

## Η ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΗ ΟΡΟΛΟΓΙΚΗ ΕΠΙΤΗΡΗΣΗ ΤΗΣ ΚΟΙΝΟΤΗΤΑΣ ΓΙΑ SARS-COV-2 ΔΕΝ ΜΠΟΡΕΙ ΝΑ ΒΑΣΙΣΤΕΙ ΣΤΗΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΕΝΑΝΤΙ ΕΝΟΣ ΜΟΝΟ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ ΟΠΩΣ ΚΑΤΑΔΕΙΚΝΥΕΤΑΙ ΣΕ ΟΡΟΛΟΓΙΚΟ ΕΛΕΓΧΟ 1,225 ΑΙΜΟΔΟΤΩΝ.

Α. Σπυριδωνίδης (1,\*), Μ. Πολίτου (2,\*), Ι. Τσολάκης (3,\*), Χ. Κοροβίλα (1), Δ. Κορακάκης (2), Γ. Βασιλείου (1), Θ. Κασσή (2), Σ. Ντουένας (2), Κ. Τρυφινούπουλου (4), Δ. Σωτήρη (4), Ι. Αδαμόπουλος (5), Κ. Πανέτα (6), Ι. Σταυροπούλου (7), Χ. Κάκαρη, (8) Χ. Παππά (9), Φ. Σακελλαρίδη (10), Β. Πουρνάρα (11), Ν. Ευσταθίου (11), Α. Σκορδυλάκη (12), Ε. Πετρουλάκη (12), Δ. Μπουργάνος (13), Α. Γάφου (14), Α. Χαιροπούλου (15), Ν. Βγόντζα (16), Μ. Σκέρτσου (16), Κ. Ακινόσογλου (1), Ε. Τέρπος (17), Γ. Παναγιωτακόπουλος (4), Μ. Μαραγκός (1), Χ. Γώγος (1), Λ. Αλεξόπουλος (3,\*)

(\* ) ίση συμμετοχή

(1) ΠΑΝ. ΠΑΤΡΩΝ (ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ/ ΜΜΜΟ / ΚΕΔΜΟΠ-«Χάρισε Ζωή»)

(2) ΠΝ ΑΡΕΤΑΙΕΙΟ

(3) Protatonce Ltd, ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ

(4) ΕΟΔΥ

(5) ΓΝ ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ - ΜΟΝ.ΜΕΣΟΓ.ΑΝΑΙΜΙΑΣ

(6) ΓΝ ΠΥΡΓΟΥ - ΝΥ ΑΙΜΟΔΟΣΙΑΣ

(7) ΓΝ ΑΜΑΛΙΑΔΑΣ - ΝΥ ΑΙΜΟΔΟΣΙΑΣ

(8) ΓΝ ΧΙΟΥ "ΣΚΥΛΙΤΣΕΙΟ" - ΝΥ ΑΙΜΟΔΟΣΙΑΣ

(9) ΓΝ ΚΟΡΙΝΘΟΥ - ΝΥ ΑΙΜΟΔΟΣΙΑΣ

(10) ΓΝ ΡΟΔΟΥ - ΝΥ ΑΙΜΟΔΟΣΙΑΣ

(11) ΓΝ ΑΓΡΙΝΙΟΥ

(12) ΓΝ ΧΑΝΙΩΝ

(13) ΓΝ ΑΜΦΙΣΣΑΣ

(14) ΓΝ Αγ. Ανάργυροι, Αττική

(15) ΓΝ Σισμανόγλειο, Αττική

(16) ΓΝ Αγία Όλγα, Αττική

(17) ΕΚΠΑ-ΓΝ Αλεξάνδρα

**Εισαγωγή** Έχουν αναπτυχθεί περισσότερες από 300 ορολογικές δοκιμασίες (tests) που ανιχνεύουν αντισώματα έναντι ενός των τριών SARS-CoV-2 αντιγόνων nucleocapsid phosphoprotein (N), spike glycoprotein subunit (S1) και receptor binding domain (RBD). Αν και τα περισσότερα tests/αντιγόνα καταδεικνύουν πολύ καλή απόδοση για την διάγνωση οροθετικότητας σε κλινικά δείγματα SARS-CoV-2 θετικών ατόμων, δεν έχει γίνει ποτέ άμεση σύγκριση των διαφορετικών αντιγόνων για την ικανότητα διάγνωσης προηγηθείσας λοίμωξης σε πληθυσμιακές μελέτες όπου ο οροεπιπολασμός και ο τίτλος αντισωμάτων αναμένεται χαμηλός.

**Σκοπός της μελέτης:** Η άμεση σύγκριση των τριών αντιγόνων (N, S1, RBD) για την οροδιάγνωση SARS-CoV-2 στην κοινότητα.

**Υλικό-μέθοδοι.** Συλλέχθηκαν 1,225 δείγματα από υγιείς αιμοδότες, μετά από ενυπόγραφη συγκατάθεση τους (ΕΗΔΕ Παν. Πατρών 6099), σε 13 Ν.Υ. Αιμοδοσίας μεταξύ της 23-25<sup>ης</sup> εβδομάδας 2020 (lockdown 13<sup>η</sup>-18<sup>η</sup> εβδομάδα). Έγινε ταυτόχρονος έλεγχος ολικών αντισωμάτων (IgG/IgM/IgA) έναντι N, S1 και RBD με τη μέθοδο Luminex (Protatonce Ltd). Στην κλινική ανάπτυξη της μεθόδου, η ειδικότητα

κάθε αντιγόνου είναι 97.4% σε όρια ανίχνευσης (cut-off) 3SD (=mean background+3 standard deviation) και δεν αυξανόταν σε πιο υψηλά cut-off (5SD). Η ευαισθησία της μεθόδου είναι για το N 94.8%, για το S1 96.1% και το RBD 98.7%.

**Αποτελέσματα.** Παρόλο που οι μετρήσεις κάθε αντιγόνου ξεχωριστά είχαν παρόμοια απόδοση (ευαισθησία/ ειδικότητα) στα κλινικά δείγματα SARS-COV-2 θετικών ατόμων, υπήρχε μια εντυπωσιακή διαφορά μεταξύ των αντιγόνων στην ανίχνευση οροθετικότητας στη πληθυσμιακή μελέτη (Εικόνα 1). Ακόμη και τα συναφή αντιγόνα S1 και RBD (υπομονάδα του S1) παρουσίασαν μόνο 9% συμφωνία στην ανίχνευση οροθετικότητας. Όταν χρησιμοποιείται μονήρες αντιγόνο η οροθετικότητα κυμαίνεται από 0.8% (N, cut-off 5SD) έως 7.5% (S1, 3SD), καταδεικνύοντας ότι η οροθετικότητα επηρεάζεται τόσο από το είδος του αντιγόνου όσο και από τα όρια που χρησιμοποιούνται για τον χαρακτηρισμό της θετικότητας. Η ανάλυση πολλαπλών αντιγόνων που απαιτεί μερική συμφωνία μεταξύ των μετρήσεων RBD, N και S1 επέδειξε βελτιωμένη ειδικότητα, λιγότερη εξάρτηση από τις τιμές cut-off και μια συνολικά πιο ισχυρή και σταθερή απόδοση (Εικόνα 1). Χρησιμοποιώντας ως κανόνα οροθετικότητας την ανίχνευση RBD και τουλάχιστον ενός των N ή S1 (ειδικότητα 100% και ευαισθησία 97.4% σε κλινικά δείγματα) και υψηλά και πιο «ειδικά» cut-off (5SD), 7/1225 (0.6%) αιμοδότες ανευρέθησαν οροθετικοί. Τουλάχιστον 3 από αυτούς είχαν κατά τη ενυπόγραφη συγκατάθεση τους δηλώσει πιθανά συμπτώματα ιογενούς λοίμωξης μετά τον 3/2019.

#### **Συμπεράσματα**

Η πληθυσμιακή μελέτη καταδεικνύει σαφώς ότι δεν είναι δυνατή η επιδημιολογική επιτήρηση SARS-CoV-2 που είναι βασισμένη στην ανίχνευση αντισωμάτων έναντι ενός μόνο αντιγόνου. Αυτό οφείλεται κατά κύριο λόγο στην διαφορετικού τύπου και έντασης ανοσοαπόκριση ή/και μείωση του τίτλου αντισωμάτων με τον χρόνο κάτω από το όριο ανίχνευσης στους ασυμπτωματικούς SARS-CoV-2 φορείς. Τα υψηλά ποσοστά οροθετικότητας με ανίχνευση ενός μόνου αντιγόνου (έως και 7.5%) οφείλονται στην μη 100% ειδικότητα και την αναμενόμενη διασταυρούμενη αντίδραση με προηγηθείσες SARS-COV λοιμώξεις και μπορούν μόνο εν μέρει να μειωθούν με τη αύξηση των cut-off ορίων, κάτι που γίνεται όμως σε βάρος της ευαισθησίας της μεθόδου. Η στρατηγική ανίχνευσης πολλαπλών αντιγόνων που απαιτεί μερική συμφωνία μεταξύ των αντιγόνων RBD και N ή S1 για τη διάγνωση ενός θετικού αποτελέσματος αποτελεί την πιο ασφαλή και ακριβή μέθοδο για την SARS-COV-2 επιδημιολογική επιτήρηση της κοινότητας.

#### **Εικόνα 1**

### Total (IgG/IgA/IgM)

