



## SARS CoV 2 Laboratuvar Tanısı

## SARS CoV 2 Laboratory Diagnosis

  Mustafa Altındış<sup>1</sup>,  Hande Toptan<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Sakarya Uni Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD

<sup>2</sup> Sakarya Uni SEAH Mikrobiyoloji Lab

ORCID ID: Mustafa Altındış 0000-0003-0411-9669, Hande Toptan 0000-0001-6893-8490

\*Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Uzm. Dr. Hande Toptan, e-posta / e-mail: hande\_cakar@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 23-04-2020

Kabul Tarihi / Accepted: 28-04-2020

Yayın Tarihi / Online Published: 30-04-2020

Atf Gösterimi/How to Cite: Altındış M., Toptan H. SARS CoV 2 Laboratuvar Tanısı, J Biotechnol and Strategic Health Res. 2020;1(Özel Sayı):76-84

## Öz

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), 11 Şubat 2020'de SARS-CoV-2 koronavirusün neden olduğu hastalığı Coronavirus disease-19 (COVID-19) olarak adlandırmıştır. Ateşi, boğaz ağrısı, öksürüğü ve nefes darlığı olan ve COVID-19 enfeksiyonu doğrulanmış hasta ile temas öyküsü bulunan bir kişi "olası vaka" olarak tanımlanır ve laboratuvar testleri ile doğrulanması beklenir. Doğrulanmış bir vaka, pozitif bir moleküler testle doğrulanmış semptomlu bireydir. Vakalar asemptomatik veya ateşsiz de olabilir.

Spesifik tanı, solunum örnekleri ile spesifik moleküler testlerle yapılır (orafarenks / nazofaringeal swabı / balgam / endotrakeal aspiratlar ve bronkoalveoler lavaj..). Virüs dışkıda ve ciddi vakalarda kanda da kısa süre için saptanabilmektedir. Valide ve sertifikalı testlerde şu anda yaygın değildir. Ancak pandemi durumunda kullanılması gereken moleküler testler hızla artmaktadır. Türkiye'de salgının ilk dönemlerinde şüpheli bir olgu durumunda, ilk önce sadece merkezi birimlerde yapılan testler daha uygun belirlenmiş referans laboratuvarlara yaygınlaştırılmıştır. Hızlı antijen testleri arzu edilen performansı sağlamamış, hızlı antikor testleri ise PCR testlerine destek olmak ve bulaşıklığı belirlemek amacıyla sahaya dağıtılmıştır.

COVID-19 pandemisinin kontrol altına alınmasında laboratuvarlar vazgeçilmezdir. Ülkemizde son dönemde moleküler test yaygınlaşmış, günlük test sayıları artmış, sonuçlar hızlı verilir hale gelmiş, kliniğe ve fiyasyona laboratuvar desteği sağlanabilmiştir.

Anahtar Kelimeler Koronavirus, SARS-CoV-2, COVID-19, laboratuvar tanısı.

## Abstract

World Health Organization (WHO) named the disease caused by SARS-CoV-2 coronavirus on 11 February 2020 as coronavirus disease-2019 (Coronavirus disease-19 - COVID-19). A person with a fever, sore throat, cough and shortness of breath and a history of contact with a patient with confirmed COVID-19 infection is identified as a possible case and is expected to be confirmed by laboratory tests. A confirmed case is a suspected condition with a positive molecular test. The cases can be asymptomatic or fever-free.

Specific diagnosis is made by specific molecular tests with respiratory samples (orafarengal / nasopharyngeal swab / sputum / endotracheal aspirates and bronchoalveolar lavage ..). The virus can also be detected in the stool and in severe cases for a short time in the blood. Currently validated and certified tests not common. However, the molecular tests that should be used in the case of a pandemic are rapidly increasing. Early in the case of a suspected outbreak reported in Turkey, just before the first tests carried out in the central unit has been expanded to more appropriate designated reference laboratory. Rapid antigen tests did not provide the desired performance, while rapid antibody tests were distributed to the field to support PCR tests and determine immunity.

Laboratories are indispensable in controlling the COVID-19 pandemic. Molecular testing has become widespread in our country recently, the number of daily tests has increased, the results have become rapid, and laboratory support has been provided to the clinic and fillation.

Keywords Coronavirus, SARS-CoV-2, COVID-19, laboratory diagnosis

## GİRİŞ

### Coronavirusler ve Sars COV-2 Salgını

Coronavirus ailesi, memelilerde ve kuşlarda hastalıklara neden olan zarflı, helikal simetrik pozitif polariteli bir RNA virüs ailesidir. İnsanlarda hafif soğuk algınlığından pnömoneye kadar değişebilen şiddette solunum yolu enfeksiyonlarına ve nadiren gastrointestinal şikayetlere neden olurlar.<sup>1</sup> Coronavirüslerin tarihi 1940'larda başlamış olmasına rağmen ilk insan coronavirusleri olan HCoV-229E ve HCoV-OC43 1960'larda bildirilmiştir. 2000'lerden sonra ise HKU1, HCoV-NL63, SARS-CoV ve MERS-CoV coronaviruslerin insanları enfekte eden diğer üyeleri olarak gösterilmiştir.<sup>2</sup> Bahsedilen ilk dört CoV evrensel olarak sürekli dolaşımında bulunmaktadır ve insanlarda soğuk algınlığının yaklaşık üçte birinde etkindir.<sup>3</sup> SARS-CoV ve MERS-CoV ise şiddetli akciğer enfeksiyonuna neden olmaları ve fatalite oranlarının sırasıyla %10 ve %34 olmasıyla diğer coronaviruslerden ayrılmaktadır.<sup>4</sup>

Aralık 2019'un sonlarında, Çin sağlık yetkilileri, Çin'in Hubei Eyaleti'ne bağlı Wuhan'da bir deniz ürünleri ve canlı hayvan pazarı ile teması olan kişilerde meydana gelen atipik pnömone vakalarının kümelenmesi üzerine çalışmalarını yoğunlaştırmıştır. Hastalarda en sık ateş ve öksürük bildirilmiş ve en çok göğüs rahatsızlığı ve / veya solunum sıkıntısı geliştiği raporlanmıştır. Akciğer grafileri ve / veya bilgisayarlı tomografi gibi radyolojik tanı testlerinin yardımıyla hastalara pnömone tanısı konmuştur. Hastalardan alınan örnekler bilinen ve testi çalışılabilen tüm solunum yolu enfeksiyonu etkenleri için negatif vermiştir. Bronkoalveoler lavaj örneklerinin sekanslanmasıyla, yaras SARS(Şiddetli Akut Solunum Sendromu) virüs benzeri koronavirüs ile yaklaşık % 85 sekans homolojisi olan bir değişken beta-koronavirüs tanımlanmıştır.<sup>5</sup> Virüs daha sonra hücre kültüründe izole edilmiş ve ayrıntılı genetik analiz sonuçlarına göre SARS-CoV ile yaklaşık % 79 ve Orta Doğu solunum sendromu (MERS)-CoV ile yaklaşık % 50 sekans homolojisi gösterdiği raporlanmıştır.<sup>6</sup> Uluslararası Virüslerin Taksonomisi Komitesi<sup>7</sup> tarafından SARS-CoV-2 olarak adlandırılan varyant CoV, insanlarda has-

talığa neden olan yedinci CoV'yi ve ve 2003'ten bu yana hayvanlardan insanlara geçen ve şiddetli solunum yolu hastalıkları ile ilişkilendirilen üçüncü CoV olarak tanımlanmıştır.<sup>8</sup> Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), 11 Şubat 2020'de SARS-CoV-2 koronavirüsün neden olduğu hastalığı Coronavirus disease-19 (COVID-19) olarak adlandırmıştır.<sup>9</sup> Ülkemizde de ilk olgu 10 Martta gözlenmiş ve bugüne kadar bir milyona yakın test yapılmış, 110 bine yakın pozitif olgu ve üç bine yakın da vefat bildirilmiştir (26 Mart 2020 itibari ile).

### Örnek Alım ve Transport

COVID-19 tanısı için örnek alma işlemi damlacık saçılmasına neden olacağı için örneği alan personelin uygun kişisel koruyucu ekipmana sahip olması (N95 maske, gözlük veya yüz koruyucu) gerekmektedir. Ayrıca örnek alım, saklanma, paketlenme ve transport standardizasyonu açısından da eğitimler verilmiş olmalıdır. COVID-19 tanısı için ayaktan tedavi edilen hastalarda, nazofaringeal ve orofaringeal sürüntü veya yıkama örnekleri alınabilir. İdeal olarak önce orofaringeal sürüntü alındıktan sonra aynı swab kullanılarak burundan da örnek alınmalı ve aynı taşıma besiyerine konulmalıdır. Aynı hastadan alınan orofaringeal ve nazal sürüntü örneği ayrı taşıma solusyonlarında gönderilmemelidir. Nazofaringeal swab ile nazal swab ile örnek alındığında duyarlılıkların benzer olduğuna dair çalışmalar mevcuttur.<sup>10</sup> Daha ağır solunum yolu hastalığı olan olgularda ve hastanın balgam çıkarabilmesi durumunda balgam, endotrakeal aspirat veya bronkoalveolar lavaj örnekleri daha değerli olacaktır. Ancak bu durumda yüksek aerosolüsyon riski her zaman göz önünde bulundurulmalıdır.

### Tanı Testleri

Dünyada COVID-19 pandemisinin ikinci çeyreğine girildiği günümüzde, sınırlı ve / veya yavaş olsa da SARS-CoV-2 testi giderek artmaktadır ancak eski ve yeni soruların da olduğu açıktır. Kimler, ne zaman test edilir? Hangi örnek daha uygundur? Ne sıklıkla test edilir? Ve test sonuçlarıyla ne yapmalı? gibi sorular ilk başlarda ciddi karışıklığa yol

açmış, SARS-CoV-2 yeni bir virüs olduğundan, test kullanımını ve tanı algoritmi içindeki yeri ile de alakalı çok az kanıt olduğu için belirsizlik olmuştur. Global bakılınca birkaç noktanın dikkate alınması gerekir; özellikle, ne tür testler mevcuttur ve hangi koşullar altında yararlıdır? Ayrıca testler bölgesel rehberler ve tedarik zinciri kriterlerine göre kullanım farklılıkları oluşturabilir.<sup>11,12</sup>

Klasik virolojide tanı testleri; hücre kültürü, seroloji ve moleküler testler şeklinde sınıflandırılırken burada SARS-CoV-2 günlük tarama testlerinde iki temel yaklaşım vardır:

1. Virüsün kendisini saptamaya yönelik testler
2. Konağın virüse verdiği yanıtın testleri

Testleri konuşurken bu virüsün yeni bir virüs olduğu ve modern zamanlarda benzeri görülmemiş bir pandemi ile uğraştığımızı bilmeliyiz. Bunu göz önünde bulundurarak, kanıtlanmış etkili tedavi veya bir aşı olmadığında, sahip olduğumuz tanı testleri, hasta yönetimini bilgilendiren ve SARS-CoV-2 yayılımını sınırlandırarak hayat kurtarmaya yardımcı olabilecektir. Bir seferde varsayalım ki % 100 özgüllük ve hassasiyet ile tüm bireyleri test edilebilirsek, tüm enfekte olmuş bireyleri tanımlayabilir ve insanları o anda mevcut klinik durumlarına göre şu şekilde sıralayabiliriz;

1. Semptomatik,
2. Minimal / orta derecede semptomatik
3. Ciddi derecede semptomatik.

Asemptomatik ve minimal / orta derecede semptomatik olan, virüsün yayılmasını önlemek için karantinaya alınmalıdır, çok ciddi semptomlu bireyler ise tedavi, yoğun bakım hizmeti için sağlık teşekküllerine yönlendirilmektedir. Şüpheli temas riski taşıyanlar ise inkübasyon dönemi boyunca izole olur ve izlem yapılabilir. Eğer yine teorik olarak % 100 duyarlı ve spesifik bir antikor testi ile daha önce virüse maruz kalanları belirleyebilirsek -özellikle sağlık çalışanlarında bu yapılabilirse- gerek bulaşın azaltılmasında ve gerekse COVID-19 hastalarının sağlık hizmetlerinde daha pratik çalışma olanakları olacaktır. SARS

CoV-2 aşısının ve COVID-19 özgün tedavisinin olmadığı günümüzde elimizdeki en kıymetli testler moleküler testler ve antikor testi olup akılcı kullanılması oldukça önemlidir. Viral antijenlerin saptanması teorik olarak mümkün olmakla birlikte, bu yaklaşım bugüne kadar birincil bir yaklaşım değil, üzerinde daha fazla deneyimi bekleyen potansiyel bir test olarak saklanmaktadır.<sup>11</sup>

### 1. Antijen Saptayan Hızlı Tanı Testleri

Bir tür hızlı tanı testi olan Antijen testi, bir kişinin solunum yolundan bir örnekte COVID-19 virüsü tarafından eksprese edilen viral proteinlerin (antijenler) varlığını saptar. Hedef antijen numunede yeterli konsantrasyonlarda mevcutsa, plastik bir kutu içine yerleştirilmiş bir kağıt şeride sabitlenmiş spesifik antikorlara bağlanır ve tipik olarak 30 dakika içinde görsel bir sinyal üretir. Tespit edilen antijen (ler) yalnızca virüs aktif olarak replike olduğunda eksprese edilir; bu nedenle, bu tür testler en iyi akut veya erken enfeksiyonu tanımlamak için kullanılır. Testlerin ne kadar iyi çalıştığı; hastalığın başlangıcından itibaren geçen süre, örnekteki virüs konsantrasyonu, bir kişiden toplanan örneğin kalitesi, nasıl işlendiği ve reaktiflerin kalitesi dahil olmak üzere çeşitli faktörlere bağlıdır. Bu testlerin duyarlılığı benzer örnek alımı ve örneklem biçimi benzeri olan influenzada % 34-80,1 arasındadır.<sup>13</sup> Bu bilgiye dayanarak, COVID-19 ile enfekte hastaların yarısı veya daha fazlası, test edilen hasta grubuna bağlı olarak bu tür testlerle gözden kaçabilir. Bu varsayımların, doğru olup olmadıklarını anlamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duymaktadır. Soğuk algınlığı etkeni diğer coronavirusler ile de yanlış pozitiflikler, COVID-19 tanısında bir diğer olumsuzluk olarak ortaya çıkabilir. Geliştirilmiş ticarileştirilmiş antijen saptayan testlerden yeterli performans gösterenler, potansiyel COVID-19'a sahip olma olasılığı yüksek olan hastaları hızlı bir şekilde tanımlamak ve pahalı moleküler doğrulayıcı test ihtiyacını azaltmak için triyaj testleri olarak kullanılabilir. Şu andaki kısıtlı verilerle DSÖ, hasta bakımı için antijen testlerinin kullanılmasını çok önermemektedir.

## 2. Viral RNA Testleri

SARS-CoV-2'nin doğrudan tespiti için hali hazırda kullanılan çoğu test, genellikle PCR kullanılarak nükleik asit amplifikasyonu yoluyla viral RNA'yı saptayan yöntemlerdir. Ancak viral RNA'yı saptayan testlerin başarısı, öncelikle toplanan örnekte viral RNA'nın varlığına bağlıdır. Test edilen en yaygın örnek türleri, nazofarenks ve/veya orofarenksten alınan sürüntülerdir; bunlardan birincisi, ikincisinden biraz daha duyarlı olarak kabul edilir<sup>14</sup>; ancak her ikisi de toplanırsa, iki çubuk, bir araya getirilebilir ve tek bir reaksiyonda aynı anda test edilebilir. Bu örnekler, bugünlerde sağlık çalışanları tarafından toplanabilmektedir ancak zorunluluk olduğunda hastaların veya ebeveynlerin (küçük çocuklardan örnek alınacağı durumlarda) swablar ile kendi örneklerini de alabilmeleri söz konusu olabilir.<sup>15</sup> Örnek alma işleminden sonra, swablar virüs / viral RNA'yı swablardan çözeltiye bırakmak için bir viral transport medyum içine yerleştirilir. Daha sonra viral RNA, bu çözeltiden ekstrakte edilir ve amplifiye edilir (örneğin, ters transkripsiyon-PCR ile).

Pnömoni hastalarında, nazofaringeal ve oral sekresyonlara ek olarak, balgam ve bronkoalveoler lavaj sıvısı gibi alt solunum yolu sekresyonları çok değerlidir. Bunların her birinin (örn., Nazofaringeal sürüntü örneği, balgam, bronkoalveoler lavaj sıvısı) SARS – CoV-2'yi saptama şansını aynı değildir; her bir numune tipindeki saptama oranları hastadan hastaya ve hastaların hastalıkları dönemine göre değişebilir. Virüs kinetiğine ve saçılımına bakıldığında önce orofarenks ve nazofarenks sonra alt solunum yollarında var olması örnek alınırken çok dikkat edilmesi gereken konudur. Bazı pnömoni hastalarında, nazal veya orofaringeal numuneler negatif iken alt solunum yolu örnekleri pozitif bulunabilir.<sup>16</sup> Bu nedenle de, bu testlerin herhangi birinin gerçek klinik duyarlılığı bilinmemektedir; negatif bir test, bir bireyin enfekte olma olasılığını ortadan kaldırmaz. Test pozitif ise, sonuç muhtemelen doğrudur, ancak nadiren de olsa test sürecinde meydana gelecek bir kontaminasyon (numune toplanırken yada PCR çalışması sırasında örneklerin çapraz kontaminasyonu veya SARS-CoV-2 ile enfekte

olan laboratuvar çalışmasının testi çalışması esnasında..) yanlış pozitif sonuçlara neden olabilir. Ayrıca, hiç unutulmaması gereken bir diğer konu; viral RNA'nın canlı virüse eşit olmadığı ve bu nedenle viral RNA'nın saptanmasının, virüsün o hastadan başkasına bulaşabileceği anlamına gelmediğidir. Bununla birlikte, viral RNA bazlı moleküler testler, akut bir hastalık durumunda etkeni gösteren sahip olduğumuz en iyi testlerdendir. Testin doğruluğunun numunenin kalitesinden etkilendiğini bilmek önemlidir ve bu nedenle numunenin uygun (ve güvenli) bir şekilde elde edilmesi önemlidir. Hastaları SARS-CoV-2 için test etmek, enfekte bireylerin belirlenmesini sağlayarak hızla hastanın tedaviye alınması yanı sıra bu kişinin sağlık kuruluşlarında ve toplumda yayılmayı önlemek için filyasyon stratejilerinin uygulanmasına da yardımcı olacaktır (Tablo 1).

Viral RNA testi ile ilgili bazı zorluk ve tartışmalı konularda bulunmaktadır. RNA zamanla bozulabilir, örnek alma ve taşıma hassasiyetlerine çok dikkat edilmelidir. Örnek toplamada evden alma da dahil çocuklar için ebeveynlerinin alması, gerekirse oral sıvı(ağız çalkantı suyu) yada nazal sürüntünün örnek toplamada alternatif yöntemler olarak değerlendirilebilir.

Sağlık Kurumlarında ve huzurevi gibi uzun süreli bakım evlerinde yayılmanın önlenmesi için sağlık çalışanları ve benzeri görevler yapanlar yanı sıra pandemide stratejik öneme sahip bireylerinde testlerin öncellenmesi de önemlidir. Bununla birlikte, COVID-19 ile uyumlu semptomları olan herkesin test edilmesi kaçınılmazdır, çünkü geniş test halkası, bu enfeksiyonun kimlerde olduğunu tanımlamaya yardımcı olacak ve yayılmasının kontrolüne destek olacaktır. SARS-CoV-2'nin herkesi enfekte edebileceği, semptomların henüz başlamadığı veya muhtemelen semptom gelişmeyecek grupların da bulaşa neden olabileceği göz önüne alındığında, asemptomatik hastaların test edilmesi bile düşünülebilir. Ne yazık ki, asemptomatik hastalarda viral RNA tespiti hakkında şu anda çok az şey bilinmektedir.<sup>11</sup>

Her bir hasta için kaç testin gerekli olduğu ve hangi örneklerde ne tür testlerin yapılması gerektiği soruları (ilk testin sonuçları negatifse birincil tanı için ve daha sonra hastaları izolasyondan kurtarmak için virüsün temizlenmesini belgelemek için) hala tam netlik kazanmamıştır (Tablo 1).

Test	Neyi gösterir?	Kullanım yerleri nelerdir?	Kimlere Yararlı olabilir?
<b>viral nükleik asit (RNA) amplifikasyonu</b> (nazofarinks sürütüntüsü, orofarinks sürütüntüsü, balgam, BAL, diğer..)	SARS-CoV-2 enfeksiyonu	1. Bireyin enfeksiyon ve bulaşma durumu.	Bireylerin durumu ve tedavisi
		2. Hasta yönetimi ve bulaşmayı önlemek için kontrol amaçlı taramalar.	Sağlık hizmetleri veya uzun süreli bakım tesislerinde kalan yada çalışanlar
		3. Bulaşı önlemek için gerekli işlemlerde	Filyasyon ile Toplum sağlığına katkı
<b>Antikor tespiti</b> (kan, plazma, serum, parmak ucu kanı)	geçirilmiş SARS-CoV-2 maruziyeti	1. Şüpheli hastaların belirlenmesi (antijen, PCR negatif ve önceden enfekte olmuş)	Potansiyel immun bireylerin tanımlanması
		2. Nötralizan antikorlara sahip bireyleri tanımlamak	Plazma tedavisi
		3. Temas izlemi ve surveyansı kolaylaştırmak	Filyasyon ile toplum sağlığına katkı

Viral yük ölçümü, iyileşmeyi, tedaviye yanıtı ve / veya enfektivite seviyesini izlemek için de yararlı olabilir. Mevcut RNA tabanlı tanı testleri esasen kalitatiftir ve viral yük ölçme kalibrasyonu için şu anda standart bir süreç mevcut değildir. Ayrıca, farklı bireylerde ve bölgelerde değişebilen viral yüklerin yorumlanması için belirlenmiş bir eşik yoktur. Her ne kadar testler mevcut olsa da, onlar için büyük talep tedarik zincirinde zorluklar oluşturmakta ve kullanılamamaktadır; bu sorun nazofaringeal swablar,

RNA ekstraksiyon reaktifleri ve PCR reaktifleri ile PCR cihazlarında da olabilir.

### 3. Seroloji

Diğer geniş test kategorisi, IgM, IgA, IgG ve total antikorları (kanda) tespit eden serolojik testlerdir. Enfeksiyona karşı bir antikor tepkisinin geliştirilmesi konakçı immünitesine bağlıdır ve zaman alabilir; SARS-CoV-2 enfeksiyonunda, erken çalışmalar, hastaların çoğunun virüse maruz kaldıktan sonraki 7 ila 11 gün arasında serokonversiyon olduğunu göstermektedir, ancak bazı hastalar daha erken antikor geliştirebilir. Bu doğal gecikmenin bir sonucu olarak, antikor testi akut bir hastalığın ortaya çıkmasında yararlı değildir. Günümüz bilgileri ile, SARS-CoV-2 ile enfekte olmuş ve daha sonra iyileşen bireylerin, gelecekte veya kısmen SARS CoV-2 ile enfeksiyondan korunup korunmayacağından veya koruyucu bağışıklığın ne kadar sürebileceğinden emin olunamaz; bir rhesus (macaque) makak çalışmasından elde edilen son veriler, birincil enfeksiyonun bitmesinden sonra koruyucu bağışıklığı olacağını düşündürmektedir (<https://doi.org/10.1101/2020.03.13.990226>); ancak bunu doğrulamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.<sup>17</sup>

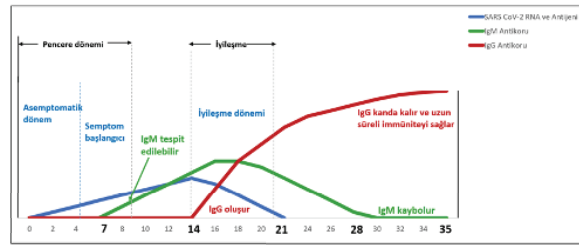
SARS-CoV-2 için antikor testleri;

- a. Temaslı birey izlemeyi kolaylaştırabilir-RNA tabanlı testler de bu konuda yardımcı olabilir.
- b. Yerel, bölgesel ve ulusal düzeylerde serolojik izlem için kullanılabilir.
- c. Virüse karşılaşmış olan ve bu nedenle bağışıklık sahibi olabilecek kişilerin tanımlanmasında değerlidir.

Koruyucu bağışıklık olduğu varsayılarak, potansiyel olarak SARS-CoV-2'ye maruz kalabilecekleri ortamlarda çalışan (örneğin sağlık çalışanları) bireyler de dahil olmak üzere işe dönüş kararlarını yönlendirmek için serolojik testlerin bilgileri kullanılabilir. Serolojik testler aynı zamanda plazma tedavisinde terapötik veya profilaktik nötralize edici antikorlar için kaynak olabilecek bireyleri tanımlamada yararlı olabilir. Pandeminin gerçek kapsamını belirlemek ve vaka ölüm oranı da dahil olmak üzere istatistiklerin

hesaplanmasına yardımcı olmak için retrospektif olarak kullanılabilir. Son olarak, serolojik test klinik / radyolojik bulgulara sahip olup viral RNA-negatif olan bireyleri test etmek için teşhis amaçlı kullanılabilir (Tablo 2). Günümüz bilgileri ile viral RNA testleri ile Antikor testlerinin zaman içinde değişimini de gözlemek tanı ve klinik dönem değerlendirmede önemli olacaktır (Grafik 1).

Test sonucu			Klinik Önemi
PCR	IgM	IgG	
+	-	-	Hasta enfeksiyonun pencere döneminde olabilir.
+	+	-	Hasta enfeksiyonun erken döneminde olabilir.
+	+	-/+	Hasta enfeksiyonun aktif fazındadır.
+	-	+	Hasta enfeksiyonun geç evresinde ya da rekürrens döneminde olabilir.
-	+	-	Hasta enfeksiyonun erken döneminde olabilir(PCR sonucu yanlış negatif olabilir)
-	-	+	Hasta enfeksiyonu geçirmiş ve iyileşmiştir.
-	+	+	Hasta iyileşme sürecinde olabilir ya da PCR sonucu yanlış negatif olabilir.



### Covid-19 Tanı Testlerinin Birlikte Değerlendirilmesi

Zhao ve Ark.ları Çin'de PCR onaylı COVID-19 olan 173 hastadan toplanan seri kan numunelerinden elde edilen plazmada SARS CoV 2'ye karşı oluşan total antikor ile özgül IgM - IgG antikorları(Beijing Wantai Biological) değerlendirilmiş, hastalığın başlamasından sonraki ilk 7 gün boyunca, pozitif oranları PCR için% 66,7 ve antikor test-

leri için ise % 38,3 bildirilmiştir. Hastalığın başlamasından sonraki ikinci hafta boyunca, pozitiflik oranları PCR için% 54.0 ve antikor testleri içinde % 89.6 bulunmuştur. PCR ve antikor testinin beraber kullanımı, çeşitli hastalık aşamaları boyunca pozitifliğin teyit edilmesini sağlamıştır. İlginç olan ise, antikor düzeylerindeki artışlar, kritik hastalığı olan üç hasta da dahil olmak üzere RNA temizlenmesi ile ilişkili bulunmamıştır. Hastalığın başlangıcından 2 hafta sonra, klinik şiddet ile antikor titresi arasında güçlü bir korelasyon bildirilmiş, total antikor ise, IgM veya IgG antikorundan daha duyarlı saptanmıştır.<sup>18</sup> Benzeri sonuçlar başka çalışmalarda da gözlenmiştir (Tablo 3).

	Semptomlar Başladıktan Sonra Geçen Gün Sayısı		
	1-7. gün	8-14. gün	15-39. gün
SARS-CoV-2 Test			
RT-PCR	%67	%54	%45
Toplam Antikor	%38	%90	%100
IgM	%29	%73	%94
IgG	%19	%54	%80

Bir başka çalışmada, SARS-CoV-2 viral nükleokapsid proteini ilişkili bir ELISA testi ile 82'si doğrulanmış, 58 olası COVID-19 vakasından toplam 208 plazma örneğinde IgM, IgA ve IgG antikor yanıt değişimine bakılmıştır. Ortalama IgM ve IgA antikor saptama süresi 5 gün (3-6 gün), IgG semptom başladıktan sonra 14 günde (ortalama 10-18.gün) saptanmıştır. Pozitif oranları IgM, IgG ve IgA için sırasıyla % 85.4,% 92.7 ve % 77.9; doğrulanmış ve olası vakalarda ise IgM antikorlarının pozitiflik oranı sırasıyla % 75.6 ve % 93.1 olarak bildirilmiştir. IgM ELISA ile pozitiflik oranı, hastalık semptomlarının başlangıcının 5.5. gününde qPCR'dan daha yüksek bulunmuştur. Her hasta için PCR +IgM ELISA birlikte pozitifliği tek bir qPCR testi (% 51.9) ile karşılaştırıldığında COVID-19 saptanma oranı önemli ölçüde artmıştır (% 98.6). Üst solunum yolu enfeksiyonlarına neden olan yaygın koronavirüslerle çapraz reaktivite de bildirilmemiştir. Bir aile içi enfeksiyon grubun-



da, COVID-19 vakalarının PCR-negatif aile temasları, asemptomatik enfeksiyonda antikorların pozitif serolojiiye sahip oldukları gösterilmiştir.<sup>20</sup>

Li ve ark.larının çalışmasında ise, parmak ucu kanı, serum ve plazmadan 15 dakikada IgM ve IgG saptayan lateral flow kiti ile Çin'de 397 PCR onaylı COVID-19 hastası ve 128 negatif birey kan örnekleri test edilmiş, duyarlılık% 88.7 ve özgüllük% 90.6 bulunmuştur. PCR ile değişik preanalitik gerekçelerle yüksek yanlış negatiflik olabileceği için, serolojik testler etkenin saptanması/doğrulanmasında yararlı bir testtir kanısı bildirilmiştir. Aşı adaylarına verilen yanıtı değerlendirmek ve toplumdaki bağışıklık düzeylerini belirlemek için de kantitatif serolojik testlere ihtiyaç duyulacağı açıktır. Asemptomatik enfeksiyonun koruyucu bir bağışık yanıt üretip üretmediği ve enfekte olmuş kişilerin herhangi bir enfeksiyona veya ciddi hastalığa karşı ne kadar süre ile korunacağı da hala belirsiz gibidir. Hızlı tanı testlerinde erken sonuçlar umut vericidir, ancak veriler daha çok çalışmalarla teyit edilmelidir.<sup>21</sup>

Diğer laboratuvar testleri genellikle spesifik değildir. Beyaz küre sayısı genellikle normal veya düşüktür. Lenfopeni olabilir; 1000'den az olan bir lenfosit sayısı ciddi hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. Trombosit sayısı genellikle normal veya hafif derecede düşüktür. CRP ve ESR genellikle yükselir, prokalsitonin seviyeleri genellikle normal nadiren yüksektir. Yüksek bir prokalsitonin seviyesi, bakteriyel koenfeksiyonu gösterebilir.<sup>22</sup> ALT / AST, protrombin zamanı, kreatinin, D-dimer, CPK ve LDH yüksek ve şiddetli hastalıklarla ilişkilidir.

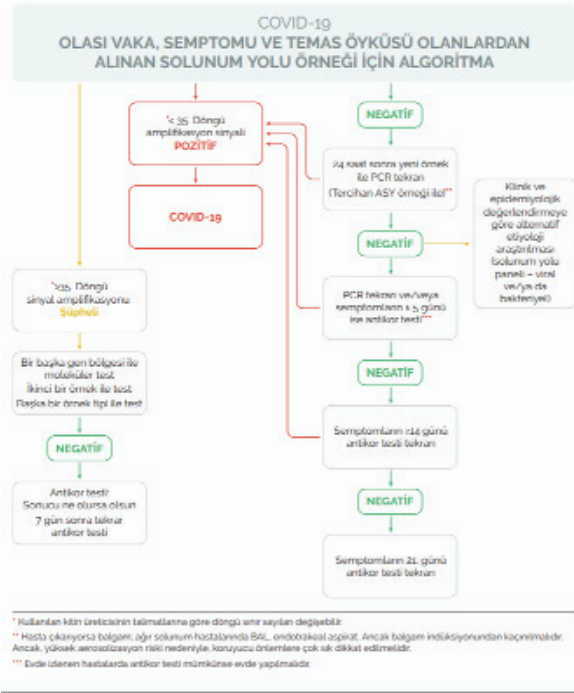
### Ülkemizde Covid-19 Tanı Laboratuvar Çalışmaları Ve Test Algoritması

Ülkemizde COVID-19 için PCR testi ilk olarak tek merkezde (Türkiye Halk Sağlığı kurumu) yapılmaya başlanmıştır. Test sayılarının artması ile test merkezi sayısı da arttırılmış ve 26 Nisan 2020 itibariyle Sağlık bakanlığı tarafından yetkilendirilen 114 tanı laboratuvarı bulunmaktadır.<sup>23</sup> Bakanlık tarafından bu laboratuvarlara temin edilen 2 çeşit

PCR kiti mevcuttur. Bunlardan ilki Biospeedy (Bioeksen, Türkiye) kiti olup virusun RdRp bölgesini hedeflemektedir. Virüs RNA'sı yine aynı markanın sağladığı VNAT solüsyonlarıyla izole edilmektedir. Reverse transkripsiyon PCR (RT-PCR) tek basamakta sağlanmakta ve internal kontrol ile SARS-CoV-2 RNA'sının amplifikasyonu tek tüpte gerçekleştirilip iki farklı kanalda okunmaktadır.<sup>24</sup>

İkinci PCR kiti ise DirectDetect (Coyote Bioscience, Çin) isminde ithal bir kittir. İzolasyon yine kitin sağladığı reaktiflerle hızlı bir şekilde sağlanmakta ve reverse transcription ile amplifikasyon tek basamakta gerçekleştirilmektedir. Farklı olarak amplifikasyonun için iki farklı bölge hedeflenmektedir (N ve ORF1ab) ve internal kontrol de düşünüldüğünde üç farklı kanalda okuma yapılmakta, hedeflenen her iki bölgede amplifikasyonun gözlenmesi ile pozitiflik tanısı konulmaktadır. Sadece bir bölgede amplifikasyonun gözlenmesi yeterli değildir ve testin aynı ya da farklı bir yöntemle tekrarını gerektirmektedir.

Ülkemizde sağlık bakanlığı tarafından yetkilendirilmiş laboratuvarlara çeşitli antikor testleri de dağıtılmıştır. Kitlerin bazıları IgM ve IgG tipi antikorları ayrı ayrı saptayabilirken bazıları da total antikor saptamaktadır. Antikor testlerinin klinik ve BT ile kuvvetli COVID-19 şüphesi olmasına rağmen PCR testi negatif olan hastalarda; plazmaferez planlanan iyileşmiş COVID-19 hastalarında ya da sağlık personelinin taranmasında kullanılabileceği ileri sürülmüşse de 26 Nisan tarihi itibariyle henüz algotirmada yerini almamıştır.<sup>25</sup>



Sonuçta, SARS – CoV-2 için iki test kategorisinin her ikisi de bu salgında faydalı olmalıdır. Hızlı antijen testi duyarlılığı artırılmış bir ürünle temsil edilirse saha ön taramalarında, PCR yapmanın imkansız yada yetersiz olduğu alanlarda kesinlikle kullanılabilir. Pandeminin kırılmasında testin gücü kaçınılmaz olup tanı testlerinin duyarlılığının bilinmesi ve gerekiyorsa artırılması halk sağlığı açısından tarama ve filyasyona; tedavi başlama, takip ve sonlandırma açısından da kliniğe değerli katkılar sunacaktır.



#### Kaynaklar

1. de Groot RJ, Baker S, Baric R, et al. Family coronaviridae. In: King AMQ, Adams MJ, Carstens EB, Lefkowitz EJ (eds.), *Virus Taxonomy, the 9th report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Academic Press, San Diego, CA. doi:10.1016/B978-0-12-384684-6.00068-9; 2012, p. 806–828.
2. Pillaiyar T, Meenakshisundaram S, Manickam M. Recent discovery and development of inhibitors targeting coronaviruses. *Drug Discov Today*. 2020 doi:10.1016/j.drudis.2020.01.015
3. Kanwar A, Selvaraju S and Esper F. Human Coronavirus-HKU1 Infection Among Adults in Cleveland, Ohio. *Open Forum Infect Dis*. 2017; 4(2):ofx052. doi: 10.1093/ofid/ofx052
4. Mahase E. Coronavirus: covid-19 has killed more people than SARS and MERS combined, despite lower case fatality rate. *BMJ*. 2020; 368:m641. <https://doi.org/10.1136/bmj.m641>.
5. Zhu N, Zheng D, Wang W, Xingwang L, Yang B, Song J, et al. . A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *New Engl J Med* 2020;382(8):727–733.
6. Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet* 2020; 395(10224): 565–574.
7. Gorbalenya AE, Baker SC, Babic RS, de Groot RJ, Drosten C, Gulyaeva AA, et al. Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: the species and its viruses—a statement of the Coronavirus Study Group. *bioRxiv* 2020. doi:10.1101/2020.02.07.937862.
8. Peeri NC, Shrestha N, Rahman MS, Zaki R, Tan Z, Bibi S et al. The SARS, MERS and novel coronavirus (COVID-19) epidemics, the newest and biggest global health threats: what lessons have we learned? *Int J Epidemiol*, 2020.
9. [https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-\(covid-2019\)-and-the-virus-that-causes-it](https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-(covid-2019)-and-the-virus-that-causes-it) Erişim tarihi: 28 Mart 2020
10. Pere H, Podglajen I, Wack M. et al. Nasal swab sampling for SARS-CoV-2: A convenient alternative in time of nasopharyngeal swab shortage. *J Clin Microbiol*. 2020; 15. pii: JCM.00721-20. doi: 10.1128/JCM.00721-20
11. Patel R, Babady E, Theel ES, Storch GA, Pinsky BA, St George K, Smith TC, Bertuzzi S. Report from the American Society for Microbiology COVID-19 International Summit, 23 March 2020: Value of Diagnostic Testing for SARS-CoV-2/COVID-19. *mBio*. 2020; 26;11(2). pii: e00722-20.
12. Bruning AHL, Leeftang MMG, Vos JMBW, Spijker R, de Jong MD, Wolthers KC, et al. Rapid Tests for Influenza, Respiratory Syncytial Virus, and Other Respiratory Viruses: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Infect Dis*. 2017; 65(6): 1026–32.
13. Patel R, Fang FC. 2018. Diagnostic stewardship: opportunity for a laboratory-infectious diseases partnership. *Clin Infect Dis* 67:799–801.
14. Zou L, Ruan F, Huang M, Liang L, Huang H, Hong Z, Yu J, Kang M, Song Y, Xia J, Guo Q, Song T, He J, Yen H-L, Peiris M, Wu J. SARS-CoV-2 viral load in upper respiratory specimens of infected patients. *N Engl J Med* 2020; 382:1177–1179
15. Dhiman N, Miller RM, Finley JL, Sztajnkrzyer MD, Nestler DM, Boggust AJ, Jenkins SM, Smith TF, Wilson JW, Cockerill FR, Pritt BS. Effectiveness of patient-collected swabs for influenza testing. *Mayo Clin Proc* 2012; 87: 548 –554.
16. Winichakoon P, Chaiwarith R, Liwsrisakun C, Salee P, Goonaa A, Limsukon A, Kaewpowat Q. 26 February 2020. Negative nasopharyngeal and oropharyngeal swab does not rule out COVID-19. *J Clin Microbiol*. <https://doi.org/10.1128/JCM.00297-20>.
17. Linlin Bao, Wei Deng, Hong Gao, et al. Reinfection could not occur in SARS-CoV-2 infected rhesus macaques.2020 bioRxiv preprint doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.13.990226>
18. Zhao J, Yuan Q, Wang H, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. *Clin Infect Dis*. 2020 Mar 28. DOI 10.1093/cid/ciaa344. [Epub ahead of print]
19. Wang W, Xu Y, Gao R, et al. Detection of SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens. *JAMA*. 2020; 11. doi:10.1001/jama.2020.3786
20. Guo LI, Ren LI, Yang S2, et al. Profiling Early Humoral Response to Diagnose Novel Coronavirus Disease (COVID-19). *Clin Infect Dis*. 2020 Mar 21. pii: ciaa310. doi: 10.1093/cid/ciaa310. [Epub ahead of print]
21. Li Z, Yi Y, Luo X, et al. Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis. *J Med Virol*. 2020. doi: 10.1002/jmv.25727. [Epub ahead of print].
22. Lippi G, Plebani M. Procalcitonin in patients with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): A meta-analysis. *Clin Chim Acta*. 2020;505:190-191.
23. [https://covid19bilgi.saglik.gov.tr/covid-19-yetkilendiril-mis-tani-laboratuvarlari-listesi\(26.04.20\)](https://covid19bilgi.saglik.gov.tr/covid-19-yetkilendiril-mis-tani-laboratuvarlari-listesi(26.04.20))
24. <https://bioeksen.com.tr/tr/covid-19-rt-qpcr-tespit-kiti/>. (26.04.20)
25. [https://covid19bilgi.saglik.gov.tr/depo/rehberler/COVID-19\\_Rehberi.pdf](https://covid19bilgi.saglik.gov.tr/depo/rehberler/COVID-19_Rehberi.pdf) (26.04.20)