



SARS-COV-2 SEROPREVALENCE TRENDS IN HEALTHY BLOOD DONORS DURING THE COVID-19 MILAN OUTBREAK

MİLANO'DAKİ COVID-19 SALGINI SIRASINDA SAĞLIKLI KAN DONÖRLERİNİN SARS-COV-2 SEROPREVALANS EĞİLİMLERİ

ALINTI: <https://doi.org/10.1101/2020.05.11.20098442>

YAZARLAR: Luca Valenti, Annalisa Bergna, Serena Pelusi, Federica Facciotti, Alessia Lai, Maciej Tarkowski, Alessandra Berzuini, Flavio Caprioli, Luigi Santoro, Guido Baselli, Carla della Ventura, Elisa Erba, Silvano Bosari, Massimo Galli, Gianguglielmo Zehender, Daniele Prati.

ÖZETLEYEN: Dr. Berrin UZUN

GİRİŞ

Milano SARS-CoV-2 salgını sırasında, ağır hastaların %26' sının ölümüyle en ağır darbeyi alan bölgelerdendi. İtalya nüfusunun %9.8' inin SARS-CoV-9 tarafından enfekte olduğu tahmin edilmektedir. SARS-CoV-2 replikasyonunu COVID-19 tanısı ve iyileşenlerde IgM/IgG serokonversiyonu izler. Yılda 40.000 kan bağıışı toplayan Milano'daki ana kan merkezinde gerçekleştirilen bu çalışmada, salgın sırasında sağlıklı ve asemptomatik bireylerdeki SARS-CoV-2 antikör reaktivitesinin durumunu, enfeksiyonla ilişkili risk faktörlerini ve laboratuvar özelliklerini incelemek amaçlanmıştır.

YÖNTEMLER

Çalışma grupları: SARS-CoV-2 seroprevalansını değerlendirmek için, 24 Şubat (İtalyan salgınının ilk haftası) ile 8 Nisan 2020 arasında kan bağıışı yapan 3.586 kişi içerisinde, günde rastgele seçilen 20 kişi olmak üzere toplam 789 kişi çalışmaya dahil edilmiştir. 26 Mart'tan bu yana kan bağıışçısı kriterlerine uyan bağıışçılar için ek olarak, bağııştan önceki 14 gün boyunca COVID-19 semptomları bulunmayan ve doğrulanmış vakalarla yakın teması olmayan kişiler donör kabul edilmiştir. 789 kişinin klinik özellikleri ve anti-SARS-CoV-2 antikörlerinin varlığı Tablo1'de gösterilmiştir.

Salgından önceki dönemde epidemiyolojik eğilimler hakkında bilgi edinmek için, Aralık 2019 ve Mart 2020 arasındaki 184 kan bağıışısının şahit numuneleri çalışmaya dahil edilmiştir.

Anti-SARS-CoV antikorlarının değerlendirilmesi: Plazma örneklerinde SARS-CoV-2'ye karşı IgM/IgG varlığı lateral flow immünoassay (COVID-19 IgG/IgM Hızlı Test, Prima Lab, Balerna, CH) ile belirlenmiştir. Antikor, SARS-CoV-2'nin nükleokapsid antijenine karşı idi. Lateral flow immünoassay'de; IgG için özgüllük %98.0, duyarlılık %100, doğruluk %98.6; IgM için özgüllük %96.0, duyarlılık %85.0; doğruluk %92.9 bildirilmiştir. Test, kolay, hızlı ve predonasyon taraması için uygulanabilir idi. Test, iki bağımsız uzman tarafından okunmuş, çok zayıf veya şüpheli pozitif sonuçlar spesifik olarak kabul edilmemiştir. Serolojik test, pozitif kontrol olarak, Şubat ve Mart 2020 arasında qRT-PCR ile teyit edilmiş 22 COVID-19 hastasının plazmasının test edilmesiyle doğrulanmıştır. Negatif kontrol olarak, 2009 yılındaki 120 kan donörünün serumları kullanılmıştır. Lateral flow immünoassay IgG testi, SARS-CoV-2'nin spike proteinindeki antijenleri değerlendiren inhouse bir ELISA testiyle valide edilmiştir.

SONUÇLAR

Testin Validasyon Sonuçları

Pozitif kontrol grubu 22 hastada (hastaneye yatırıldıktan 10 gün sonra) Lateral flow immünoassayde duyarlılık IgG için %100, IgM için %68 saptanmıştır (Şekil S1). Hafif semptomatik bir kişide IgG belirgin pozitif saptanmıştır (nasal swab ile viral RNA'nın negatif hale gelmesinden iki hafta sonra).

Negatif kontrol grubunda 120 hastada özgüllük %98.3 (IgM pozitif ve IgG pozitif her ikisi için %99.2). Yanlış pozitif iki birey altmışlı yaşlarındaydı. IgG pozitif erkek hasta aktif ürolojik kanser, IgM pozitif kadın hasta ise romatoid artrit tanısı almış idi.

Lateral flow immünoassayin IgG'yi saptamak için ELISA testi ile iyi bir uyumu vardı.

Salgın sırasında seroprevalans eğilimleri

Genel seroprevalans, IgM, IgG ve kombine profildeki eğilim Figure 1'de gösterilmiştir. Salgının başlangıçtaki yaygınlığı %4,6; testin ayarlanmış tahmini yaygınlığı %2.7 (%0,3-6) saptanmıştır. Sosyal izolasyon önlemlerinin kademeli olarak uygulandığı çalışmamız döneminde (Figure 1A), ayarlanmış seroprevalansında IgG pozitifliklerindeki artış sebebiyle sürekli olarak artmış ve %7,1 (%2,4-%9,0 aralığında) olmuştur. IgM pozitifliğindeki değişme ise anlamlı bulunmamıştır.

Çalışma periyodunda kombine IgM/IgG pozitifliğinin değişimi Figure 1B' de sunulmaktadır. Çalışmadan önceki 3 ay boyunca seroprevalans, ek sonuçlar Figure S2' de bildirilmiştir.

Seropozitif bireylerin klinik özellikleri

Çalışmadaki 789 sağlıklı donörün SARS-CoV-2 IgG pozitifliği ve IgM pozitifliği ve bağımsız verilerle durumu Tablo 2' de gösterilmiştir. IgG pozitifliği zamanla giderek artmaktadır ve genç bireylerde daha sık saptanmıştır. IgG pozitifliği laboratuvar parametrelerindeki değişimlerle ilişkili bulunmamıştır.

Table 3' de çalışmadaki 789 sağlıklı donördeki SARS-CoV-2' ye karşı IgM antikollarının (n=24) saptanmasıyla ilişkili biyokimyasal ve hematolojik parametreler gösterilmiştir. IgM pozitifliği ileri yaşla birlikte artmış ancak zamanla değişmemiştir. IgM pozitifliği özellikle 45 yaşından büyük donörlerde daha sık gözlenmiştir. IgG serokonversiyonu yaşlı bireylere göre (IgM pozitifliği) gençlerde daha sık saptanmıştır. IgM pozitifliği bağımsız olarak yüksek trigliseritlerle, eozinofillerle ve lenfositlerle ilişkilendirilmiştir.

TARTIŞMA

Salgın başlangıcında sağlıklı yetişkinlerin yaklaşık %4.6' sı IgM (%3.7) ve/veya IgG (%2.0) için zaten pozitif olduğu, SARS-CoV-2 enfeksiyonu gerçek prevalansının tahmini yaklaşık %2.7 (Bayesian yaklaşımla %1) olduğu bulunmuştur. Bu veriler, şiddetli COVID-19 vakalarında hızlı artış gözlenmeden önce enfeksiyonun popülasyonda yayıldığını göstermektedir. Çalışma süresi boyunca IgG pozitifliklerinde her hafta 2.7 ± 1.3 'lük bir artış oranı gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, IgG serokonversiyonu, büyük sosyal izolasyon önlemleri uygulanmadan önce edinilmiş enfeksiyonları yansıtmaktadır.

Yaşın seroprevalans eğilimleri üzerindeki farklı etkisi (yani, gençlerde IgG ve yaşlılarda IgM), SARS-CoV-2 yayılımının kısıtlamalardan önce genç bireyler arasında daha yaygın olduğunu, okulların ve üniversitelerin kapatılmasından sonra ise yayılımın çalışmaya devam eden daha ileri yaşlı aktif bireyler arasında devam ettiğini desteklemiştir. Bu veriler okulların kapatılmasının ve

karantinanın yararını da göstermektedir. A kan grubunun IgM/G pozitifliğinde anlamlı bir etkisi gözlemlenmemiştir.

İlginç bir şekilde, artmış trigliserit, eozinofil ve lenfosit düzeyleri ile IgM pozitifliği ile arasında tutarlı bir ilişki tespit edilmiştir. Hipertrigliseridemi, COVID-19' lu hastalardaki inflamasyon ile ilişkilendirilmiştir, ancak ciddi enfeksiyon genellikle dolaşımdaki lenfositlerin ve eozinofillerin azalması ile ilişkilidir. Sirkülasyondaki lökosit cevabı ve belirgin bir bağışıklık modelinin SARS-COV-2' ye karşı etkili bir bağışıklık reaksiyonunun işareti olduğu düşünülebilir. Dikkat çekici bir şekilde, eozinofiller yakın zamanda akciğerde viral enfeksiyonlara mukoza cevabı, immün homeostaz ve bağırsakta IgA üretimi ile ilişkilendirilmiştir. Bununla birlikte, testin tanılabilir doğruluğu ve hastalık prevalansı göz önüne alındığında, vakaların üçte birinden fazlasında pozitif testlerin büyük ihtimalle spesifik olmaması nedeniyle, bu bulguların yorumlanması kısıtlıdır.

Bu çalışmanın başka kısıtlamaları da vardır. Epidemiyolojik çalışmalar için yeterli performans göstermesine rağmen, lateral low immünoanalizlerinin doğruluğu sınırlı olabilir. Takip verileri henüz mevcut olmasa da, kullandığımız test vakalarının bir grubu ELISA ile doğrulanmıştır. Ek olarak, testin duyarlılığının fazla tahmin edilmesi, SARS-CoV-2 enfeksiyonunun gerçek prevalansının ılımlı düşük tahminine yol açmış olabilir, ancak çalışma sırasındaki ayarlanan IgG pozitiflik artış oranı daha az etkilenmiştir. Kan donörleri genellikle genel popülasyondan daha sağlıklıdır, bu nedenle diğer gruplardan daha fazla sosyal etkileşime sahip olabilirler. Ayrıca, ciddi COVID-19 riski değişken olan çok genç ve çok yaşlı insanlar bu gruba dahil değildir.

Sonuç olarak, SARS-CoV-2 enfeksiyonu COVID-19 salgınının başlangıcında Milano' da zaten dolaşmaktaydı. Sosyal mesafe genç bireylerde daha etkili olabilir ve 8 Nisan 2020' ye kadar sağlıklı yetişkinlerin %2,4-9,0' ında serokonversiyon kanıtı ortaya çıkmıştır. Asemptomatik enfeksiyonun laboratuvar testleri üzerinde (lipid profili ve kan sayımı gibi) etkisi olabilir.

Figure S1. Frequency of positivity for IgG + alone, IgM + alone, IgG and IgM + in patients tested before and after ten days since the onset of symptoms.

Figure S1

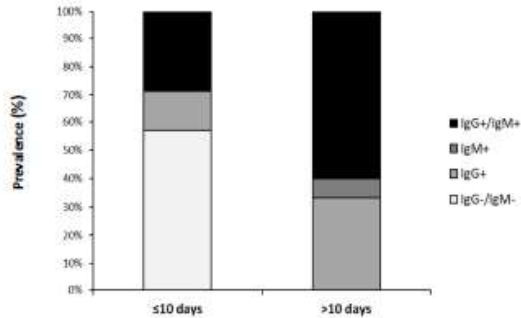


Figure 1. Seroprevalence trends during the COVID-19 Milan outbreak and lock-down. **A)** Overall seropositivity, IgM+ and IgG+ trends in 789 healthy blood donors enrolled in the CoDS study, stratified by the time of evaluation (bi-weekly periods). *P* values were adjusted for age, sex, and BMI. Main political measures to limit the contagion have been highlighted in the timeline. **B)** Frequency and pattern of antibody positivity during the study period (n=789).

Figure 1

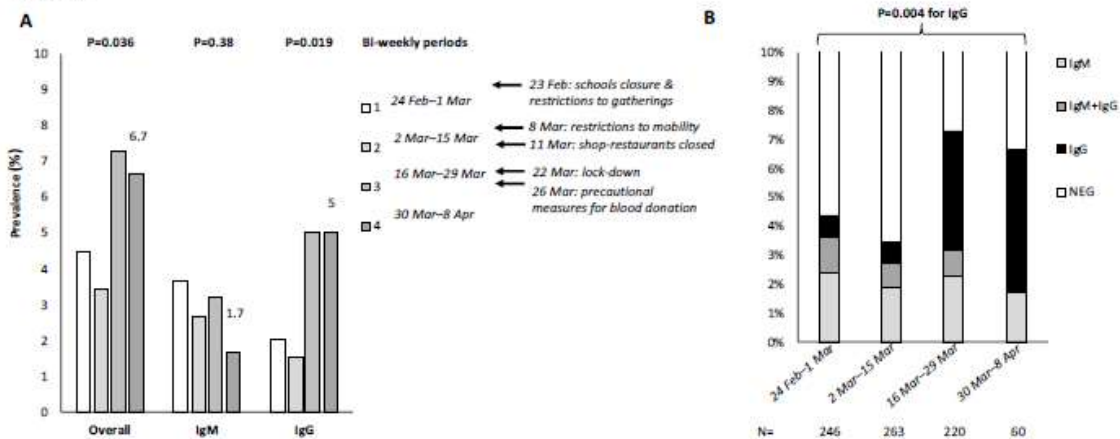


Figure S2. A) Frequency and pattern of antibody positivity during the preceding months in 184 individuals older than 40 years with dysmetabolism, and in a comparable subgroup of blood donors during the study period. Historical controls are shown as reference for the specificity of the test. **B)** Trends in IgM+ and IgG+ in 973 donors stratified by month of evaluation.

Figure S2

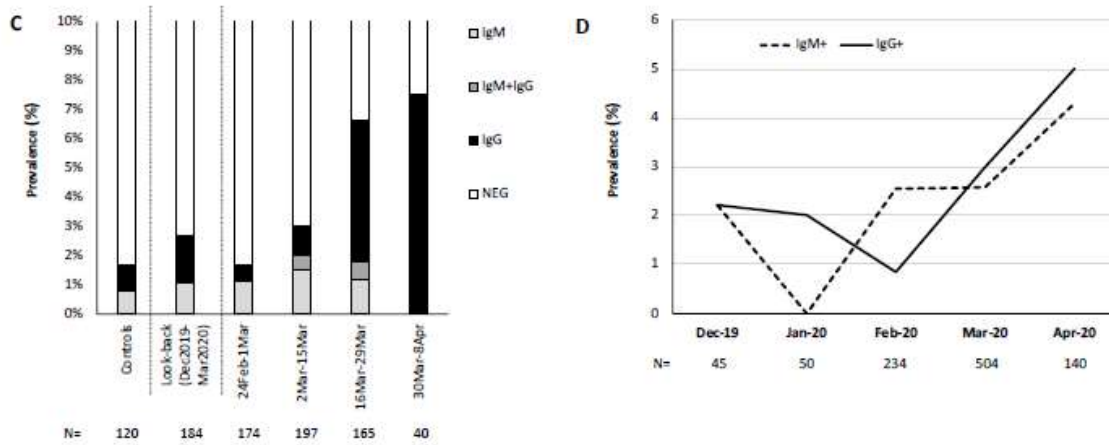


Table 1. Clinical features of 789 individuals, who donated blood between February 24th and April 8th, stratified by the presence of anti-SARS-CoV-2 antibodies.

	SARS-CoV-2 antibodies				P-value*
	Present		Absent		
N=	40	(5.1)	749	(94.9)	
Age, years	42.6±13.4		40.7±13.2		0.37
Sex, F	10	(25.0)	266	(35.6)	0.16
Residency, Milan	24	(60)	497	(66.4)	0.91
Health-care profession, yes	2	(5)	35	(5.1)	0.75
BMI, Kg/m ²	25.5±3.3		24.3±3.7		0.040
Arterial hypertension, yes	2	(3.2)	60	(8.1)	0.76
Smoking, active	7	(17.5)	197	(27.3)	0.27
ABO blood group: o/A/A ₁ /AB/B	16/16/0/2/6	(40/40/0/5/15)	341/287/3/27/90	(45.6/38.4/0.4/3.6/12.0)	0.92
Week of outbreak, n	4-5	[2-6]	4-0	[2-5]	0.10
Lymphocytes, 10 ³ /mm ³	1.94±0.54		1.91±0.52		0.70
ALT, IU/l	25.3±11.9		25.6±16.0		0.81
GGT, IU/l	24.3±20.0		18.2±13.1		0.090

Data are shown as mean±SD, median [IQR], N (%) values. ALT: alanine aminotransferases, GGT: gamma-glutamyl transferases. * At logistic regression analysis.

Table 2. Independent predictors of the presence of anti-SARS-CoV-2 IgG and IgM antibodies in 789 healthy individuals, who donated blood between February 24th and April 8th.

	IgG+			IgM+		
	OR	95% c.i.	P-value*	OR	95% c.i.	P-value ^o
Age, per year	0.96	0.93-1.00	0.043	1.05	1.02-1.09	0.002
Sex, F	0.61	0.24-1.61	0.31	0.78	0.30-2.03	0.60
BMI, Kg/m ²	1.07	0.97-1.17	0.21	1.07	0.96-1.18	0.24
Time, weeks	1.26	1.00-1.57	0.039	0.85	0.24-3.02	0.80

NA: not assessed. * At logistic regression analysis adjusted for the independent predictors shown in the table; ^o Further adjusted for IgG.

Table 3. Biochemical and hematological parameters associated with detection of IgM antibodies (n=24) against SARS-CoV-2 among 789 healthy individuals, who donated blood between February 24th and April 8th.

	N	Estimate±SE	P-value*
Triglycerides, mg/dl	409	+0.017±0.006	0.0078
HDL cholesterol, mg/dl	409	-0.068±0.035	0.058
Eosinophils, 10 ³ /mm ³	789	+2.59±1.24	0.036
Lymphocytes, 10 ³ /mm ³	789	+0.81±0.42	0.048

* At logistic regression analysis adjusted for age, sex, BMI, presence of IgG antibodies. P values <0.1 are shown. No significant association was found between IgM+ and AST, ALT, GGT, glucose, total cholesterol, creatinine, Hb, MCV, circulating neutrophils, basophils, monocytes and presence of arterial hypertension. SE: standard error. Results are shown for P<0.1.