



## SEROLOGIC TESTING OF US BLOOD DONATIONS TO IDENTIFY SEVERE ACUTE RESPIRATORY SYNDROME CORONAVIRUS 2 (SARS-COV-2)-REACTIVE ANTIBODIES: DECEMBER 2019–JANUARY 2020

### ARALIK 2019-OCAK 2020 ARASINDA ABD'DEKİ KAN BAĞIŞÇILARINDA SEROLOJİK TESTLERLE CİDDİ AKUT RESPİRATUAR SENDROM CORONAVIRUS 2 (SARS-COV-2) REAKTİF ANTİKORLARININ TANIMLANMASI

**ALINTI:** doi: 10.1093/cid/ciaa1785

**YAZARLAR:** Basavaraju SV, Patton ME, Grimm K, Ur Rasheed MA, Lester S, Mills L, Stumpf M, Freeman B, Tamin A, Harcourt J, Schiffer J, Semenova V, Li H, Alston B, Ategbale M, Bolcen S, Boulay D, Browning P, Cronin L, David E, Desai R, Epperson M, Gorantla Y, Jia T, Maniatis P, Moss K, Ortiz K, Park S, Patel P, Qin Y, Steward-Clark E, Tatum H, Vogan A, Zellner B, Drobeniuc J, Sapiano MRP, Havers F, Reed C, Gerber S, Thornburg NJ, Stramer SL.

**ÖZETLEYEN:** Dr. Betül GÜNAYDIN

#### GİRİŞ:

SARS-CoV-2, Dünya Sağlık Örgütü'nün ilk olarak 31 Aralık 2019'da Çin, Wuhan'da sebebi bilinmeyen pnömoni vakaları olarak bildirdiği sendromdur. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde, ilk COVID-19 enfeksiyonu, 19 Ocak 2020'de, yerel testler başlatıldıktan 2 gün sonra Çin'den gelen bir yolcudaki bildirilmiş olmasına rağmen bazı raporlar, SARS-CoV-2'nin ABD'de girişinin bildirilenden daha erken olabileceğini göstermektedir.

Retrospektif serolojik testler, SARS-CoV-2'nin popülasyona girişini tespit etmede verilerini destekleyebilir. Bu amaçla, 13 Aralık 2019 ile 17 Ocak 2020 tarihleri arasında Amerikan Kızıl Haçı tarafından toplanan ve depolanan kan bağıışı örnekleri, SARS CoV-2 antikorlarının retrospektif araştırılması amacıyla Kontrol ve Önleme Hastalık Merkezlerine (CDC) gönderilmiştir.



## GEREÇ-YÖNTEM

Tüm kan bağışçuları, tıbbi ve sosyal geçmiş anketlerine ve seyahat geçmişi sorgulamasına tabi tutulmaktadır. SARS-CoV-2 riski sebebiyle Çin'e seyahat öyküsü kaynaklı donör reddi Şubat 2020 'ye kadar uygulanmamıştır. California, Connecticut, Iowa, Massachusetts, Michigan, Oregon, Rhode Island, Washington ve Wisconsin'de ikamet eden donörlerden, 13 Aralık 2019- 17 Ocak 2020 arası Amerikan Kızıl Haçı tarafından toplanan rutin bağışlardan arşivlenmiş serum örnekleri ek testler için CDC' ye (Atlanta, Georgia) gönderilmiştir (n=7389). CDC' de serumlar, S1 ve S2 alanlarını içeren spike proteinini (S) hedefleyen total-immünoglobulin (total-Ig) enzim bağlantılı immünosorbent deneyi (ELİSA) kullanılarak taranmıştır. Tarama ELİSA' sında (1:100 dilüsyonda test edilmiştir) 0,5 veya daha fazla optik yoğunluğa (OD) sahip olarak tanımlanan ilk reaktif numuneler, daha sonra aynı ELİSA yöntemiyle 1:100 ve 1:400 dilüsyonlarda refleks testlerle doğrulanmıştır. 1:100 dilüsyon ve 0,4 düzeltilmiş OD' de, testin özgüllüğü %99.3 ve duyarlılığı %96 olarak saptanmıştır. İzotipe özgül testler aynı ELİSA tekniği ile, IgG ve IgM'e spesifik sekonder antikolar kullanılarak çalışılmıştır. Doğrulanmış reaktif örnekler sonraki aşamalarda şu testler ile test edilmiştir; canlı SARS-CoV-2 USA WA1/2020 ile mikronötralizasyon, SARS-CoV-1 S1 total-Ig ELİSA (Ortho Diagnostics, Raritan, NJ) ve serumun S reseptör bağlanma alanı (RBD) ile ACE2 hücre reseptörü arasındaki bağlanmayı bloke etme yeteneğini ölçen temsili nötralizasyon testi. Mikronötralizasyon testi için, serumlar 1:20 ile 1:640 arasında seri olarak 2 kat seyreltilerek, 37 °C'de 30 dakika boyunca virüsle inkübe edilip Vero CCL-81 hücrelerine inoküle edilmiştir. 5 gün sonra hücreler sabitlenmiş ve canlı/ölü hücreleri gözlemlenmek için formalin-kristal viole ile boyanmıştır. Serumun viral enfeksiyonu engellediği en yüksek dilüsyon, nötrale edici titre olarak belirlenmiş ve >40 pozitif olarak belirlenmiştir.

## SONUÇ- TARTIŞMA

CDC' ye gönderilen 7.389 numunenin 106' sı total-Ig ELİSA testiyle reaktif olarak tespit edilmiştir. Bu 106 reaktif örnekten 90 tanesine izotip spesifik spike protein ELİSA, Orto total-Ig S1 testi, mikronötralizasyon testi ve RBD ile ACE2 bağlanmasını bloke edebilme kabiliyetini ölçen temsili nötralizasyon testleri yapılmıştır (Tablo 1). Mikronötralizasyon testinde 84 numunenin sonlanım noktası 40' dan büyüktü. Anti-spike protein izotip yanıtlarına bakıldığında; 90 numunenin 39'unda IgG ve IgM pozitif (%43,3), 8 'inde IgM pozitif IgG negatif, 29'unda IgG pozitif IgM negatif, geriye kalan 14 numunede sadece sekonder total Ig testi pozitif saptanmıştır. Orto S1 total Ig testinde, 1 reaktif serum örneğinin sinyal eşik değeri 1,89'dur. Temsili nötralizasyon testinde 21 serumda %20-30, 1'inde %45, 1'inde %71 (toplam 23 örnek) inhibisyon gözlemlenmiştir (Şekil 1).



Bu bulgular, izole edilmiş SARS CoV-2 enfeksiyonlarının ABD' nin batı kesiminde söylenen tarihten daha önce meydana gelmiş olabileceğini veya popülasyonun küçük bir kısmının SARS-CoV-2 S proteinini bağlayan antikorlara önceden sahip olabileceğini göstermektedir. Bu durum, ABD popülasyonunda bildirilenden daha önce SARS-CoV-2 enfeksiyonlarının olabileceği fikrini desteklemektedir.

COVID-19 salgını ilerledikçe, kişilerin daha önce enfeksiyon geçirip geçirmediğini belirlemek için SARS-CoV-2'nin tespitine yönelik çeşitli serolojik testler geliştirilmiştir. Yakın tarihli bir çalışma, ELİSA testinde SARS-CoV-2 ile yaygın insan koronavirüslerinin küçük bir kısmı (özellikle OC43) arasında çapraz reaksiyon olabileceğini göstermiştir. Yapılan çalışmalarda tüm S proteininin antijen olarak kullanıldığı ELİSA testlerinde çapraz reaksiyon ihtimali daha fazla bulunmuş, S1 alt ünitesinin SARS-CoV-2 için daha spesifik olduğu belirlenmiştir. Yine yapılan çalışmalarda, IgM veya IgA antikor varlığının SARS-CoV-2 enfeksiyonları açısından daha anlamlı olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmada, 90 reaktif serumdan 84' ünde (>% 93) SARS-CoV-2 virüsüne karşı nötralize edici etkinlik, 39' unda (% 44,3) hem IgG hem de IgM yapısında SARS-CoV-2 S proteinine özgü antikor varlığı, 2' sinde (%2,2) temsili nötralizasyon aktivitesi ve 1' inde (% 1,1) SARS-CoV-2 S1' e özgü Ig tespit edilmiştir. Sonuç olarak bu veriler, reaktif kan donör serumlarının en azından bir kısmının önceki SARS-CoV-2 enfeksiyonundan kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Aynı zamanda, serumların hiçbirinin “gerçek pozitif” olarak kesinleştirilememesi, çalışmaya dahil edilen donörlerin seyahat öyküsünün değerlendirilemesi ve saptanan sonuçların tüm popülasyonu yansıtmaması bu çalışmanın zayıf yönleridir. Bu nedenle, Aralık 2019'un ortalarında ABD'de SARS-CoV-2'ye özgü antikorların varlığını öne süren mevcut bulguları daha da doğrulamak için insan örneklerinin moleküler veya serolojik yöntemlerle retrospektif analizlerini içeren daha ileri çalışmalar gerekmektedir.

**Tablo 1:** Test Edilen Numune Sayısı, Reaktif Numune Sayısı, Mikronötralizasyon ve Temsili Nötralizasyon Testi Pozitif Numune Sayısı, S1 Orto Testi Pozitif Numune Sayısı

	No. tested	No. Reactive (% of Tested)	No. Reactive With Further Testing (% of Tested)	No. Reactive With Positive Microneutralization (% of Tested)	No. With Surrogate Neutralization (% of Reactive With Positive Microneutralization)	No. S1 Reactive (Ortho)
All specimens	7389	106 (1.4)	90 (1.2)	84 (1.1)	23 (27.4)	1
All specimens from 13–16 December 2019	1912	39 (2.0)	39 (2.0)	37 (1.9)	9 (24.3)	1
American Red Cross Blood Services region						
Northern California (CA)	508	12 (2.4)	12 (2.4)	11 (2.2)	7 (63.6)	1
Pacific Northwest (OR, WA)	763	16 (2.1)	16 (2.1)	15 (2.0)	1 (6.7)	0
Southern California (CA)	641	11 (1.7)	11 (1.7)	11 (1.7)	1 (9.1)	0
Donor sex						
Female	859	12 (1.4)	12 (1.4)	11 (1.3)	1 (9.1)	0
Male	1053	27 (2.6)	27 (2.6)	26 (2.5)	8 (30.8)	1
Donor age group						
16–29 y	254	3 (1.2)	3 (1.2)	2 (0.8)	2 (100.0)	1
30–39 y	298	3 (1.0)	3 (1.0)	3 (1.0)	1 (33.3)	0
40–49 y	291	6 (2.1)	6 (2.1)	6 (2.1)	1 (16.7)	0
50–59 y	397	9 (2.3)	9 (2.3)	8 (2.0)	2 (25.0)	0
60–69 y	483	14 (2.9)	14 (2.9)	14 (2.9)	3 (21.4)	0
70 y or older	189	4 (2.1)	4 (2.1)	4 (2.1)	0 (0.0)	0
All specimens from 30 December 2019–17 January 2020	5477	67 (1.2)	51 (0.9)	47 (0.9)	14 (29.8)	0
American Red Cross Blood Services region						
New England (MA)	1963	18 (0.9)	11 (0.6)	11 (0.6)	1 (9.1)	0
Badger-Hawkeye (WI, IA)	1556	22 (1.4)	17 (1.1)	16 (1.0)	6 (37.5)	0
Great Lakes (MI)	416	5 (1.2)	5 (1.2)	3 (0.7)	0 (0.0)	0
Connecticut (CT, RI)	1542	22 (1.4)	18 (1.2)	17 (1.1)	7 (41.2)	0
Donor sex						
Female	2541	23 (0.9)	19 (0.7)	16 (0.6)	6 (37.5)	0
Male	2936	44 (1.5)	32 (1.1)	31 (1.1)	8 (25.8)	0
Donor age group						
16–29 y	641	7 (1.1)	4 (0.6)	3 (0.5)	2 (66.7)	0
30–39 y	587	9 (1.5)	8 (1.4)	8 (1.4)	3 (37.5)	0
40–49 y	779	11 (1.4)	9 (1.2)	9 (1.2)	1 (11.1)	0
50–59 y	1447	15 (1.0)	11 (0.8)	9 (0.6)	3 (33.3)	0
60–69 y	1410	16 (1.1)	12 (0.9)	11 (0.8)	3 (27.3)	0
70 y or older	613	9 (1.5)	7 (1.1)	7 (1.1)	2 (28.6)	0

\*13-16 Aralık 2019 tarihleri arasında ve 30 Aralık 2019 ile 17 Ocak 2020 tarihleri arasında toplanan örnekler ayrı ayrı özetlenmiştir.