (cycle of treshold), 25-29 Ct, 30-35 Ct and 35< Ct, a total of 205 patient samples were selected in four groups. SARS-CoV-2 positive samples were studied by lateral flow method (LFA) using twelve commercial RAgTs of different companies and their performances were evaluated. In addition, 90 samples were selected from various respiratory tract samples archived, which were sent to our laboratory for the identification of the non-COVID-19 pathogen(s) causing the respiratory tract infection between 2020-2022 and their specificities for RAgTs were evaluated to avoid cross reactivity. The sensitivities of the SARS-CoV-2 RAgTs included in the study, ranged from 40.4-97.5%, while the sensitivity of most of the kits (8/12), at < 25 Ct values, was ≥ 90%, which is the minimum limit in the European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC)'s guideline for the use of SARS-CoV-2 RAgTs. The specificities of RAgTs were found to be between 90-100%. When the concordance of SARS-CoV-2 RAgTs with rRT-PCR positivity was evaluated with the kappa coefficient, the concordance of only one RAgT was found to be statistically significant (Kappa= 0.88). SARS-CoV-2 RAgTs have a potential use as a diagnostic tool in symptomatic people, as a routine screening tool in community living environments, and in situations such as ending the isolation of the patients. Each country should carry out validation studies before the use of these tests, taking into account of their socio-economic situation, healthcare infrastructure and current epidemiological data of COVID-19.

Keywords: *SARS-CoV-2; RT-PCR; rapid antigen test (RAgT); lateral-flow assay (LFA).*

GİRİŞ

Koronavirüs hastalığı-2019 (COVID-19) etkeni olan ağır solunum yolu sendromu koronavirüsü 2 (SARS-CoV-2), Aralık 2019'da, Çin'in Wuhan şehrinde ilk olarak tespit edilmiş, kısa süre içinde genetik yapısı ortaya konarak pandeminin başından günümüze tanısında nükleik asit amplifikasyon testleri (NAAT) kullanılmıştır. NAAT, yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olmakla birlikte yüksek maliyetli sarf malzemeleri, cihaz ve kalifiye personel gerektirmesi nedeniyle zaman zaman tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de ham madde ve insan gücü açısından dar boğaza girilmesine neden olmuştur. Moleküler testlerin uygulanmasının mümkün olmadığı ya da artan olgu sayılarına karşın kapasitenin

yetersiz kaldığı durumlarda, SARS-CoV-2 enfeksiyonu mevcut kişilerin belirlenmesinde NAAT testlerine göre daha düşük maliyetli, pratik, hızlı sonuç veren ve kolay ulaşılabilir antijen testlerinden uygun gruplarda ve belirlenmiş algoritmalar çerçevesinde yararlanılabilir[1]. Özgül bir viral antijenin varlığını tespit eden, immünokromotografik hızlı antijen testleri (HAgT); influenza virüsleri ve respiratuvar sinsityal virüs dahil olmak üzere solunum yolu patojenlerinin tanısında yaygın olarak kullanılmaktadır. SARS-CoV-2 antijenlerini tespit etmek için tasarlanmış testler de ticari olarak mevcuttur. HAgT'de, nazofarengeal veya nazal süruntü örnekleri viral taşıma tamponuna [viral transport medium (VTM)] veya doğrudan testin ekstraksiyon tamponuna alınır. Bu testler hasta başında [point of care (POC)], laboratuvarda uygulanan ve kendi kendine yapılan testleri içerir ve her yaştan insana uygulanabilir. En yaygın kullanılan testler, yaklaşık 15 dakikada sonuç veren yanal akış testleridir [lateral-flow assay (LFA)]. Daha yüksek verimli, laboratuvarda otomatize sistemlerde uygulanan SARS-CoV-2 antijen testleri de geliştirilmiştir. NAAT'ların ve antijen testlerinin; klinik performans, ulaşılabilirlik, numune toplama/taşıma kalitesi ve sonuçların geri dönüş süreleri dikkate alındığında kullanım alanları farklılık gösterebilir[2]. ABD Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri [Centers for Disease Control and Prevention (CDC)] en son 20 Ocak 2022'de SARS-CoV-2 Ag testiyle ilgili güncellenmiş uygulama rehberi yayımlamıştır[3]. Bu rehberde semptomatik ve asemptomatik bireylerde antijen testlerinin değerlendirilmesi açıklanmış, tekli ve tekrarlayan test stratejileri tanımlanmıştır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ve ABD Gıda-İlaç Dairesi [U.S. Food and Drug Administration (FDA)], SARS-CoV-2'yi tanımlayabilen bazı antijen testleri için acil kullanım izni [Emergency Use Authorization (EUA)] vermiştir[4]. HAgT, örnekteki viral yük yüksek (Ct< 25) ve kişinin bulaşıcı olma olasılığı fazla olduğunda, laboratuvarda uygulanan NAAT'larıyla benzer bir duyarlılığa sahiptir ve genellikle çoğu NAAT kadar yüksek özgüllüktedir. Ancak tüm tanı testleri için geçerli olduğu gibi toplumdaki enfeksiyon prevalansının düştüğü (< %10) dönemlerde HAgT pozitif prediktif değeri de düşmektedir[2,3]. SARS-CoV-2 antijen testinin sonuçlarının değerlendirilmesi, öncelikle test edilen kişinin klinik ve epidemiyolojik özelliklerine (örneğin; semptomlar ve süresi, COVID-19'lu bireylerle temas, aşılanma durumu, önceki enfeksiyon durumu), ayrıca yaşadığı bölgedeki hastalık yoğunluğuna bağlıdır. Antijen testleri en iyi semptomatik kişilerde ve semptom başlangıcından itibaren 5-7 gün içinde pozitif sonuç verdiği için sıklıkla semptomatik kişilerde kullanılır. Ayrıca COVID-19 tanılı bireylerde enfeksiyonun sonlanmasını öngörmek/izolasyonu kaldırmak amaçlı kullanılarak moleküler laboratuvarların iş yükünün azaltılmasına katkı sağlanabilir. Toplu bulunulan mesleki ve eğitimsel ortamlarda kümelenme ve yeni başlayan salgının belirlenmesinde kullanılabilir. Yine, 2-3 gün arayla tekrarlanan antijen testleri, hızlı sonuç verdikleri için bakım evleri gibi yüksek riskli toplu yaşam ortamlarında rutin tarama testi olarak kullanılabilir. Böylelikle COVID-19 enfeksiyonu hızlı bir şekilde tanımlanır, enfeksiyon önleme ve kontrol stratejileriyle bulaşma engellenebilir. Ancak bu testlerin rutin kullanıma sunulmadan önce her toplumun kendi sosyo-ekonomik, sağlık hizmetlerine ulaşım ve güncel COVID-19 prevalans verilerini dikkate alarak ve yeni ortaya çıkan/dolaşımda olan SARS-CoV-2 varyantlarını da kapsayacak şekilde güncellenen validasyon çalışmalarını gerçekleştirmesi bir zorunluluktur. Bu çalışmada SARS-CoV-2 HAgT tanısal

performans özelliklerinin, COVID-19 olgularının tanısında, altın standart kabul edilen gerçek zamanlı ters transkripsiyon-polimeraz zincir reaksiyonu (rRT-PCR) yöntemleri ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Bilimsel Araştırmalar Kurulu (Karar No: 2021-11-25T02_54_57) ve İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu (Tarih: 16.02.2022 ve Karar No: 2015-KAEK-60-22-01) onayıyla, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu ve Helsinki Bildirgesi ilkeleri doğrultusunda gerçekleştirildi.

Hasta Seçimi ve Örnek Alımı

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Tıp Fakültesi COVID-19 Polikliniğine başvuran COVID-19 şüpheli olgulardan, temaslılarından ve ameliyat öncesi taramalar da dahil olmak üzere bireylerden alınan nazofarengeal ve boğaz sürüntü örnekleri, viral nükleik asit tamponu (VNAT) (BioNAT, Türkiye) içinde ve uygun koşullarda COVID-19 Moleküler Tanı Laboratuvarımıza ulaştırılmaktadır. Sonrasında gelen örneklerde, rutin olarak rRT-PCR testi (GeneMAP™ 2019-nCoV RT-PCR Detection Kit V.3.1, Türkiye) (FAM kanalında: N geni, ROX kanalında: RdRP geni, VIC kanalında: internal kontrol ve CY5 kanalında: 105-107 delesyonu-çalışmanın yapıldığı tarihte Türkiye'de baskın varyant olan Omicron'un tarandığı özgül mutasyon) ile SARS-CoV-2 RNA'sı aranmaktadır.

Çalışmaya, Tıbbi Mikrobiyoloji Moleküler Tanı Laboratuvarımızda, COVID-19 pozitif bulunmuş, farklı viral yüklere sahip ve tamamı Omicron varyantı olan 205 hasta örneği ile COVID-19 negatif olan 90 kontrol örneği dahil edildi. Klasik RT-PCR çalışmasında nükleik asitlerin amplifikasyonu için ortalama 35-45 döngü gerçekleştirilir. Etkenin saptanabilir eşiği aştığı döngü sayısı (cycle of treshold [Ct]) ne kadar düşükse viral yük miktarı da negatif korelasyonlu olarak o oranda yüksektir. Buna dayanarak, SARS-CoV-2 RNA pozitif örnekler viral yüklerine göre; < 25 Ct (n= 50), 25-29 Ct (n= 50), 30-35 Ct (n= 50) ve 35< Ct (n= 55) olmak üzere dört grupta değerlendirildi. COVID-19 negatif kontrol grubu olarak seçilen örnekler, 2020-2022 yılları arasında klinik olarak solunum yolu enfeksiyonu mevcut olup tabloya neden olan patojen(ler)in tanımlanması için Moleküler Tanı Laboratuvarımıza gönderilmiş örneklerdi; GeneMAP™ 2019-nCoV RT-PCR Detection Kit V.3.1 (GeneMark, Türkiye) ile SARS-CoV-2 RNA negatif bulunması sonrası QIAstat-Dx® Respiratory SARS-CoV-2 Panel (Qiagen, Hilden, Almanya) ile solunum yolu enfeksiyonlarında sık karşılaşılan COVID-19 dışı viral etken(ler) pozitif saptanarak arşivlenmiş örnekler arasından seçildi.

Hızlı Antijen Testlerinin Çalışılması

SARS-CoV-2 pozitif örneklerin arşivlenen artan kısımları, aynı gün içinde, dondurulmadan nükleokapsid proteinini hedef alan; Panbio (Abbott, Illinois, ABD), Roche SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test (Roche-SD Biosensor, Gyeonggi-do, Kore Cumhuriyeti), Mölab (Qiagen, Langenfeld, Almanya), Technocatch (Can Kaptan San. Tic. Ltd. Şti., İstanbul,

Türkiye), Redcell (Red Cell Bioteknoloji A.Ş., İstanbul, Türkiye), Wesail (Wesail Biotech. Co. Ltd., Guangdong, Çin), Spesera (Spesera Sağlık Ür. İç ve Dış Tic. Ltd., Türkiye), Chil (Chil Tıbbi Mal. San. Tic. Ltd. Şti., İzmir, Türkiye), Hipro (Hipro Biotech. Co. Ltd., Shijiazhuang, Çin), Hipro Saliva (Hipro Biotech. Co. Ltd., Shijiazhuang, Çin), Vazyme (Vazyme Medical Tech. Co. Ltd, Nanjing, Çin), Novacheck (Novatech Diagnostics, Gaziantep, Türkiye) olmak üzere 12 ticari HAgT kullanılarak lateral-flow yöntemiyle, üretici firmaların prospektüsünde belirtilen öneriler doğrultusunda çalışıldı ve çıplak gözle değerlendirilerek kalitatif sonuçlar elde edildi. HAgT'lerin duyarlılıkları rRT-PCR testi ile karşılaştırmalı olarak değerlendirildi. Kontrol grubu olarak; COVID-19 dışı etken(ler) (rhinovirüs n= 15, mevsimsel koronavirüsler n= 15, influenza virüs n= 15, parainfluenza virüsleri 1-4 n= 15, respiratuvar sinsityal virüs n= 15, diğer-adenovirüs, bocavirüs, metapnömovirüs n= 15) pozitif saptanmış solunum yolu örneklerinden seçilen 90 numunede, olası çapraz reaktivite açısından HAgT'lerin özgüllüğü değerlendirildi.

İstatistiksel Analiz

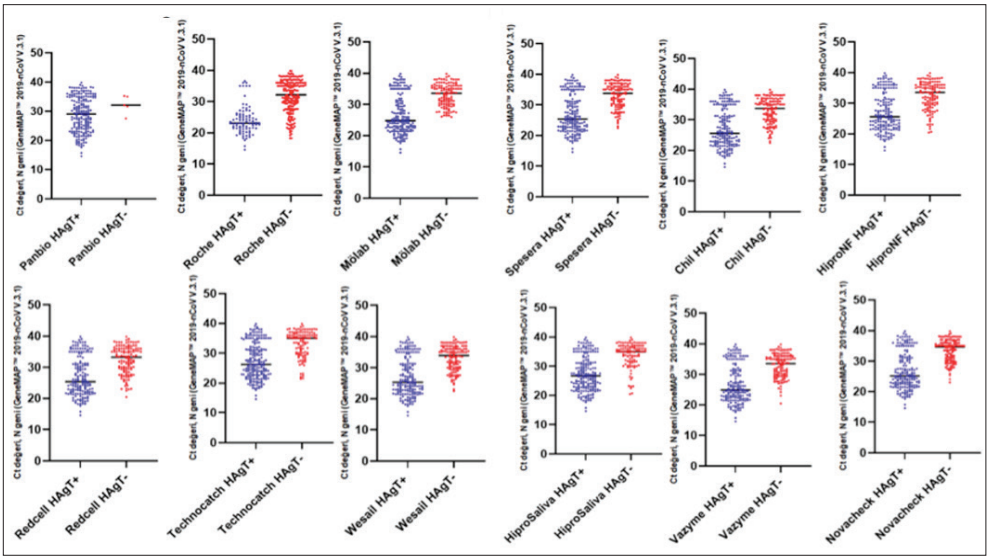
Çalışmada planlanan dört COVID-19 hasta grubu ve kontrol grubunun örneklem büyüklükleri G Power V.3.1.9.4 analiz programı ile hesaplandı. İstatistiksel değerlendirme, IBM SPSS 20.0 (IBM Corp., Armonk, NY, ABD) paket programı ile yapıldı. Kategorik veriler sayı (n), yüzde (%) ve ortalama değerlerle ifade edildi. Duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer (PPD) ve negatif prediktif değer (NPD) hesaplandı. rRT-PCR ve HAgT arasındaki uyum düzeyini değerlendirmek için Cohen'in Kappa katsayısı kullanıldı, uyumda > 0.6 temel alındı; HAgT'lerin duyarlılık ve özgülleri arasında ilişki ROC eğrisi analizi ile değerlendirildi. $p< 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. HAgT sonuçlarının, farklı SARS-CoV-2 rRT-PCR Ct değerlerinde dağılımları Student-t testi ile karşılaştırıldı, Graphpad Prism 9.0.1 programında görselleştirildi.

BULGULAR

Tümü SARS-CoV-2 nükleokapsid proteinini hedef alan LFA temelli immüno-kromatografik kart testlerin, <25 Ct, 25-29 Ct, 30-35 Ct ve 35<Ct değerlerinde viral yüke sahip dört grup SARS-CoV-2 RNA pozitif örneklerde çalışılması sonrası duyarlılıkları değerlendirilmiştir. < 25 Ct değerlerinde viral yüke sahip olan örneklerde duyarlılıkları en yüksek HAgT'ler; Panbio (%100, Abbott), Mölab (%100, Qiagen) ve Novacheck (%98, Novatech), 25-29 Ct değerlerinde viral yüke sahip olan örneklerde duyarlılıkları en yüksek HAgT'ler; Panbio (%98, Abbott), Hipro Saliva (%90, Hipro) ve Technocatch (%76, Can Kaptan), 30-35 Ct değerlerinde viral yüke sahip olan örneklerde duyarlılıkları en yüksek HAgT'ler; Panbio (%98,Abbott), Technocatch (%36, Can Kaptan) ve Hipro Saliva (%32, Hipro) iken 35< Ct değerlerinde viral yüke sahip olan örneklerde duyarlılıkları en yüksek HAgT'ler; Panbio (%94.5, Abbott), Technocatch (%12.7, Can Kaptan) ve Chil (%11, Chil) bulunmuştur (Tablo I). HAgT sonuçlarının, farklı SARS-CoV-2 rRT-PCR Ct değerlerindeki dağılımları karşılaştırıldığında Panbio HAgT'nin tüm Ct aralıklarında yüksek duyarlılığa sahip olduğu, < 25 Ct değerlerde Panbio'dan sonra en duyarlı HAgT'lerin sırasıyla Mölab (%100) ve Novacheck (%98) olduğu görülmüştür (Şekil 1).

Tablo I. *SARS-CoV-2 RT-PCR ile COVID-19 Tanısı Almış < 25 Ct, 25-29 Ct, 30-35 Ct ve 35< Ct Değerlerindeki Viral Yüke Sahip Hasta Gruplarının Nazofarengeal Sürüntü Örneklerinde Çalışılan Farklı Lateral-Flow Testlerin Tanısal Duyarlılık Karşılaştırması*

	< 25 Ct (n= 50)	**25-29 Ct (n= 50)**	**30-35 Ct (n= 50)**	**35< Ct (n= 55)**
HAgT Adı (Firma Adı)	**Duyarlılık % (sayı)**	**Duyarlılık % (sayı)**	**Duyarlılık % (sayı)**	**Duyarlılık % (sayı)**
Panbio (Abbott, ABD)	100 (50/50)	98 (49/50)	98 (49/50)	94.5 (52/55)
Roche (Roche-SD Biosensor, Kore C.)	96 (48/50)	44 (22/50)	14 (7/50)	5.4 (3/55)
Mölab (Qiagen, Almanya)	100 (50/50)	64 (32/50)	8 (4/50)	3.6 (2/55)
Technocatch (Can Kaptan, Türkiye)	88 (44/50)	76 (38/50)	36 (18/50)	12.7 (7/55)
Redcell (Red Cell, Türkiye)	88 (44/50)	52 (26/50)	16 (8/50)	7.3 (4/55)
Wesail (Wesail, Çin)	96 (48/50)	60 (30/50)	18 (9/50)	9.1 (5/55)
Spesera (Spesera, Türkiye)	96 (48/50)	60 (30/50)	16 (8/50)	9.1 (5/55)
Chil (Chil, Türkiye)	96 (48/50)	56 (28/50)	20 (10/50)	11 (6/55)
Hipro NF (Hipro, Çin)	86 (43/50)	60 (30/50)	14 (7/50)	5.4 (3/55)
Hipro Saliva (Hipro, Çin)	88 (44/50)	90 (45/50)	32 (18/50)	9.1 (5/55)
Vazyme(Vazyme, Çin)	96 (48/50)	62 (31/50)	10 (5/50)	0 (0/55)
Novacheck (Novatech,Türkiye)	98 (49/50)	72 (36/50)	14 (7/50)	0 (0/55)



Şekil 1. *HAgT sonuçlarının, farklı SARS-CoV-2 rRT-PCR Ct değerlerinde dağılımlarının karşılaştırılması.*

Çalışmaya dahil edilen on iki HAgT ile; rhinovirüs, respiratuvar sinsityal virüs (RSV), mevsimsel koronovirüsler (HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-OC43, HCoV-HKU1), influenza A ve B, parainfluenza virüsler (PIV 1, 2, 3 ve 4) ve diğer daha az sıklıkta saptanan solunum virüslerinden (adenovirüs, bocavirüs, metapnömovirüs) seçilen on beşer örne-

ğin çapraz reaktivite olasılığını değerlendirmek amacıyla çalışılması sonucu özgüllük değerleri; rhinovirus örneklerinde Roche-SD Biosensor HAgT ile %93.3 (14/15), diğer firma HAgT'leri ile %100 (Abbott, Qiagen, Can Kaptan, Red Cell, Wesail, Spesera, Chil, NF kiti/Hipro, saliva kiti/Hipro, Vazyme ve Novatech) bulundu; mevsimsel koronovirüs örneklerinde Abbott HAgT ile %40 (6/15), diğer firma HAgT'leri ile %100 (Roche-SD Biosensor, Qiagen, Can Kaptan, Red Cell, Wesail, Spesera, Chil, NF kiti/Hipro, saliva kiti/Hipro, Vazyme ve Novatech) bulunmuştur; diğer solunum yolu viral etkenleri için herhangi bir firmanın HAgT'si ile çapraz reaktivite saptanmamıştır (Tablo II).

HAgT'lerin hasta ve kontrol gruplarındaki toplam duyarlılıkları değerlendirildiğinde en yüksek; Panbio (%97.5, Abbott), Technocatch (%52.1, Can Kaptan) ve Hipro Saliva (%54.6, Hipro) bulunmuştur, toplam özgüllükleri ise Panbio HAgT için %90, Roche HAgT için %98.7 diğer HAgT'lerde ise %100 bulunmuştur.

COVID-19 tanısında altın standart yöntem olan rRT-PCR ile HAgT'ler arasındaki uyum düzeyini değerlendirmek için yapılan Cohen'in kappa katsayısı hesaplamasına göre en iyi uyumu sırasıyla 0.88 ile Panbio, 0.42 ile Hipro Saliva ve 0.39 ile Technocatch HAgT göstermiştir. Bunlardan yalnız Panbio HAgT'nin uyumluluğu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Çalışılan tüm testlerin duyarlılık, özgüllük, PPD, NPD ve kappa değerleri Tablo III'te ayrıntılı olarak verilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen her HAgT için duyarlılık ve özgüllükleri arasındaki ilişki ROC eğrisi analizi ile Şekil 2'de verilmiştir. Buna göre etkinliği en yüksek HAgT'nin Panbio olduğu izlenmiştir.

TARTIŞMA

COVID-19'un erken ve yüksek özgüllükteki tanısı, hastalara uygun tedaviye başlanabilmesi diğer yandan da özellikle asemptomatik hastalarca virüs yayılımının önlenmesi ve salgının sınırlandırılması için oldukça önemlidir. SARS-CoV-2 enfeksiyonunun tanısında altın standart, solunum yolu süründü örneklerinden çalışılan rRT-PCR testidir[5-7]. Ancak pandemi döneminde yoğun olarak tanı ve tarama amaçlı kullanılmış olan bu moleküler testlerin; yüksek maliyet, çalışma prosedürleri için nitelikli personel ve biyogüvenlik açısından uygun laboratuvar koşulları gerektirmesi, sık karşılaşılan kontaminasyon problemleri gibi belli kullanım kısıtlılıkları mevcuttur. Bu durum, SARS-CoV-2 enfeksiyonunun tanısında ve toplumun taranmasında kullanılmak üzere yüksek duyarlılık ve özgüllüğü korunurken; düşük maliyetli, pratik ve hızlı sonuç sağlayacak seroloji temelli test arayışını doğurmuştur. Bu çalışmada, piyasada ticari olarak mevcut immüno-kromatografik SARS-COV-2 hızlı antijen testlerinin tanısal performanslarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışma bulgularımızda, SARS-COV-2 HAgT duyarlılıkların %40.4-97.5 (ort: %54.8) arasında geniş bir aralıkta değiştiği görülmüştür. Pray ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada8, HAgT'lerin duyarlılıkları %41.2 gibi düşük bir değerde hesaplanırken Dinnes ve arkadaşları tarafından yapılan meta-analizde ise çalışmalarda karşılaştırılan HAgT'lerin duyarlılıklarının %0-94 arasında değiştiği ve ortalama %56.2 olduğu belirtilmiştir[9].

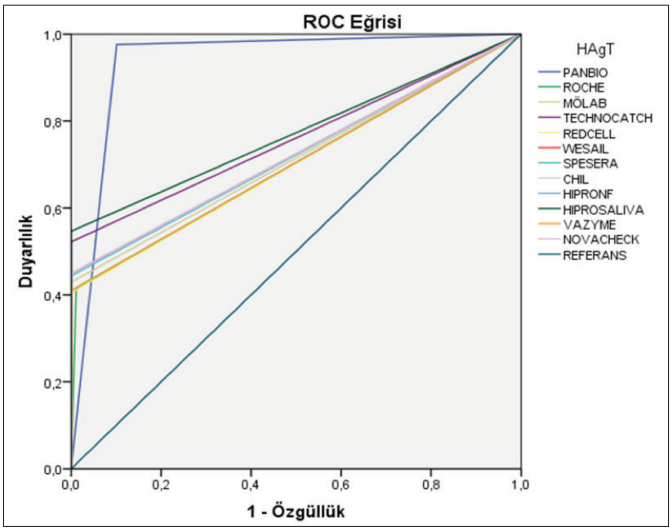
Tablo II. *COVID-19 Dışı Solunum Yolu Patojenleri Saptanan Kontrol Grubu Nazofarengeal Süründü Örneklerinde Çalışılan Farklı Lateral-Flow Testlerin Özgüllük Karşılaştırması*

	Rhinovirus (n= 15)	**Solunum Sinsityal Virüs (n= 15)**	**Mevsimsel Koronavirüsler (n= 15)**	**İnfluenza A/B (n= 15)**	**Parainfluenza Virüs 1/2/3/4 (n= 15)**	**Diğer (n= 15)**
HAgT Adı (Firma Adı)	**Özgüllük (%)**	**Özgüllük (%)**	**Özgüllük (%)**	**Özgüllük (%)**	**Özgüllük (%)**	**Özgüllük (%)**
Panbio (Abbott, ABD)	100 (15/15)	100 (15/15)	**40 (6/15)**	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)
Roche (Roche-SD Biosensor, Kore)	**93.3 (14/15)**	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)
Mölab (Qiagen, Almanya)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)
Technocatch (Can Kaptan, Türkiye)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)
Redcell (Red Cell, Türkiye)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)
Wesail (Wesail, Çin)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)
Spesera (Spesera, Türkiye)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)
Chil (Chil, Türkiye)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)
Hipro NF (Hipro, Çin)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)
Hipro Saliva (Hipro, Çin)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)
Vazyme (Vazyme, Çin)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)
Novacheck (Novatech,Türkiye)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)

Tablo III. *COVID-19 Hasta ve COVID-19 Dışı Solunum Yolu Patojenleri Saptanan Kontrol Grupları Nazofarengeal Süürüntü Örneklerinde Çalışılan Farklı Lateral-Flow Testlerin Tanısal Performans Parametrelerinin Karşılaştırması*

	Toplam (Hasta grupları n= 205, Kontrol grubu n= 90)				
HAgT Adı (Firma Adı)	**Duyarlılık (%)**	**Özgüllük (%)**	**PPD (%)**	**NPD (%)**	**Kappa Katsayısı**
Panbio (Abbott, ABD)	97.5	90.0	95.6	94.1	0.88
Roche (Roche-SDBiosensor, Kore C.)	41.4	98.7	98.8	42.3	0.29
Mölab (Qiagen, Almanya)	42.9	100	100	43.2	0.31
Technocatch (Can Kaptan, Türkiye)	52.1	100	100	47.8	0.39
Redcell (Red Cell, Türkiye)	40.4	100	100	38.5	0.29
Wesail (Wesail, Çin)	44.8	100	100	44.0	0.33
Spesera (Spesera, Türkiye)	44.3	100	100	43.8	0.32
Chil (Chil, Türkiye)	44.8	100	100	44.0	0.33
Hipro NF (Hipro, Çin)	40.9	100	100	42.3	0.29
Hipro Saliva (Hipro, Çin)	54.6	100	100	48.9	0.42
Vazyme (Vazyme, Çin)	40.9	100	100	42.3	0.29
Novacheck (Novatech,Türkiye)	44.8	100	100	44.0	0.33

PPD: Pozitif prediktif değer, NPD: Negatif prediktif değer.



Şekil 2. *Çalışmaya dahil edilen; Panbio (Abbott, Illinois, ABD), Roche SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test (Roche-SDBiosensor, Kore Cumhuriyeti), Mölab (Qiagen, Langenfeld, Almanya), Technocatch (Can Kaptan San. Tic. Ltd.Şti., İstanbul, Türkiye), Redcell (Red Cell Bioteknoloji A.Ş., İstanbul, Türkiye), Wesail (Wesail Biotech. Co. Ltd., Guangdong, Çin), Spesera (Spesera Sağlık Ür. İç ve Dış Tic. Ltd., Türkiye), Chil (Chil Tıbbi Mal. San. Tic. Ltd.Şti., İzmir, Türkiye), Hipro (Hipro Biotech. Co. Ltd., Shijiazhuang, Çin), Hipro Saliva (Hipro Biotech. Co. Ltd., Shijiazhuang, Çin), Vazyme (Vazyme Medical Tech. Co. Ltd, Nanjing,Çin), Novacheck (Novatech Diagnostics, Gaziantep,Türkiye) HAg testlerinin ROC analizi.*

Çalışmamıza benzer şekilde tasarlanmış SARS-CoV-2 RNA pozitif örnekleri rRT-PCR Ct değerlerine göre; Ct< 25, Ct= 25 - < 30, Ct= 30 - < 35 ve Ct≥ 35 olarak dört grupta değerlendiren bir çalışmada duyarlılıklar sırasıyla %100, %95, %44.8 ve %22 bulunmuştur[10]. Bir başka meta-analizde rRT-PCR ile Ct 25< değerlerde duyarlılıkların anlamlı oranda düştüğü (%50.7), Ct 30< değerlerde ise %20.9 olarak saptandığı belirtilmiştir[11]. Bu verilerle uyumlu olarak < 25 Ct değerlerinde; ECDC ve DSÖ tarafından test performansları açısından kabul edilebilir asgari sınır olarak belirlenen ≥ %90 duyarlılık değerinin çalışmaya dahil edilen HAgT'lerin çoğu tarafından sağlandığı ancak Ct değerleri artışıyla orantılı olarak duyarlılıkların da düştüğü görülmüştür[1,12].

Corman ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada[13], değerlendirilen HAgT'lerde Abbott ve Roche firmalarına ait kitler de dahil olmak üzere düşük oranda (Abbott ile 1 RSV/100 örnek, Roche ile 1 PIV3/100 örnek) yalancı pozitif sonuçların saptandığı görülmüştür. Abbott ve Roche HAgT'lerinin karşılaştırıldığı başka bir çalışmada ise özgüllükleri sırasıyla %100 ve %99.7 (1/338) olarak bildirilmiştir[14]. Çalışmamızda da 90 adet kontrol örneği içinde; Abbott HAgT ile SARS-CoV-2'nin evrimsel olarak görece yakın bulunduğu iki HCoV-229E ve dört HCoV-OC43 örneğinde yalancı pozitiflik saptanırken Roche HAgT ile bir rhinovirus örneğinde yalancı pozitiflik saptanmış olup bunun çapraz reaktivite ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. Çalışmamıza dahil ettiğimiz HAgT özgüllüklerinin, Abbott HAgT dışında, ECDC ve DSÖ tarafından kabul edilebilir sınır olan ≥ %97 olduğu görülmüştür[15-17].

Sonuç olarak, salgın kontrolü büyük ölçüde test sıklığına, raporlama hızına ve müdahalelerin katı uygulanmasına bağlıdır ve kullanılan testlerin duyarlılığı ile yalnızca sınırlı olarak iyileştirilebilir. Bu sebeple güncel varyantlara göre klinik validasyonu yapılmış COVID-19 HAgT'lere ihtiyaç vardır. Toplu yaşam alanlarında aralıklı uygulanan HAgT'ler enfeksiyonun erken aşamalarında SARS-CoV-2'yi tanımlayacak ve böylece hastalık bulaşmasını önemli ölçüde azaltacak bir halk sağlığı uygulaması olacaktır. Ancak test uygulayıcıları re-enfeksiyon ve aşılanmanın test performanslarını etkilenebileceğini ve yanlış negatif/pozitif test sonuç olasılığının mevcut olduğunu akılda bulundurmalı ve ek doğrulayıcı testlere gereksinimi belirlemek için kullanılan testin performans özelliklerini (duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerleri) iyi bilmelidir. HAgT'lerin iş yerlerinde ve diğer ortak yaşam alanlarında kullanılması ancak işyerindeki mesleki güvenlik ve sağlık önlemlerinin birlikte uygulanması durumunda tamamlayıcı olup, bu koşullar sağlanarak kullanılmalıdır.

ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışma, T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Bilimsel Araştırmalar Kurulu (Karar No: 2021-11-25T02_54_57) ve İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu (Tarih: 16.02.2022 ve Karar No: 2015-KAEK-60-22-01) onayı ile İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu ve Helsinki Bildirgesi ilkeleri doğrultusunda gerçekleştirilmiştir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. World Health Organization (WHO). Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays. Interim guidance. Avaialable from: https://www.who.int /publications/i/item/antigen-detection-in-the-diagnosis-of-sars-cov-2infection-using-rapid-immunoassays (Accessed date: 21 June 2020).
2. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Interim guidance for antigen testing for SARS-CoV-2. Available from: https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/antigen-tests-guidelines.html (Accessed date: 14 June 2021).
3. CDC. Interim guidance for antigen testing for SARS-CoV-2, Updated Jan. 20, 2022. Available from: https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/antigen-tests-guidelines.html
4. U.S. Food and Drug Administration (FDA). Available from: https://www.fda.gov/medical-devices/coronavirusdisease-2019-COVID-19-emergency-useauthorizations-medical-devices/vitro-diagnosticseuas#individual-antigen
5. Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. Nature 2020; 579(7798): 270-73. https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7
6. WHO. Available from: https://www.who.int/dg/speeches/detail/whodirector-general-s-opening-remarks-at-the-mission-briefing-on-covid-19-12-march-2020. (Accessed date: 21 March 2021)
7. Li X, Geng M, Peng Y, Meng L, Lu S. Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. J Pharm Analysis 2020; 10(2): 102-8. https://doi.org/10.1016/j.jpha.2020.03.001
8. Pray IW, Ford L, Cole D, Lee C, Bigouette JP, Abedi GR, et al. CDC COVID-19 Surge Laboratory Group. Performance of an antigen-based test for asymptomatic and symptomatic SARS-CoV-2 Testing at Two University Campuses-Wisconsin, SeptemberOctober 2020. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2021; 69(5152): 1642. https://doi.org/10.15585/mmwr.mm695152a3
9. Dinnes J, Deeks JJ, Adriano A, Berhane S, Davenport C, Dittrich S, et al. Cochrane COVID-19 Diagnostic Test Accuracy Group 2. Rapid, point-of-care antigen and molecular-based tests for diagnosis of SARSCoV-2 infection. Cochrane Database Syst Rev 2020; 26(8): CD013705. https://doi.org/10.1002/14651858.CD013705
10. 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
11. Brümmer LE, Katzenschlager S, Gaeddert M, Erdmann C, Schmitz S, Bota M, et al. Accuracy of novel antigen rapid diagnostics for SARS-CoV-2: A living systematic review and meta-analysis. PLoS Med 2021; 18(8): e1003735. https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1003735
12. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Options for the use of rapid antigen tests for COVID-19 in the EU/EEA and the UK, 19 November 2020, https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/Options-use-of-rapid-antigen-tests-forCOVID-19_0.pdf.
13. Corman VM, Haage VC, Bleicker T, Schmidt ML, Mühlemann B, Zuchowski M, et al. Comparison of seven commercial SARS-CoV-2 rapid point-of-care antigen tests: a single-centre laboratory evaluation study. Lancet Microbe 2021; 2(7): e311-e319. https://doi.org/10.1016/S2666-5247(21)00056-2
14. Berger A, Nsoga MTN, Perez-Rodriguez FJ, Aad YA, Sattonnet-Roche P, Gayet-Ageron A, et al. Diagnostic accuracy of two commercial SARS-CoV-2 antigen-detecting rapid tests at the point of care in community-based testing centers. PLoS One 2021; 16(3): e0248921. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0248921
15. CDC. CDC Guidance for Expanded Screening Testing to Reduce Silent Spread of SARS-CoV-2. Available from: https:// www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/php/testing/expanded-screening-testing.html (Accessed date: 25 February 2021).

16. CDC. Science Brief: Options to Reduce Quarantine for Contacts of Persons with SARS-CoV-2 Infection Using Symptom Monitoring and Diagnostic Testing. Avaialble from: https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/science/science-briefs/scientific-brief-options-to-reduce-quarantine.html (Accessed date: 22 June 2021).
17. Paltiel AD, Zheng A, Walensky RP. Assessment of SARS-CoV-2 screening strategies to permit the safe reopening of college campuses in the United States. JAMA Netw Open 2020; 3(7): e2016818. https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2020.16818