

SARS-CoV-2 Virüs Tespitinde Görsel Okunan Hızlı Antijen Test Kitinin (SGA V-Chek) Değerlendirilmesi

Evaluation of a Visually-Read Rapid Antigen Test Kit (SGA V-Chek) for Detection of SARS-CoV-2 Virus

Zehra KİPRİTCİ¹(ID), Ali Ümit KESKİN²(ID), Pınar ÇIRAGİL³(ID), Aynur Eren TOPKAYA¹(ID)

¹ Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, Koşuyolu Hastanesi, İstanbul.

¹ Yeditepe University Faculty of Medicine, Kosuyolu Hospital, Kadıkoy, Istanbul, Turkey.

² Yeditepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Biyomedikal Mühendisliği, İstanbul.

² Yeditepe University Faculty of Engineering, Department of Biomedical Engineering, Istanbul, Turkey.

³ Yeditepe Üniversitesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, Kozyatağı Hastanesi, İstanbul.

³ Yeditepe University Faculty of Medicine, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Kozyatagi Hospital, Istanbul, Turkey.

Makale Atfı: Kipritci Z, Keskin AÜ, Ciraçil P, Topkaya AE. SARS-CoV-2 virüs tespitinde görsel okunan hızlı antijen test kitinin (SGA V-Chek) değerlendirilmesi. Mikrobiyol Bul 2021;53(2):461-464.

ABSTRACT

Although the reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) method has been accepted as the reference method in the detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2) RNA, it requires special laboratory conditions, complicated and expensive laboratory instruments, competent laboratory staff and long testing duration. Antigen testing methods such as enzyme immunoassay, fluorescent antibody and visually-read immunochromatographic rapid antigen detection (RAD) tests eliminated the above mentioned disadvantages of the RT-PCR. The aim of this study was to determine the performance of a RAD test kit (V-Chek, SGA Ltd, Ankara, Turkey). Two paired nasopharyngeal swabs were collected from each patient, and one of them was used for the RAD test, while the other one (different swab) was used to perform the RT-PCR test. SARS CoV-2 Double Gene RT-PCR kit (Bioexen, Turkey) was used for RNA amplification on the Light Cycler 480 plate-based RT-PCR instrument (Roche, Switzerland). The SARS-CoV-2 double gene RT-PCR kit targeting the SARS-CoV-2 specific N (nucleocapsid) and Orf1ab gene regions was used for RNA amplification. The human RNaseP gene was used for nucleic acid extraction and inhibition control. The shape of the growth curves was examined and the non-sigmoidal curves were recorded as "negative". Sigmoidal curves with cycle threshold (Ct) <38 were evaluated as "positive". The Ct values of all positive results were recorded. V-Chek RAD test kit uses a colloidal gold enhanced double antibody sandwich type antigen test kit. A SARS-CoV-2 positive specimen produces a distinct color band in the test region, formed by the specific antibody-antigen colored conjugate complex. A positive or negative result is indicated by a colored line appearance on the test region. A colored line appears in the control region, independent of the SARS-CoV-2 presence. The result is visually read 10 minutes after the last drop of the sample liquid is dispensed into the sample well. Specificity and sensitivity values were calculated accepting the RT-PCR results as a standard. Agreement between two different techniques was assessed using Cohen's kappa score.

İletişim (Correspondence): Prof. Dr. Pınar Çiragil, Yeditepe Üniversitesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, Kozyatağı Hastanesi, 34752 Ataşehir/İstanbul. **Tel (Phone):** 0 (216) 578 00 00, **E-posta (E-mail):** pinar.ciragil@yeditepe.edu.tr

110 patients were enrolled in this study; 34 (30.9 %) of these patients had positive RT-PCR samples, with the mean of Ct values of 25.8 (95% CI= 24.1-27.5), median of Ct values of 26. In our study population, the overall sensitivity was 61.8% (95% CI= 45.4-78.1), and specificity was 100%. Taking RT-PCR as reference, Cohen's kappa score for the antigen test was 0.691. Fisher's exact test was $p < 0.001$. In conclusion, the RAD kit used in the study determined to be useful for the rapid identification of COVID-19 patients. However, a negative result does not eliminate the possibility of COVID-19 infection and should be confirmed by RT-PCR and clinical findings.

Keywords: *SarsCoV-2; antigen test; reverse transcriptase polymerase chain reactio.*

Sayın Editör,

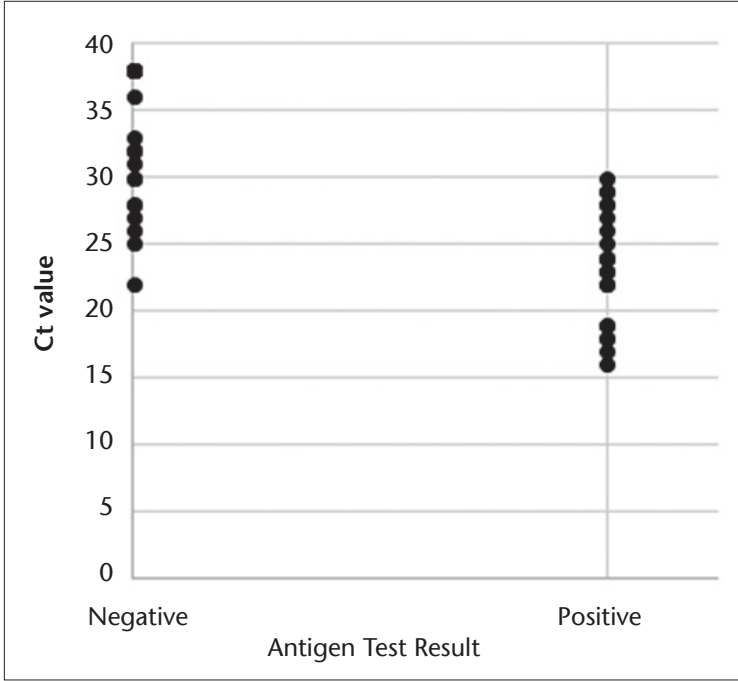
Revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) yöntemi şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs 2 (SARS-CoV-2) saptanmasında referans yöntem olarak kabul edilmiş olsa da özel laboratuvar koşulları, karmaşık ve pahalı laboratuvar ekipmanları ve yetkin laboratuvar personeli gerektirmekte ve test uzun sürede sonuçlanmaktadır. Enzim immünoassay, floresan antikor testleri ve görsel okunan immünokromatografik hızlı antijen testleri (HAT) gibi yöntemler RT-PCR test yöntemindeki bu zorlukları içermemektedir. Kaset veya şerit şeklinde olan ve görsel okunan "lateral-flow" HAT'leri basit kullanım işlemleri ile herhangi bir cihaz kullanımı gerektirmemekte, test sonuçlanma süresi kısa ve maliyet etkin olmaktadır.

Bir HAT kitinin (V-Chek, SGA Ltd, Ankara, Türkiye) performansının araştırıldığı bu çalışmada her hastadan iki nazofarengal sürüntü örneği alınarak HAT ve RT-PCR testleri çalışılmıştır. Örneklerin transferinde viral transfer tüpleri (vNAT, Bioeksen, Türkiye) kullanılmıştır.

Light Cycler 480 cihazında (Roche, İsviçre) RNA amplifikasyonu için SARS-CoV-2'ye özgü N (nükleokapsit) ve ORF1ab gen bölgelerini hedef alan Çift Gen RT-PCR kiti (Bioeksen, Türkiye) kullanılmıştır. Nükleik asit ekstraksiyonu ve inhibisyon kontrolünde insan RNaseP geni kullanılmıştır. Sigmoidal olmayan eğriler "negatif"; döngü eşiği (Ct) < 38 olan sigmoidal eğriler "pozitif" olarak değerlendirilmiştir. Tüm pozitif sonuçların Ct değerleri kaydedilmiştir.

V-Chek HAT kitinde kolloidal altınla zenginleştirilmiş çift antikorlu sandviç yöntemi kullanılmaktadır. Test sırasında floresan etiketli anti-SARS-CoV-2 monoklonal antikor, bir kompleks oluşturmak üzere örnekteki SARS-CoV-2 antijenine bağlanmakta ve oluşan antijen-antikor kompleksi, kromatografi nitroselüloz membran üzerindeki tespit bölgesi (T) ile önceden kaplanmış anti-SARS-CoV-2 monoklonal antikor tarafından yakalanarak bir floresan renk reaksiyonu oluşturmaktadır. Örnek, SARS-CoV-2 antijeni içermiyorsa T bölgesinde floresan renkli reaksiyon çizgisi oluşmamaktadır. Kontrol bölgesinde SARS-CoV-2 varlığından bağımsız olarak renkli bir çizgi gözlenmektedir. Örnek, test kuyucuğuna damlatıldıktan 10 dakika sonra sonuçlar gözle okunmaktadır.

Çalışmada FDA'in "Tanı Testlerini Değerlendiren Çalışmalardan Elde Edilen Sonuçların Raporlanmasına İlişkin İstatistiksel Kılavuzu"¹ dikkate alınarak ve RT-PCR sonuçları stan-



Şekil 1. Ct değerlerinin fonksiyonları olarak genel antijen test sonuçları.

dart kabul edilerek özgüllük ve duyarlılık değerleri hesaplanmıştır. İki farklı teknik arasındaki uyum Cohen'in kappa skoru kullanılarak değerlendirilmiştir².

Yaş ortalaması 43.0 ± 3.3 (dağılım 4-96 yıl) olan, 62 (%56) kadın ve 48 (%44) erkek olmak üzere toplam 110 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Bu hastaların 34 (%30.9)'ünün RT-PCR örnekleri pozitif saptanmıştır. Pozitif saptanan hastaların Ct değerleri 25.8 [%95 güven aralığı (GA)= 24.1-27.5], medyan Ct değerleri 26 olarak belirlenmiştir. Çalışmaya alınan 110 hastanın 21 (%19.1)'inin örnekleri HAT ile pozitif olarak gözlenmiştir. Çalışmaya alınan örneklerde duyarlılık %61.8 (%95 GA= 45.4-78.1) ve özgüllük %100 olarak saptanmıştır. COVID-19 HAT sonuçları Şekil 1'de gösterilmektedir.

RT-PCR testi referans alındığında Cohen'in antijen testi için kappa skoru 0.691 ve Fisher exact olasılık testi $p < 0.001$ olarak bulunmuştur. Bu sonuçların Dinnes ve arkadaşlarının yakın zamanda yaptıkları Cochrane çalışması sonuçları ile uyumlu olduğu gözlenmiştir³.

Öte yandan üretici firmadan sağlanan karakteristik performans verilerinden oluşturulan ihtimal tablosu incelendiğinde (kullanım talimatları V-Check katalog no SCVCO2) 44 gerçek pozitif sonuca karşı yalnız bir yanlış pozitif ve 87 gerçek negatif sonuca karşı sadece iki yanlış negatif HAT sonucu olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlara göre üretici firma; testin duyarlılığını %95.65, özgüllüğünü ise %98.86 (Cohen kappa skoru 0.950) olarak bildirmektedir.

Sonuç olarak, V-Chek HAT kitinin COVID-19 hastalarının hızlı tanımlanmasında faydalı olabileceği gözlenmiştir. Ancak bu kalitatif testin yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçları dikkate alındığında negatif bir sonucun, COVID-19 enfeksiyonu olasılığını dışlayamayacağı akılda tutulmalı ve bu durumda hasta klinik bulgularla değerlendirilmeli ve RT-PCR testi ile tanı doğrulanmalıdır.

KAYNAKLAR

1. U.S. Food and Drug Administration (FDA). Statistical Guidance on Reporting Results from Studies Evaluating Diagnostic Tests, Guidance for Industry and FDA Staff. Food and Drug Administration, Office of Surveillance and Biometrics, March 13, 2007. Available on: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/statistical-guidance-reporting-results-studies-evaluating-diagnostic-tests-guidance-industry-and-fda> (Accessed date: 01.03.2021).
2. Saunders BD, Trapp RG. Basic and Clinical Biostatistics, pp: 57-8. 1994. Appleton and Lange, United States.
3. Dinnes J, Deeks JJ, Adriano A, Berhane S, Davenport C, Dittrich S, et al. Rapid, point-of-care antigen and molecular-based tests for diagnosis of SARS-CoV-2 infection. Cochrane Database Syst Rev 2020.