



MASS SCREENING OF ASYMPTOMATIC PERSONS FOR SARS-CoV-2 USING SALIVA

SARS-CoV-2'DE ASEPTOMATİK BİREYLERİN KİTLE TARAMASI İÇİN TÜKÜRÜK KULLANILMASI

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

YAZARLAR: Isao Yokota, Peter Y Shane, Kazufumi Okada, Yoko Unoki, Yichi Yang, Tasukulnao, Kentaro Sakamaki, Sumiolwasaki, Kasumi Hayasaka, Junichi Sugita, Mutsumi Nishida, Shinichi Fujisawa, Takanori Teshima.

ÖZETLEYEN: Dr. Belkis Koçtekin

GİRİŞ:

SARS-CoV-2 pandemisinin hızla yayılmasında asemptomatik bireyler sorumlu tutulduğundan salgının önlenmesi ve kontrol altına alınmasında asemptomatik bireylerde SARS-CoV-2'nin saptanması önceliklidir. Günümüzde Covid-19 tanısı, nazofaringeal sürüntü (NFS) örneklerinde gerçek zamanlı ters transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PCR) ile SARS-CoV-2 nükleik asitlerinin saptanmasıyla konmakta, asemptomatik hastalarda ise qRT-PCR testinin doğruluğuna ilişkin çok az bilgi bulunmaktadır. Tükürük örneklerinin kullanılmasının NFS'e göre, kendi kendine toplanabilmesi, uzman sağlık personeli ve kişisel koruyucu ekipman gerektirmemesi, viral maruziyet riskini azaltması ve ağrısız olması gibi avantajları vardır. Tükürük örneklerinin semptomatik hastalarda virüsü tespit etmede tanısal değeri gösterilmiştir. Ancak tarama testlerinde bir alternatif olup olmayacağı bu çalışmada iki ayrı grupta kitle taraması yürütülerek araştırılmıştır.

METOD:

Çalışmada, yakın temas izleme ve havaalanı karantina grupları olmak üzere iki asemptomatik grupta SARS-CoV-2'nin qRT-PCR ile saptanması, testin duyarlılık ve özgüllüğünün belirlenmesi amaçlanmıştır. Yakın temas izleme grubu; 12 Haziran-7 Temmuz 2020 tarihleri arasında iki halk sağlığı merkezinde NFS örneklerinde yapılan qRT-PCR testi pozitif ve klinik doğrulanmış hastalarla yakın (yaklaşık 2 metrelik mesafede) temaslı asemptomatik kişileri içermiştir. Havaalanı karantina grubu; 12 Haziran-23 Haziran 2020 tarihleri arasında Tokyo ve Kansai Uluslararası Havaalanları'na gelen semptomsuz yolculardan oluşturulmuştur. Tüm

bireylerden NFS örneklerine ek olarak, ayrılmış kabinlerin içinde 15 mililitrelik polistrene steril tüplere (Tokyo Kizai, Warabi, Japonya) kendilerinin tükürük sağlamaları istenmiştir. NFS örnekleri FLOQ Swabs (COPAN, Murrieta, CA, USA) kullanılarak toplanmıştır. Tüm örnekler +4°C de taşınarak 48 saat içinde SRL-Tokyo Merkez Laboratuvarı'nda analiz edilmiştir. RNA, QIASymphony DSP Virus/Pathogen kit ve QIAampViral RNA Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Germany) kullanılarak 200 µL süpernatant veya NFS numunelerinden ekstrakte edilmiştir. SARS-CoV-2' nin nükleik asitleri qRT-PCR veya ters transkripsiyon döngü aracılı izotermal amplifikasyon (RT-LAMP) ile saptanmıştır.

NFS örnekleri, yakın temas izleme grubunda sadece qRT-PCR ile, havaalanı karantina grubunda ise ya qRT-PCR ya da RT-LAMP ile test edilmiştir. Tükürük örnekleri her iki grupta da hem qRT-PCR ile hem de RT-LAMP ile test edilmiştir. RT-LAMP testi NFS örnekleri için sadece Tokyo havaalanı karantina istasyonunda gerçekleştirilirken, tükürük için RT-LAMP testi aynı sistem ve yöntemler kullanılarak SRL Merkez Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Tüm istatistik analizler SAS® Ver 9.4 (Cary, NC) kullanılarak yapılmıştır.

SONUÇ:

Taramaya alınan 2,558 bireyden 1,924 bireyin örnekleri analiz edilmiştir. Yakın temas izleme grubunda (n= 161); 41 NFS ve 44 tükürük örneğinde SARS-CoV-2 pozitif saptanmıştır. Bunlardan 38 örnek ortak pozitiflik göstermiştir. 114 örnek ise her iki testte de negatif saptanmıştır. Sonuçta 161 bireyden 152'sinin eşleştiği görülmüştür. Havaalanı karantina grubunda (n= 1,763); 5 NFS ve 4 tükürük örneğinde viral RNA pozitif saptanmıştır.

NFS ve tükürük örneklerinin duyarlılığı sırasıyla % 86 (% 90 CI: % 77-93) ve % 92 (% 90 CI: % 83-97), özgüllükleri ise % 99.93 (% 90 CI: % 99.77-99.99) ve % 99.96 (% 90 CI: % 99.85-100.00) saptanmıştır. Prevalans, yakın temas izleme grubunda ve havaalanı karantina grubunda sırasıyla % 29.6 (% 90 CI: % 23.8-35.8) ve % 0.3 (% 90 CI: % 0.1-0.6) saptanmıştır. qRT-PCR sonuçları, NFS ve tükürük örneklerinde uyumlu bulunmuştur. NFS ve tükürük örnekleri viral yük bakımından eşik döngü (C_t) değerlerine göre incelendiğinde eşdeğer oldukları görülmüştür (Kendall uyum katsayısı:0.87).

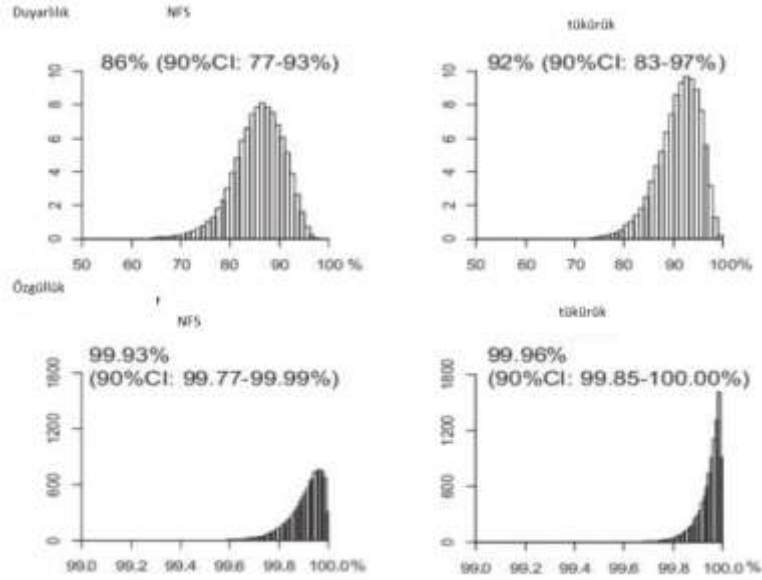
Bazı NFS örnekleri ve tüm tükürük örnekleri qRT-PCR yanında RT-LAMP ile de test edilmiştir. qRT-PCR ve RT-LAMP test sonuçlarının eşdeğerliği de incelenmiştir. Bunun için SARS-

CoV-2 pozitif saptanan 44 tükürük örneğinde RT-LAMP testinin pozitif sonuçları saptama zamanı ile qRT-PCR' in Ct değerleri incelenmiştir. Dört örneğin qRT-PCR testinde pozitif iken RT-LAMP testinde negatif olduğu ve bu örneklerin viral yükün çok az olduğunu gösteren 36.0 ile 37.3 arasında değişen Ct değerlerine sahip olduğu görülmüştür (Kendall uyum katsayısı: 0.98). Bu 4 örnek dışında yakın temas izleme grubunda, 87 örneğin (36 pozitif ve 51 negatif) ve havaalanı karantina grubunda 1.763 örneğin (4 pozitif ve 1.759 negatif) uyumlu olduğu görülmüştür. RT-LAMP testinin yüksek duyarlılık ve qRT-PCR ile karşılaştırıldığında eşdeğer doğrulukta özgüllük gösterdiği asemptomatik büyük bir popülasyonda doğrulanmıştır. Hiçbir birey NFS ile negatif ve tükürük ile pozitif saptanmamıştır. SARS-CoV-2 tanısında RT-LAMP testinin, hızlı sonuç vermesi, uygulama kolaylığı ve basit bir cihaz olması nedeniyle özellikle numune toplama noktalarında teşhisin gerekli olduğu durumlarda, qRT-PCR a faydalı bir alternatif olabileceği düşünülmektedir.

TARTIŞMA:

Bu çalışma, semptom göstermeyen önemli sayıda (n=1,924) bireyde NFS ve tükürük kullanılarak qRT-PCR ile SARS-CoV-2 yi tespit etmenin doğruluğunu incelemiştir. Sonuçlar her iki örnekte de qRT-PCR' in % 99.9' dan yüksek özgüllüğe ve yaklaşık % 90 duyarlılığa sahip olduğunu göstermiştir. Tükürük örneklerinin ağrısız ve kendi kendine toplanabilmesi, uzman sağlık personeli ve kişisel koruyucu ekipman gerektirmemesi, zaman ve maliyet etkin olması SARS-CoV-2'yi saptamada kitle taramaları için uygun olduğunu göstermektedir. Asemptomatik enfekte hastaların hızlı tespiti, topluluklarda ve hastanelerde COVID-19 salgınlarının önlenmesi için kritik önemde olduğundan tükürük örneklerinde virüsün toplu taramasının; kolaylıkla, non-invazif ve sağlık çalışanlarına viral bulaşma riski minimum olacak şekilde yapılabileceği düşünülmektedir.

Şekil 1: NFS ve tükürük örneklerinin duyarlılık ve özgüllükleri



Tablo 1: NFS ve tükürük örneklerinin SARS-CoV-2 için qRT-PCR sonuçları

a. Yakın temas grubu

b. Havaalanı karantina grubu

	Tükürük	
NFS	pozitif	negatif
pozitif	38	3
negatif	6	114

	Tükürük	
NFS	pozitif	negatif
pozitif	4	1
negatif	0	1158