

## ANTI-SARS-COV-2 VIRUS ANTIBODY LEVELS IN CONVALESCENT PLASMA OF SIX DONORS WHO HAVE RECOVERED FROM COVID-19

### COVID-19 GEÇİRMİŞ VE İYİLEŞMİŞ ALTI BAĞIŞÇIDAN ELDE EDİLEN KONVALESAN PLAZMADAKİ ANTI-SARS-COV-2 VİRÜS ANTİKOR SEVİYELERİ

**ALINTI:** <https://doi.org/10.18632/aging.103102>

**YAZARLAR:** LiboZhang, RongrongPang, XiangXue, JingjingBao, Sheng Ye, YudongDai, YishanZheng, Qiang Fu, Zhiliang Hu, YongxiangYi

**ÖZETLEYEN:**Dr. Başak Göl Serin

#### GİRİŞ:

Etkinliği kanıtlanmış antiviral tedavinin yokluğu, iyileşmiş hastalardan toplanan SARS-CoV-2'ye özgü antikorları içeren plazmalarla şiddetli SARS-CoV-2 enfeksiyonunu tedavi etme girişimlerine yol açmıştır. Diğer viral enfeksiyonlardan elde edilen verilerden, yüksek antikor seviyeli konvalesan plazmanın (KP) virüs yükü üzerinde büyük etkiye sahip olabileceği öne sürülmüştür. Bu makalede, Çin'in Nanjing kentinde altı bağışçıdan elde edilen KP'daki anti-SARS-CoV-2 antikor seviyelerine ilişkin bulgular ve bu KP ile tedavi edilen bir vakanın klinik gidişatı anlatılmaktadır.

#### GEREÇ-YÖNTEM:

Çin Ulusal Sağlık Komisyonu tarafından onaylanan KP kullanım kılavuzları kapsamında, yüksek antikor seviyeli plazma toplamak, bağışçı taramak ve numune analizi için protokol geliştirilmiştir.

PCR ile SARS-CoV-2 enfeksiyonu doğrulanan, semptom başlangıcından itibaren en az dört hafta geçen ve iyileşen 8 hastapotansiyel plazma bağışçıları olarak taranmış; bir vaka alanintransaminaz yükselmesi ve diğer vaka düşük hemoglobin seviyesinedeniyle çalışmadan dışlanmış. KP, COVID-19'tan iyileşmiş, ardışık 2 PCR testleri negatif olan 6 bağışçıdan aferez ile toplanmıştır. Anti-SARS-CoV-2 IgG plazmadan, IgM serumdan çalışılmıştır. SARS-CoV-2'nin nükleokapsid (N) proteinine dayanan iki katı fazlı mikropilaka ELISA kullanılmıştır (Livzon, Diagnostics Inc., Zhuhai, Çin). İlk kit, IgM antikorunu saptamak için, yabancı peroksidaz (horseradish peroxidase-HRP) işaretleyicili SARS-CoV-2 antijenlerini kullanan

capture ELISA; ikinci kit, IgG antikoru saptamak için indirek ELISA testiydi. Sonuçlar, bağışçı numunesinin optik dansite(OD) değerinin kesme OD değerine bölünmesiyle hesaplanan OD oranı olarak rapor edilmiş,eşik değerler: <1 oranı negatif ve  $\geq 1$  pozitif olarak kabul edilmiştir.

## SONUÇ:

**KP bağışçıların COVID-19 enfeksiyonları;** yaşları 30-50 arasında değişen ikisi kadın altı bağışçının enfeksiyonları sırasında ateş ve öksürükleri vardı. Bağışçı D'nin iyi huylu tümör nedeniyle beyin ameliyatı geçmişi dışında diğer beş bağışçının altta yatan herhangi bir komorbiditeleri yoktu. Bağışçıların COVID-19 nedeniyle hastaneye yatırıldıklarında başlangıçtaki laboratuvar tetkikleri Tablo 1'de özetlenmiştir. Toraks BT taramalarında altı bağışçının hepsinde bilateral pnömoni mevcuttu. Hastanede yatış sırasında tüm bağışçılara rutin interferon- $\alpha$  (500 WU, günde iki kez, aerosol inhalasyon) ve lopinavir/ritonavir (400/100 mg, günde iki kez) antiviral tedavi uygulanmış, Donör B, C, D ve E ayrıca intravenöz immünoglobulin verilmiştir. Bağışçı B, D ve F'ye 3 günlük metilprednizolon (günde 40 mg) uygulanmıştır. Hiçbir bağışçı mekanik ventilasyon veya yoğun bakım ünitesinde tedavi almamıştır. Bağışçılar, klinik iyileşme sağlandıktan sonra taburcu edilmiştir.

Bağışlanan plazmaların HBV, HCV, HIV ve sifiliz testleri negatif ve ek olarak plazmada RT-PCR ile rezidüel SARS-CoV-2 negatif saptanmıştır. Anti-SARS-CoV-2 antikoları; IgM antikoru, bağışçı F dışındaki tüm bağışçılar için zayıf reaktif (OD oranı 1.22-5.63), bağışçı F içinse daha yüksek bulunmuştur. IgG ELISA testi hepsinde pozitif saptanmıştır (OD oranı 3.92-8.36) (Tablo 2). Biri hariç tüm bağışçılar, yüksek IgG titreleri ( $\geq 1: 320$ ) (Şekil 1) tespit edilmiştir. Bununla birlikte düşük IgG titresine sahip bağışçı D (1:40) (Şekil 1), uygun bağışçı olarak kabul edilmemiştir. Bağışçı D, en uzun semptom başlangıcı ve plazma toplama arası geçen süreye (46 gün) sahip, hastanede kalış süresi en uzun (19 gün) olan ve en düşük CD19 + B hücre sayısına sahip bağışçı olmuştur(Tablo 3).

**KP alıcısı;** 64 yaşında kadın hasta, 3 gündür devam eden ateş, yorgunluk, bulantı ve kusma nedeniyle hastaneye yatırılmış ve COVID-19 tanısı konmuştur. Hipertansiyonu ve diyabeti olan hasta yatışının 4. gününde yoğun bakım ünitesine yatırılmış ve 1 hafta sonra invaziv mekanik ventilasyon uygulanmıştır. Entübasyon sırasında boğaz sürüntü örneğinden COVID PCR negatif bulunmuştur. Hastaneye yatışının 17. gününde, hasta invazif mekanik ventilasyon

alırken, bağışçı B' den 200 mL KP verilmiştir. Plazma transfüzyonu sırasında hastanın lenfosit sayısı  $0.44 \times 10^9/L$  ydi. Böbrek ve karaciğer fonksiyonu, protrombin zamanı, kreatinkinaz, laktat dehidrojenaz ve miyokard enzimleri dahil olmak üzere diğer kan incelemeleri değişmezken, D-dimer'de artış saptanmıştır (2.31 mg/L). Transfüzyon reaksiyonu gerçekleşmemiştir. Lenfosit sayısı 1 hafta boyunca  $0.5 \times 10^9/L$ 'nin altında kalmıştır. Plazma transfüzyonundan 11 gün sonra mekanik ventilasyona ihtiyacı kalmamış ve sonrasında genel servise nakledilmiştir.

### **TARTIŞMA:**

Bu makalede KP bağışçı popülasyonunda SARS-CoV-2 enfeksiyonunun serolojik bulguları bildirilmiştir. Ön bulgular, yakın zamanda COVID-19 geçiren ve iyileşen hastaların, diğer kan bağışı kriterlerini karşılamaları koşuluyla, potansiyel uygun bağışçı olabileceğini düşündürmektedir. Deneyimlerimiz birkaç vakayla sınırlı olsa da serum veya plazmada SARS-CoV-2'ye karşı antikorların ELISA ile saptanabildiği gösterilmiştir. Altı bağışçının tümü akut veya mevcut enfeksiyonu temsil eden pozitif IgM sonuçlarına sahip idi. Bağışçıların hepsinde var olan IgM pozitifliği bize, COVID-19 salgınında uygun bağışçı bulma zorluğu nedeniyle, IgM negatifliğinin sağlanmasının KP bağışçısının seçimi için zorunlu bir gereklilik olmadığını düşündürmektedir.

ELISA testlerinin reaktivitesi, plazma toplama zamanlamasından, hastalığın ciddiyetinden veya kortikosteroid uygulamasından etkilenebilir. Kitlerin performansını değerlendirebilmek için henüz anti-SARS-CoV-2 antikorlarının referans materyalleri sunulmamıştır. Çalışmamız, SARS-CoV-2 enfeksiyonuna karşı humoral yanıtı daha iyi anlamak için ileriye dönük seroloji çalışmalarına ve kalite çerçevesinde iyi laboratuvar uygulamalarına olan ihtiyacı da vurgulamaktadır.

Çalışmanın kısıtlılığı, sonraki SARS-CoV-2 enfeksiyonuna karşı korumada antikor titrelerinin klinik öneminin belirsizliğidir. Antikor titrelerinin korumadaki etkinliğini belirleyen nötralizasyon testleri, ELISA testleriyle karşılaştırıldığında, virüs kültürü gerektirmeleri nedeniyle daha fazla emek ve çok daha yüksek biyogüvenlik seviyelerine sahip laboratuvarlar gerektirmektedir. ELISA testlerinin nötralizasyon testleriyle ilişkisinin henüz ortaya konamayışı da çalışmanın kısıtlılığıdır.

Sonuç olarak, KP transfüzyonu sonrası bir hastada olumlu yanıt alınmasına rağmen, KP'nin etkinliği hakkında, hem çok küçük örnek boyutu hem de sonucu karıştırabilecek diğer eşzamanlı tedaviler nedeniyle kesin bir hüküm verilmesi uygun olmamaktadır.

Bu raporda özetle, COVID-19'dan kurtulan altı KP bağışçısından ve KP ile tedavi edilen bir vakadan serolojik bulgular sunulmuştur. SARS-CoV-2 enfeksiyonunun anlaşılmasını kolaylaştırmaya ve COVID-19 salgınında KP tedavisi için bağışçı tarama protokolü oluşturmaya yardımcı olabilir.

**Tablo 1.** Bağışçıların COVID-19 nedeniyle hastaneye yatırıldıklarında başlangıçtaki laboratuvar tetkikleri

Donor No.	Age, y/sex	WBC, $\times 10^9/L$	Lymphocyte counts, $\times 10^9/L$	ALT, IU/L	Creatinine, $\mu mol/L$	CK, U/L	LDH, IU/L	Troponin I, ng/mL	D-dimer, $\mu g/L$	PT, s	Procalcitonin, ng/mL	IL-6	CRP, mg/L
A	30/M	5.52	1.67	22.7	84	140	261	0.05	0.18	12	0.024	0.014	<10.00
B	37/M	4.7	0.63	22.1	47	490	265	0.01	NA	12.4	0.039	0.055	63.77
C	45/F	3.42	1.41	28.1	43	34	141	0.05	0.53	11.9	0.013	0.006	16.09
D	42/M	5.65	0.71	12.5	64.5	39	223	0.009	0.19	13.0	0.076	0.084	21
E	32/M	4.32	1.46	16	57	60	188	0.25	0.26	12	0.410	0.031	<10.00
F	50/F	4.06	0.99	144	38	47	286	0.06	0.19	10.1	0.013	0.031	12.4

WBC, white blood cell counts; ALT, alanine aminotransferase; CK, creatine kinase; LDH, lactate dehydrogenase; PT, prothrombin time; IL-6, interleukin 6; CRP, C-reactive protein; NA, not available.

**Tablo 2.** COVID-19 geçirmiş ve iyileşmiş altı bağışçının antikor seviyeleri

Donor No.	Blood group	Days from symptom onset to plasma collecting	Days from discharge to plasma collecting	Anti-SARS-CoV-2 IgM levels (OD ratio) <sup>a</sup>	Anti-SARS-CoV-2 IgG levels (OD ratio) <sup>a,b</sup>
A	A	29	13	1.47	7.58
B	O	36	17	1.22	6.59
C	B	37	23	1.55	7.84
D	A	46	27	2.01	3.92
E	O	40	22	1.95	7.52
F	A	39	27	5.63	8.36

<sup>a</sup> Negative controls and positive controls were included in every run.

<sup>b</sup> Serial tests were performed (Figure 1)

**Tablo 3.** Kan bağıışı sırasında altı bağıışçının lenfosit alt kümelerinin sayıları

Donor No.	Lymphocyte counts (cells/ul)	CD3+	CD3+	CD3+	CD3+CD4+	CD3+	CD3+CD8+	CD4/CD8	CD16+CD56+	CD16+CD56+N	CD19+	CD19
		(%)	(cells/ul)	CD4+(%)	(cells/ul)	CD8+(%)	(cells/ul)	ratio	NK cells (%)	K cells (cells/ul)	(%)	(cells/ul)
A	2619	63.23	1656	20	512	30	792	0.65	20.43	535	13.21	346
B	1970	67.36	1327	30	585	33	643	0.91	19.39	382	8.07	159
C	1690	67.81	1146	28	465	30	503	0.92	20.41	345	9.7	164
D	1796	70.99	1275	36	653	30	542	1.2	21.55	387	5.57	100
E	1841	57.47	1058	34	625	17	318	1.97	17.82	328	20.64	380
F	1645	80.3	1321	52	850	25	416	2.04	9.3	153	9.18	151

**Şekil 1.** Spesifik IgG, yarı kantitatif ELISA ile titre edilmiştir. Plazma IgG antikor titreleri 1: 40 ile >320 arasında değişmiştir.

