



Primary Comparison of SARS-COV2 PCR Samples of Body Fluids In Covid-19 Cases Admission To Intensive Care Unit

Yoğun Bakım Ünitesine Kabul Edilen Covid-19 Olgularında Vücut Sıvılarına Ait SARS-COV2 PCR Örneklemelerinin Karşılaştırılması

Eren Karahan¹, Gülten Arslan¹, Kemal Saraçoğlu¹, Serap Demir Tekol²

¹Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Kartal Dr Lütfi Kırdar Şehir Hastanesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kliniği, İstanbul, Türkiye

²Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Kartal Dr Lütfi Kırdar Şehir Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul, Türkiye

ABSTRACT

INTRODUCTION: SARS-CoV-2 (severe-acute-respiratory-syndrome-coronavirus) is a coronavirus disease that spreads rapidly in the world and causes pandemics and has high mortality rate. The aim of this study is; to compare the SARS-COV2 RT-PCR (Reverse-Transcription-Polymerase-Chain-Reaction) samples of various body fluids in the diagnosis of COVID-19 disease and to investigate the factors affecting mortality.

METHODS: The prospective study was admitted to the Intensive Care Unit (ICU) of 81 patients with clinical symptoms and/or nasopharyngeal swab positivity and/or CT findings and diagnosed with Covid-19 and collected from various body samples (nasopharyngeal, tracheal, rectal, stomach, plasma, etc.) whose swabs were obtained by RT-PCR in the first 24 hours of hospitalization. Age, gender, comorbid diseases, operation history, Covid-19 diagnostic methods (CT/Nasopharyngeal swab positivity/Clinic), treatment protocols, mechanical ventilation supports, ICU hospitalization and intubation times, feeding method, the treatments they received and factors affecting mortality were evaluated.

RESULTS: In our study, it was found out that RT-PCR positivity was most common in nasopharyngeal, then gastric and rectal sampling. Of the patients whose nasopharyngeal sampling was negative (n=55), 7 tracheal, 4 stomach, 5 rectal, 2 plasma sampling were detected as positive. In the patients whose tracheal sampling were negative (n=33), it was observed that 4 had stomach, 3 rectal, 6 nasal, 4 had positive plasma sampling. Advanced age, history of no operation, antibiotic administration, chronic drug use, intubation requirement increased mortality in univariate analysis, and positive tracheal sample decreased mortality. In multiple regression analysis, it was found that only mechanical ventilation was effective on mortality.

DISCUSSION AND CONCLUSION: Nasopharyngeal swabs, which are stated as the gold standard in diagnosis, may not be reliable in diagnosis alone due to their false negativity, testing multiple body samples from the same patient to reduce the possibility of error in the diagnosis may be useful, early diagnosis and treatment may be effective in mortality and the most important risk factor in mortality was found out to be being intubated.

Keywords: intensive care unit, sars-cov2, body fluids samples, diagnostic methods, rt-pcr, mortality

ÖZ

GİRİŞ ve AMAÇ: Ciddi akut solunum sendromu-koronavirüs (SARS-CoV-2) dünyada hızlı yayılarak pandemiye neden olan ve yüksek mortaliteye sahip bir koronavirüs hastalığıdır. Bu çalışmanın amacı; Koronavirüs hastalığı-2019 (COVID-19) hastalığının tanısında çeşitli vücut sıvılarına ait SARS-COV2 Reverse Transkripsiyon-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) örneklemelerini karşılaştırmak ve mortaliteye etki eden faktörleri araştırmaktır.

YÖNTEM ve GEREÇLER: Prospektif olan çalışmaya, klinik semptomları ve/veya nazofaringeal sürüntü pozitifliği ve/veya BT bulguları ile COVID-19 tanısı alarak Yoğun Bakım Ünitesi (YBÜ)'ne kabul edilen, yatışlarının ilk 24 saatinde çeşitli vücut numunelerinden (nazofaringeal, trakeal, rektal, mide, plazma, idrar) RT-PCR ile sürüntüleri alınan 81 hasta dahil edildi. Olguların yaş, cinsiyet, komorbid hastalıkları, operasyon yükleri, COVID-19 tanı yöntemleri (Bilgisayarlı Tomografi/Nazofaringeal sürüntü pozitifliği/Klinik), tedavi protokolleri, mekanik ventilasyon destekleri, YBÜ yatış ve entübasyon süreleri, beslenme yöntemi, aldıkları tedavileri, mortaliteye etki eden faktörleri değerlendirildi.

BULGULAR: Çalışmamızda RT-PCR pozitifliğinin en sık nazofaringeal, sonrasında mide ve rektal örneklemede olduğu, nazal örnekleme negatif çıkan hastaların (n=55) 7'sinde trakeal, 4'ünde mide, 5'inde rektal, 2'sinde plazma örneklemesinin pozitif olduğu saptandı. Trakeal örnekleme negatif çıkan hastaların (n=33) ise 4'ünde mide, 3'ünde rektal, 6'sında nazal, 4'ünde plazma örneklemesinin pozitif olduğu gözlemlendi. Tek değişkenli analizde ileri yaş, operasyon, antibiyotik verilmesi öyküsü olmaması, kronik ilaç kullanımı, entübasyon gereksiniminin mortaliteyi artırdığı, trakeal örneğin pozitif saptanmasının ise mortaliteyi azalttığı belirlendi. Multiple regresyon analizinde ise sadece mekanik ventilasyona bağlanmanın mortalite üzerinde etkili olduğu saptandı.

TARTIŞMA ve SONUÇ: Tamamı altın standart olarak belirtilen nazofaringeal sürüntülerin yanlış negatifliklerinin olması nedeniyle tek başına tanı konulmasında güvenilir olmayabileceği, tamda hata olasılığını azaltmak için aynı hastadan birden fazla vücut örneklemelerinin test edilmesinin yararlı olabileceği, erken tanının ve tedavinin mortalitede etkili olabileceği ve mortalitede en önemli risk faktörünün de entübe olma olduğu kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: yoğun bakım ünitesi, sars-cov2, vücut sıvıları numuneleri, tanı yöntemleri, rt-pcr, mortalite

Kabul Tarihi: 28.08.2021

Correspondence: Eren Karahan, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Kartal Dr Lütfi Kırdar Şehir Hastanesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kliniği, İstanbul, Türkiye

E-mail: renkarahan@yandex.com *Kocaeli Medical Journal*



GİRİŞ

Koronavirus, hem hayvanlarda hem insanlarda patojen olan, respiratuar ve enterik hastalıklara neden olan zarflı bir RNA virüsüdür. İlk olarak 2003’de Çin’de tespit edilmiş türü ciddi akut solunum sendromu-koronavirüs (SARS-CoV) olarak isimlendirilmiş (1) ve Aralık 2019’a kadar dünyada 2519 tanılı vaka, 866 ölüm bildirilmiştir (2). SARS-CoV-2’nin neden olduğu Koronavirüs hastalığı-2019 (COVID-19) ise ilk defa Aralık 2019’da Çin’in Hubei Eyaletinin Wuhan şehrinde tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda insandan insana bulaş esas damlacık yoluyla olmakla birlikte, feko-oral yol ile de bulaştığı bildirilmektedir (3,4). İnsandan insana bulaş ile hızlıca yayılan koronavirus hastalığı dünya çapında da bir pandemiye neden olmuştur.

Günümüzde SARS-CoV-2 tanısında altın standart yöntem; moleküler bir test olan nasal sürüntü veya trakeobronşial numunelerde virüse ait RNA tespit edilmesi esasına dayanan Reverse Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR)’dur. Yapılan bir meta-analizde RT-PCR yönteminde alınan numunelere göre duyarlılık oranları balgam için % 97,2, nazofaringeal aspirat/sürüntü ve boğaz sürüntüsü için % 73,3, tükürük için % 62,3, rektal dışkı/sürüntü için % 24,1, plazma için %7,3, idrar için % 0 olduğu gösterilmiştir (5). Test sonuçlarının özgüllüğü değişkendir, çünkü duyarlılığı çeşitli faktörler etkileyebilir. Bunlar sürüntü kaynağı, zamanlama, numune toplama, test kiti kalitesi ve hastaların karakteristik özelliklerini içerir (6).

Yapılan çalışmamızda birincil amaç; RT-PCR testi ile tanısal yöntemlerin etkinliğini değerlendirmek, nasofaringeal sürüntünün tanıdaki etkinliğini diğer vücut sıvıları ile karşılaştırmak, ikincil amacımız ise yoğun bakım ünitesi (YBÜ)’lerinde mortaliteye etki eden faktörleri belirlemektir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamız hastanemiz etik komite izni alınarak (Karar No:2020/514/179/5) ve revize Helsinki bildirgesine uyumlu olarak yapılmıştır. Prospektif olarak yaptığımız bu çalışmaya, Mayıs 2020 ile Haziran 2020 tarihleri arasında klinik semptomları (ateş, öksürük, solunum sıkıntısı) ve/veya nazofaringeal sürüntü pozitifliği ve/veya bilgisayarlı tomografi (BT) bulguları (buzlu cam görünümü, infiltrasyon, ateletazi) ile Covid-19 tanısı alarak acilden hastanemiz YBÜ’sine kabul edilen 18 yaş üstü hastalardan yatışlarının ilk 24

saatinde çeşitli vücut numunelerinden (nazofaringeal, trakeal, rektal, mide, plazma, idrar) steril şartlarda sürüntüleri alınan 81 hasta dahil edildi.

Covid-19 düşünülmeyen, ayaktan tedavi alan, servisten kabul edilen, 18 yaş altı olan, YBÜ’ye kabul edilmeyen ve sürüntü örnekleri YBÜ’ye kabul edildikten 24 saat sonra alınan Covid-19 hastaları çalışmaya dahil edilmemiştir.

Nazofarengal ve rektal sürüntü örnekleri ticari viral taşıma ortamı kitinde (VTM-Innomed), toplandı. İdrar, trakeal aspirat ve mide suyu ise steril toplama tüplerine alındı. Her hastadan alınan venöz kan örnekleri Etilendiamin tetraasetik asit-dipotasyum (EDTA-K2) içeren tüplerde toplandı ve 3500 rpm’de 4°C’de 10 dakika santrifüje edildi. Santrifüjlemeden sonra plazma 2.0 mL’lik tüplere bölünmüştür.

Viral RNA ekstraksiyonu ve qRT PCR ise Viral RNA, üreticinin protokolünde açıklanan talimatlar izlenerek Yüksek Saf Viral RNA Kiti (Roche Life Science) ile tüm örneklerden ekstrakte edildi. Ekstrakte RNA, SARS-CoV-2 (2019-nCoV)-spesifik RNA’ya bağımlı RNA polimeraz (RdRp) gen parçasını (Biospeedy, SARS-CoV-2 qPCR Detection Kit) hedefleyen gerçek zamanlı PCR (RT-qPCR) ile test edilmiştir. CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad) ile gerçek zamanlı PCR analizleri yapıldı.

Çalışmamızda hastaların yaş, cinsiyet, komorbid hastalıkları, kronik ilaç kullanımları, geçirilmiş operasyon öyküleri, Covid-19 tanı yöntemleri (Bilgisayarlı Tomografi/Nazofaringeal sürüntü pozitifliği/Klinik), YBÜ’ye kabulünden sonraki ilk 24 saat içerisinde alınan çeşitli vücut sürüntülerinin sonuçları, hastalığa özgü kombine (kombine ilaç tedavisi; hastanın aktif olarak beraber veya ardışık aldığı ilaç tedavisi) ve/veya izole tedavi protokolleri, hastane, YBÜ yatış ve entübasyon süreleri, YBÜ’deki takiplerinde beslenme yöntemleri (Enteral/Parenteral) ve mortaliteye etki eden faktörleri değerlendirildi.

Hastaların demografik özellikleri ve toplanan verileri IBM® the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) Statistics versiyon 23’e girildi. Değişkenler, ortalama, maksimum ve minimum değerler kullanılarak karakterize edildi, nitel değişkenler için yüzde değerleri kullanıldı. Normal dağılımlar ortalama ± SD şeklinde raporlandı ve gruplar arasındaki karşılaştırmalar için Student t-testi kullanıldı. Nitel değişkenlerin analizi için

Pearson ki-kare testi, eğer grup küçük ise Fisher exact testi, kullanıldı. Parametrik olmayan sürekli değişkenler medyan ve aralıklı dağılım olarak kaydedildi ve Mann-Whitney U testleri kullanılarak karşılaştırıldı. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Bu tek değişkenli analizde mortalite üzerine istatistiksel olarak anlamlı etkisi olduğu saptanan değişkenlerden, her hastadan trakeal örnek alınmadığı için analizde sorun yaratacağından trakeal örnek değişkeni dışarıda tutularak, binary lojistik regreyon analizi yapıldı.

BULGULAR

Çalışmamızdaki hastaların demografik özellikleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Hastaların 77 (%95,1)'sinde en az bir komorbidite mevcuttu. En sık komorbiditenin 38 (%46,9) hastada görülen hipertansiyon, ikinci en sık ise 26 (%32,1) hasta ile koroner arter hastalığı olduğu belirlendi. Ayrıca 15 (%18,5) hastada malignite, 8 (%9,9) hastada kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOA) ve 7 (%8,6) hastada da astım olduğu saptandı.

YBÜ'ye kabul edilen hastaların 60 (%74,1)'ine göğüs BT ile, 17 (%21)'sine hem nazofaringeal sürüntü, hem BT bulguları ile, 4 (%4,9) 'üne sadece nazofaringeal sürüntü pozitifliği ile ilk tanı konulmuş ve YBÜ'ye yatışı uygun bulunmuştur. Çoğunluğunda BT'de en az bir patognomonik bulgu mevcuttu. BT patognomonik bulgularından en sık görülen radyolojik görüntü buzlu cam ($n=47$, %58) iken sonrasında infiltrasyon ($n=31$, %38,3), atelektazi ($n=12$, %14,9), konsolidasyon ($n=2$, %2,5) ve lobar pnömoni ($n=1$, %1,2) gözlemlendi. Ayrıca 15 (%18,5) hastada birden fazla BT bulgusunun olduğu belirlendi.

Hastaların 62 (%76,5)'sinde entübasyon gerekmişti. Hastaların 21 (%25,9)'ine öncelikle nazal yüksek akım (high flow) oksijen denendi, fakat bu hastaların 14 (%66,6)'ünde high flow oksijene rağmen entübasyon gerekti. Geriye kalan 7 (%33,4) hastada ise entübasyona gerek kalmamıştı. Entübe olan 62 hastanın sekizi (%12,9) ekstübe edilebilirken geri kalan 54 (%87,1)'ü ekstübe edilememişti. Bu hastalar için entübasyon süresi ortalama $230,1 \pm 236,0$ saat iken (aralık 0.5-1200 saat) tüm hastalar için yoğun bakımda kalış süresinin ortalama $13,5 \pm 16,8$ gün (aralık 1-138 gün) olduğu hesaplandı (Tablo 1).

Çalışma boyunca hastaların hastalığa özgü kombine ve/veya izole tedavileri ile ilgili detaylı bilgi Tablo

2'de verilmiştir. En sık kullanılan veya kullanılmış olan ilaç Hidroksiklorokin idi ($n=75$, %92,5). Hastaların 53 (%65,5)'ü Azitromisin'i kullanmış veya kullanıyor iken antiviral bir ilaç olan Favipiravir ise hastaların 47 (%58)'si tarafından kullanılıyor veya kullanılmıştı. Sadece 5 (%6,2) hastada Tocilizumab kullanılır iken 8 (%9,9)'ünde plazma tedavisi uygulanmıştı. En sık üçlü kombine tedavinin

(azitromisin+hidroksiklorokin+favipiravir) kullanıldığı görüldü ($n=25$, %30,9). Sonrasında en sık kullanılan tedavi kombinasyonu 24 (%29,6) hastada azitromisin+hidroksiklorokin kombinasyonu idi. Hastaların 16 (%19,8)'sine hidroksiklorokin+favipiravir kombinasyonu verilirken 10 (%12,3)'üne sadece hidroksiklorokin ve 6 (%7,4)'sine sadece favipiravir tedavisi uygulandı.

Yoğun bakım ünitesi yatışları boyunca 65 (%80,2) hastaya antibiyotik tedavisi verilmişti. En sık kullanılan antibiyotik 35 hastada piperacillin/tazobactam idi. Onu 17 hastada seftriakson ve 11 hastada teikoplanin takip ediyordu. On hastada meropenem, yedi hastada linezolid, ikişer hastada seftiriakson ve ampisilin+sulbaktam, birer hastada klaritromisin, sulfametoksazol/ trimetoprim, vankomisin ve kolimisin kullanıldı.

Hastalardan alınan örnekler ve örneklerin durumu Tablo 3'de görülmektedir. Tüm hastalardan en az bir kez herhangi bir yerden örnek alındığı görüldü. Tüm hastalardan nazofaringeal, idrar, rektal ve plazma örnekleri alınırken trakeal ve mide örneklerinin her hastadan alınmadığı görüldü. Trakeal örnek 44 hastada, mide örneği ise 33 hastada alınmamıştı.

Tüm hastaların 40 (%49,3)'ünde en az bir kez herhangi bir yerden örnek alınmasına rağmen hiçbir pozitiflik saptanamamış iken 41 (%50,7)'inde en az bir bölgeden alınan örnekte pozitiflik saptanmıştı. Pozitiflik saptananların 23'ünde sadece bir yerde, 10'unda iki yerde, 8'inde ise üç veya daha fazla yerden alınan örneklerde pozitiflik saptanmıştı.

Hastaların YBÜ'ye kabulünden sonraki ilk 24 saatte alınan numünelerden en sık pozitifliğin nazofaringeal örnekleme sonrasında saptandığı görüldü ($n=26$, %32,1). Tüm hastalar üzerinden yapılan karşılaştırmada ikinci en sıklıkta pozitiflik saptanan örnekleme mide ve rektal örnekleme idi (sırasıyla, %16 ve %16). Sadece örnek alınan

hastalar üzerinden yapılan karşılaştırmada ise ikinci en sık pozitiflik mide ve trakeal örneklem gözlemlendi (sırasıyla, %27,0 ve %26,6). İdrar örneklerin hepsi negatif çıkarken alınan rektal örneklerin %16 (n=13)'ünün ve plazma örneklerinin %6,2 (n=5)'ünün pozitif çıktığı görüldü.

Nazofaringeal örnekleme negatif çıkan hastaların (n=55) 7'sinde trakeal, 4'ünde mide, 5'inde rektal, 2'sinde plazma örnekleme pozitif olduğu belirlendi. Trakeal örnekleme negatif çıkan hastaların (n=33) 4'ünde mide, 3'ünde rektal, 6'sında nazofaringeal, 4'ünde plazma örnekleme pozitif olduğu gözlemlendi. Mide örnekleme negatif çıkan hastaların (n=35) 4'ünde trakeal, 2'sinde rektal, 4'ünde nazal, 2'sinde plazma örnekleme, idrar örnekleme negatif çıkan hastaların (n=78) ise 25'inde nazal, 13'ünde mide, 13'ünde rektal, 12'sinde trakeal ve 5'inde plazma örneklerinin pozitif geldiği saptandı. Rektal örnekleme negatif çıkan hastaların (n=68) 18'inde nazal, 10'ünde mide ve üçünde plazma örnekleri, plazma örnekleme negatif çıkan hastaların (n=76) ise 23'ünde nazal, 12'sinde trakeal, 11'inde mide ve 11'inde rektal örnekleri pozitif olarak belirlendi (Tablo 4).

Takipte hastaların 54 (%66,7)'ü ölürken 27 (%33,3)'si servise taburcu edildi. İleri yaşın (p=0,04), kronik ilaç kullanımının (p=0,03), operasyon öyküsü olmadan Covid-19'a yakalanmanın (p=0,01), entübasyon gereksinimi olmasının (p<0,001), ekstübe edilememenin (p<0,001) ve de antibiyotik verilmemesinin mortalite üzerine negatif olarak etkisi olduğu görüldü. Trakeal örneğin pozitif saptanmasının mortaliteyi azalttığı görüldü (p=0,02). Diğer değişkenlerin ise mortalite üzerinde etkisi yoktu (Tablo 5). Plazma örneği pozitif saptanan beş hastanın hepsi mortal seyrederken plazma örnek sonucu negatif çıkanlarda mortalite oranı %64,5 idi (p=0,103). Bu tek değişkenli analizde mortalite üzerine istatistiksel olarak anlamlı etkisi olduğu saptanan değişkenlerden, her hastadan trakeal örnek alınmadığı için analizde sorun yaratacağından trakeal örnek değişkeni dışarıda tutularak, binary lojistik regreyon analizi yapıldı. Bu analize göre yaş (p=0,772), operasyon öyküsü (p=0,143), kronik ilaç kullanımı (p=0,194), ve antibiyotik kullanımının (p=0,996) mortalite üzerindeki etkisini kaybettiği mekanik ventilasyona bağlanmanın ise mortalite üzerinde etkisi olan tek bağımsız değişken olduğu görüldü (p<0,001).

Kullanılan ilaç yönetimine göre en çok ölüm Azitro+Hidroksiklorokin grubunda belirlendi (n=18, 75,0%). Diğer tedavi yöntemleri ile mortalite arasındaki ilişki Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 1. Hastaların Karakteristik Özellikleri

Değişken	Değer
Yaş, yıl ort±SD	71.5±12.8
Cinsiyet, n (%)	
Kadın	34 (%42.0)
Erkek	47 (%58.0)
Komorbidite, n (%)	77 (%95.1)
Komorbidite sayısı, n (%)*	
Bir	38 (%46.9)
İki	23 (%28.4)
Üç ve daha fazla	16 (%19.8)
Operasyon öyküsü, n (%)	22 (%27.2)
Kronik ilaç kullanımı, n (%)	67 (%82.7)
İlk tanı yöntemi, n (%)	
Sadece BT**	60 (%74.1)
Nazofaringeal sürüntü+BT	17 (%21.0)
Sadece nazal sürüntü	4 (%4.9)
BT'de patognomik bulgu varlığı, n (%)	77 (%95.1)
Yüksek akım O2 uygulama oranı, n (%)	21 (%25.9)
Entübasyon gereksinimi, n (%)	62 (%76.5)
Entübasyon sonrası ekstübe olabilme, n (%) #	8 (%12.9)
Entübasyon süresi, saat ort±SD	230.1±236.0
YBÜ*** yatış süresi, gün ort±SD	13.5±16.8

* Bu değerlendirme en az bir komorbiditesi olan 77 hasta üzerinden yapılmıştır. # Bu değerlendirme entübe edilen 62 hasta üzerinden yapılmıştır.

BT: Bilgisayarlı Tomografi *YBÜ: Yoğun bakım Ünitesi

Tablo 2. Covid 19 Spesifik Tedavisinin Hastalarımızda Kombine Kullanımı (Her Sütun ve Satırdaki İlaç için Matrikste Kendisi ile Eşleşen Diğer İlaç ile Birlikte Kullanılma Sayıları)

	Azitromisin	Hidroksiklorokin	Favipiravir	Tocilizumab	Plazma
Azitromisin (n=53)	--	49	29	3	6
Hidroksiklorokin (n=75)	49	--	41	5	8
Favipiravir (n=47)	29	41	--	4	8
Tocilizumab (n=5)	3	5	4	--	3
Plazma (n=8)	6	8	8	3	--

Tablo 3. Örnek Alınma Yeri ve Örneğin Sonucu

	Nazofaringeal	Trakeal	Mide	İdrar	Rektal	Plazma
Örnek alınmış sonuç negatif	55 (%67.9)	33 (%40.7)	35 (%43.2)	78 (%96.3)	68 (%84.0)	76 (%93.8)
Örnek alınmış sonuç pozitif	26 (%32.1)	12 (%14.8)	13 (%16.0)	--	13 (%16.0)	5 (%6.2)
Örnek alınmamış		36 (%44.4)	33 (%40.7)	3 (%3.7)		
Örnek alınanlarda pozitiflik oranı*	%32.1	%26.6	%27.0	--	%16.0	%6.2

*Bu oran sadece örnek alınanlar içinde pozitiflik saptanma oranını vermektedir, bu oranlamada örnek alınmayan hastalar dışlanmıştır.

Tablo 4. Alınan Örnekleri Negatif Çıkanların Diğer Örneklerdeki Pozitiflik ile İlişkisi

	Nazal pozitiflik (n=26)	Trakeal pozitiflik (n=12)	Mide pozitiflik (n=13)	İdrar pozitiflik (n=0)	Rektal pozitiflik (n=13)	Plazma pozitiflik (n=5)
Nazal negatiflik (n=55)	--	7	4	--	5	2
Trakeal negatiflik (n=33)	6	--	4	--	3	4
Mide negatiflik (n=35)	4	4	--	--	2	2
İdrar negatiflik (n=78)	25	12	13	--	13	5
Rektal negatiflik (n=68)	18	9	10	--	--	3
Plazma negatiflik (n=76)	23	12	11	--	11	--

Tablo 5. Mortalite Üzerine Etkisi Olan Faktörlerin İncelenmesi

Değişken	Ölüm (n=54)	Taburcu (n=27)	p değeri
Yaş, yıl ort±SD	73.3±12.6	67.8±12.7	0.04
Cinsiyet, n (%)			
Kadın	23 (%42.6)	11 (%40.7)	0.874
Erkek	31 (%57.4)	16 (%59.3)	
Komorbidite, n (%)	52 (%96.3)	25 (%92.6)	0.468
Komorbidite sayısı, n (%)*			0.747
Bir	25 (%48.1)	13 (%52.0)	
İki ve daha fazla	27 (%51.9)	12 (%48.0)	
Operasyon öyküsü, n (%)	10 (%18.5)	12 (%44.4)	0.01
Kronik ilaç kullanımı, n (%)	48 (%88.9)	19 (%70.9)	0.03
İlk tanının sadece BT olması, n (%)	39 (%72.2)	21 (%77.8)	0.591
Entübasyon gereksinimi, n (%)	54 (%100)	8 (%29.6)	0.001
Entübasyon sonrası ekstübe olabilme, n (%) #	1 (%1.9)	7 (%87.5)	0.001
Azitro kullanımı, n (%)	36 (%66.7)	17 (%63.0)	0.741
Hidroksiklorokin kullanımı, n (%)	50 (%92.6)	25 (%92.6)	1.000
Favipiravir kullanımı, n (%)	30 (%55.6)	17 (%63.0)	0.524
Tocilizumab kullanımı, n (%)	4 (%7.4)	1 (%3.7)	0.514
Plazma kullanımı, n (%)	6 (%11.1)	2 (%7.4)	0.598
Antibiyotik kullanımı, n (%)	40 (%74.1)	25 (%92.6)	0.04
Trakeal örnekte pozitiflik, n (%) ¥	7 (%19.4)	5 (%55.6)	0.02
Mide örneğinde pozitiflik, n (%) £	10 (%26.3)	3 (%30.0)	0.816
Rektal örnekte pozitiflik, n (%)	9 (%16.7)	4 (%14.8)	0.831
Nazal örnekte pozitiflik, n (%)	14 (%25.9)	12 (%44.4)	0.092
Plazma örneğinde pozitiflik, n (%)	5 (%9.3)	--	0.103
Alınan testlerin en az birinde pozitiflik, n (%)	26 (%48.1)	15 (%55.6)	0.530
Pozitif testin bölgelere göre dağılımı, n (%) β			0.730
1			
2	14 (%53.8)	9 (%60.0)	
3	6 (%23.1)	4 (%26.7)	
4	5 (%19.2)	1 (%6.7)	
	4 (%3.8)	1 (%6.7)	
Entübasyon süresi, saat ort±SD	208.1±196.6	379.0±404.5	0.298
YBÜ yatış süresi, gün ort±SD	12.6±8.7	15.4±26.7	0.308

*Bu değerlendirme en az bir komorbiditesi olan 77 hasta üzerinden yapılmıştır. # Bu değerlendirme entübe edilen 62 hasta üzerinden yapılmıştır. ¥ Bu değerlendirme trakeal örneklem yapılan 45 hasta üzerinden yapılmıştır. £ Bu değerlendirme mide örnekleme yapılan 48 hasta üzerinden yapılmıştır. β Bu değerlendirme en az bir örnekleme pozitif çıkan 41 hasta üzerinden yapılmıştır.

Tablo 6. Tedavi Kombinasyonlarına göre Mortalite Oranları

	Exitus (n=54)	Taburcu (n=27)
Azitro+Hidroksiklorokin (n=24)	18 (%75.0)	6 (%25.0)
Azitro+Hidroksiklorokin+Favipiravir (n=25)	15 (%60.0)	10 (%40.0)
Hidroksiklorokin+Favipiravir (n=16)	11 (%68.8)	5 (%31.3)
Sadece hidroksiklorokin (n=10)	6 (%60.0)	4 (%40.0)
Sadece Favipiravir (n=6)	4 (%66.7)	2 (%33.3)

TARTIŞMA

Günümüzde Covid-19 tanısında altın standart tanı yöntemi; çeşitli vücut sıvılarından alınan numunelerden viral RNA tespitine dayanan RT-PCR yöntemidir (7). Nazofaringeal, orofaringeal, trakeobronşial, rektal, idrar, kan numunelerinin RT-PCR ile analiz edildiğini gösteren birçok çalışma vardır. Bununla birlikte, COVID-19 taraması için en çok tanı aracı olarak kullanılan RT-PCR testlerinin yüksek yanlış negatif sonuçları rapor edilmiştir. Bu oranların % 30-50'lere kadar çıktığı, bunun için de her ne kadar en sık kullanılan ve en kolay yol olmasına rağmen nazofaringeal sürüntü dışında başka vücut sıvılarından da örneklemelerin alınması, BT gibi çeşitli görüntüleme yöntemlerinin de kullanılması gerektiği bildirilmektedir (8,9).

Bizim çalışmamızda RT-PCR yöntemiyle nazofaringeal sürüntü ve/veya BT bulguları ile ilk COVID-19 tanısı olarak YBÜ'ye kabul edilen ve kabulünden sonraki ilk 24 saat içerisinde nazofaringeal sürüntüsü negatif olarak belirlenen 55 (%67,90) hastanın 18 (%22,22)'inde diğer sürüntü numunelerinin en az birinde pozitiflik saptanmıştır. Bu pozitifliklerin 12 (%66,66)'si trakea, 4 (%22,22)'ü mide, 5 (%27,77)'i rektal, 2 (%11,11)'si plazmadan alınan numunelerde gözlemlendi. Bu konuda yapılan çalışmalarda saptanan yalancı negatifliklerin örnek almanın zorluluğuna, viral genomun yetersiz alınmasına, viral replikasyonun doğru zaman aralığının kaçırılmasına/enfeksiyonun erken döneminde alınmasına, hasta uyumsuzluğuna, numunenin transportunda yaşanan problemlere, kontaminasyona, virusun kendi yapısına bağlı olabileceği belirtilmiştir (10).

Vigneshwar ark, sigara, KOAH, anemi anamnezi olan 78 yaşındaki erkek hastanın solunum sıkıntısı şikayetiyle acile başvurduğunu, COVID 19 tanısı düşünüldüğünü, ancak bir gün sonra kliniğinin düzelmesi ve 3 kez bakılan nazofaringeal RT-PCR testinin negatif gelmesi üzerine bu tanıdan uzaklaşıldığını bildirmişlerdir. Ancak olgunun kliniğinin 3. gününde tekrar kliniğinin bozularak entübe edildiği, nazofaringeal RT-PCR testleri negatif olduğu için toplum kökenli pnömoni tanısı düşünülerek tedaviye başlandı, ancak aynı zamanda alınan trakeal örneğin SARS-CoV-2 RNA için pozitif geldiği, bu yalancı negatifliğin de kısmen numunenin viral yükü ile açıklanabileceği

belirtilmiştir. Aynı çalışmacılar, deneyimleriyle ilgili olarak, en yüksek pozitif test oranlarının bronkoalveolar lavaj örneklerinde (% 93), ardından balgamda (% 72) ve nazofaringeal sürüntülerde (% 63) olduğunu bildirerek başlangıçta negatif nazofaringeal sürüntü testlerinin COVID-19 ile tutarlı semptomlar gösteren bir hastada klinik yönetimi değiştirmemesi, mümkün olduğunda teşhisi doğrulamaya yardımcı olmak için seri alt solunum yolu örneklerin alınması gerektiği sonucuna varmışlardır (11).

Chen ve ark, solunum sıkıntısı, ateş, COVID-19 teması olan, ancak SARS-CoV-2

RT-PCR testi faringeal sürüntü için negatif olan 25 yaşındaki bayan hastada tedavilerin etkisiz olması üzerine 1 gün sonra göğüs BT'si çekildiğini, fekal sürüntü ile aynı testin tekrarlandığını bildirmişlerdir. Göğüs BT'de buzlu cam görüntüsü ve fekal RT-PCR testinin pozitif gözlemlendiğini, hatta hastanın hastaneye kabulünden sonraki 7 gün içerisinde ikişer kez alınan faringeal ve balgam sürüntülerinin de negatif geldiğini, ancak antiviral tedavilerden sonra semptomların ve BT bulgularının gerilediğini ve sonuç olarak da bizim çalışmamızla uyumlu olarak bu virüs enfeksiyon yollarının hala sınırlı olduğunu, virüsün sindirim sisteminde de çoğalabileceğini, feko-oral geçiş yolunun da mümkün olabileceğini belirtmişlerdir (12). Bizim çalışmamızda nazofaringeal sürüntüsü negatif gelmiş olan fakat rektal sürüntüsü pozitif olan 5 hasta tespit edilmiştir. Yapmış olduğumuz literatür taramalarımızda COVID-19'u teşhis etmek için dışkı nükleik asit testlerinin yüksek hassasiyetlerini gösteren daha birçok çalışmaya rastlanmıştır (13-15).

Ai ve ark, 1014 hasta ile yaptıkları çalışmada hastaların % 59'una boğazdan alınan numunedeki pozitif RT-PCR sonuçları, %88'ine ise pozitif göğüs BT bulguları ile Covid-19 tanısı konduğunu bildirmişlerdir (8). Yapılan taramalara göre, hastaların % 90'ında ilk pozitif RT-PCR sonuçlarından önce COVID-19 ile uyumlu başlangıç göğüs BT bulgularının olduğunu ve bu nedenle negatif RT-PCR sonuçlarının tanı ve tedavide sorun yaratabileceğini, göğüs BT'sinin özellikle endemik bölgelerde tanıda primer araç olarak kullanılabileceği sonucuna varmışlardır

Bununla birlikte Inui ve ark ise Diamond Princess yolcu gemisindeki 112 pozitif RT-PCR testli COVID-19 olgusunun BT taramalarını

inceledikleri çalışmalarında olguların 2/3'sinden azında BT'de akciğer opasitesi olduğunu, semptomatik hastaların ise % 20'sinde negatif BT bulgusu gözlemlediklerini bildirmişlerdir (16). Bu nedenle biz de çalışmamızda özellikle nazofaringeal yalancı negatifler nedeniyle COVID-19 tanısında BT yerine değişik vücut sıvılarından alınan numunelerin çoklu RT-PCR testleri sonuçlarını karşılaştırmayı amaçladık. Bizim yapmış olduğumuz çalışmada 41 hastada en az bir numune pozitifliği saptanmıştır. Bu hastaların 26 (%63,4)'sında nazofaringeal pozitiflik, 12 (%29,2)'sinde trakeal pozitiflik, 13 (%31,7)'ünde mide pozitifliği, 13 (%31,7)'ünde rektal pozitiflik, 5 (%12,1)'inde plazma pozitifliği görülmüştür. Böğerve ark'nın (5) yapmış olduğu meta-analizde ise Covid-19 tanısı için tanı yöntemleri açısından bakılan 7 çalışmada RT-PCR yönteminde alınan numunelere göre duyarlılık oranları balgam için % 97,2; nazofaringeal aspirat ve boğaz sürüntüsü için % 73,3; tükürük için % 62,3; rektal dışkı sürüntüsü için %24,1; plazma için %7,3; idrar için %0 olarak bildirilmiştir. BT parametrelerine bakılan 6 çalışmada BT'nin sensitivitesi %92,9 iken spesifitesi %25,1 olarak belirtilmiştir. İmmunolojik testler için ise IgM ve IgG'nin beraber bakıldığında daha yüksek spesifite (%84,5) ve sensitivite (%91,6) gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca bu meta-analizde BT'nin en hassas ikinci test olduğu gösterilmiş, ancak özgüllüğü düşük ve immünolojik testlerle karşılaştırıldığında düşük Gerçek Pozitif Oran/Yanlış Pozitif Oran (PLR) değeri nedeniyle klinik uygulamada izole kullanımını engelleyebileceğini öngörmüşlerdir.

Bizim çalışmamızda Palyatif Yoğun Bakım Ünite'sine kabul edilen 77 (%95,1) hastada en az bir BT bulgusu olduğu, en sık görülen BT bulgusunun ise buzlu cam manzarası (n=47, %58) olduğu saptanmıştır. Ai ve ark.'nın yaptığı çalışmada bizimle uyumlu olarak hastaların %88'inde BT bulgusu olduğu, en sık olarak da konsolidasyon ve buzlu cam manzarası gözlemlendiği bildirilmiştir (8). Lovato ve ark.'nın yaptığı çalışmada ise %83 hastada BT bulgusu olduğu, %89,5'inde bilateral, %50'sinde ise buzlu cam manzarası görüldüğü belirtilmiştir (17).

Çeşitli araştırmacılar tarafından COVID-19'a bağlı mortalite oranları, Amerika'da %67, İtalya'da %48,7, Çin'de %52 olarak belirlenmiştir (18,19,20). Armstrong ve ark.'nın yaptığı incelemede ise 24 makale incelenmiş ve yoğun

bakım ünitelerindeki mortalite %41,6 olarak gösterilmiştir (21). Bizim çalışmamızda mortalite oranımız %66,7 olarak bulunmuştur. Mortalite oranımızın yüksek olmasının nedeninin; hastanemizin ülkemizin en kalabalık şehri olan İstanbul'daki en büyük 3. basamak hastanelerden biri olması ve tüm klinikleri barındırması nedeniyle dış merkezlerden hastaların yönlendirildiği, son dönem hastalar için ümit kaynağı olarak görülen ve kötü profile sahip hastaların yoğunlukta olduğu bir merkez hastane olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Grasselli ve ark, İtalya'da YBÜ'de 3985 COVID-19 tanılı hastanın mortalitesinde etkili faktörleri retrospektif olarak araştırdıkları çalışmalarında yaş ortalamalarının bizden daha düşük (63 yıl), bizim sonuçlarımızla uyumlu olarak YBÜ'de kalış sürelerinin 12 gün, olgularının büyük bir çoğunluğunun erkek, en az bir komobirditeleri olduğunu ve mortalitede en büyük etkenin entübasyon ve mekanik ventilasyon gereksinimi olduğunu bildirmişlerdir (19). Aynı çalışmada ileri yaş, erkek cinsiyet, inspire edilen oksijen miktarının ve pozitif ekspirasyon sonu basıncının yüksek, PaO₂/FiO₂ oranının düşük olmasının, KOAH, hiperkolesterolemi, diabetes mellitus varlığının mortalitede bağımsız risk faktörleri olduğunu, hiçbir ilacın ise etkili olmadığını belirlemişlerdir.

Zhou ve ark'nın Çin'de çok merkezli 191 COVID-19 tanılı hastayı içeren retrospektif çalışmalarında ileri yaş, hastaların YBÜ'ye kabulünde yüksek SOFA ve l μ g/ml'nin üzerinde D-dimer değerlerinin mortalite etkili olduğu, ölen ve yaşayan hastalar arasında tedavide antibiyotik ve antiviral kullanımları açısından fark olmadığı, ancak ölen hastalarda kortikosteroid, intravenöz immunglobülin, high flow, invaziv, noninvaziv mekanik ventilasyon ve ekstrakorporeal membran oksijenasyonu kullanımlarının fazla olduğu bildirilmiştir (22).

SONUÇ

Tanıda altın standart olarak belirtilen nazal sürüntülerin yanlış negatifliklerinin olması nedeniyle tek başına tanı konulmasında güvenilir olmayabileceği, tanıda hata olasılığını azaltmak için aynı hastadan birden fazla vücut örneklemelerinin test edilmesinin yararlı olabileceğini düşünmekteyiz. Aynı zamanda erken

tanının, mortalitede etkili faktörlerin ve tedavi etkinliğinin bilinmesinin mortaliteyi azaltmada etkili olabileceği ve mortalitede en önemli risk faktörünün de olguların entübe olması ve mekanik ventilatöre bağlanması olduğu kanısına da varıldı.

Limitasyonlar

Çalışmamızdaki sonuçlarımız sunulmuştur, fakat bazı kısıtlama sınırlamalarımız vardır. Birincisi; çalışmamıza sadece acilden YBÜ'ye kabul edilen hastalar dahil edilmesine rağmen büyük ve yoğun hasta popülasyonuna sahip bir merkez olmamız nedeniyle hastaların anında YBÜ'lere transfer edilememesi, ancak bu sürenin hiçbirinde 12 saati geçmiş olmaması, hastaların tedavilerinin çeşitli aşamalarında olması, bazen bazı destek tedavilerinde eksiklik olabileceğidir. İkinci olarak ise her hastadan almayı planladığımız numunelerden hastaların anürik olması, derin trakeal aspirasyonu tolere edememesi, nazogastrik sonda takılamamış olması gibi birtakım nedenlerden dolayı numunelerinin toplanmasında eksiklikler meydana gelmesidir.

Etik Kurul Onayı: Sağlık Bilimleri Üniversitesi Rektörlüğünden 11.06.2020 tarihli ve E-2020-514/179/5. sayılı etik kurul onayı alınmıştır.

Hasta onamı: Çalışmamız retrospektif olarak yapılmıştır.

Çıkar Çatışması: Herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır

Finansal Destek: Çalışma için finansal destek kullanılmamıştır.

Arastirmacilarin Katki Orani: Tüm yazarlar makalenin tüm aşamalarına katkıda bulunmuş, son halini okumuş ve onaylamıştır.

KAYNAKLAR

- 1) World Health Organization, Summary table of SARS cases by country, 1 November 2002 - 7 August 2003. Weekly Epidemiological Record = Relevé épidémiologique hebdomadaire, 78 (35), 310 - 311. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/232250>.
- 2) World Health Organization, MERS situation update, January 2020. <https://www.emro.who.int/pandemic-epidemic-diseases/mers-cov/index.html>
- 3) Xu, Y, Li X, Zhu B, Liang H, Fang C, Gong Y, et al. Characteristics of pediatric SARS- CoV-2

infection and potential evidence for persistent fecal viral shedding. *Nat. Med.* 2020;26(4):502-505.

4) Li Q, Guan X, Wu P, Wang X, Zhou L, Tong Y, et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected pneumonia. *N Engl J Med.* 2020;382(13):1199-1207.

5) Böger B, Fachi MM, Vilhena RO, Cobre AF, Tonin FS, Pontarolo R Systematic review with meta-analysis of the accuracy of diagnostic tests for COVID-19. *Am J Infect Control.* 2020; 49(1): 21-29.

6) Yang Y, Yang M, Shen C, Fang W, Yuan J, Li J, et al. Evaluating the accuracy of different respiratory specimens in the laboratory diagnosis and monitoring the viral shedding of 2019-nCoV infections. *medRxiv2020: 2020.02.11.20021493.*

7) Jin YH, Cai L, Cheng ZS, Cheng H, Deng T, Fan YP, et al. A rapid advice guideline for the diagnosis and treatment of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infected pneumonia (standard version). *Mil Med Res.* 2020; 7(1):1-23.

8) Ai T, Yang Z, Hou H, Zhan C, Chen C, Lv Wet al. (2020) Correlation of chest CT and RT-PCR testing in coronavirus disease 2019 (COVID-19) in China: A report of 1014 cases. *Radiology.* 2020;296(2):E32-E40.

9) Wang Y, Kang Y, Liu X, Tong Z. Combination of RT-qPCR testing and clinical features for diagnosis of COVID-19 facilitates management of SARS-CoV-2 outbreak. *J Med Virol.* 2020; 92(6):538-539.

10) Lippi G, Simundic AM, Plebani M. Potential preanalytical and analytical vulnerabilities in the laboratory diagnosis of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Clin Chem Lab Med.* 2020;58(7): 1070-1076

11) Vigneshwar N, Krause M, Bartels K. Positive tracheal SARS-CoV-2 RNA test after three negative SARS-CoV-2 RNA tests in a patient with COVID-19. *Can J Anaesth.* 2020;67(2):1663-1664.

12) Chen L, Lou J, Bai Y, Wang M. COVID-19 Disease With Positive Fecal and Negative Pharyngeal and Sputum Viral Tests. *Am J Gastroenterol.* 2020;115(5):790.

13) Zhang H, Kang Z, Gong H, Xu D, Wang J, Li Z, et al. The digestive system is a potential route of 2019-nCoV infection: a bioinformatics analysis based on single-cell transcriptomes. *Gut.*

2020;69(3):1010-1018.

14) Zhang W, Du RH, Li B, Zheng XS, Yang XL, Hu B, et al. Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes. *Emerging Microbes Infect.* 2020;9(1):386-389.

15) Zhang, JC, Wang SB, Xue DY. Fecal specimen diagnosis 2019 novel coronavirus–infected pneumonia. *J Med Virol.* 2020; 92(6):680-682.

16) Inui S, Fukikawa A, Jitsu M, Kunishima N, Watanabe S, Suzuki Y, et al. Chest CT findings in cases from the cruise ship “Diamond Princess” with coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Radiology: Cardiothoracic Imaging.* 2020; 2(2):1-3.

17) Lovato A, Filippis C. Clinical Presentation of COVID-19: A Systematic Review Focusing on Upper Airway Symptoms. *Ear, Nose & Throat Journal.* 2020;99(9):569-576.

18) Arentz M, Yim E, Klaff L, Lokhandwala S, Riedo F, Chong M, et al. Characteristics and outcomes of 21 critically ill patients with COVID-19 in Washington State. *JAMA.* 2020;323(16):1612-1614.

19) Grasselli G, Greco M, Zanella A, Albano G, Antonelli M, Bellani G, et a. Risk factors associated with mortality among patients with COVID-19 in intensive care units in Lombardy, Italy. *JAMA Intern Med.* 2020;180(10):1345-1355.

20) Wu C, Chen X, Cai Y, Xia J, Zhou X, Xu S, et al. Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med.* 2020; 180(7):934-943.

21) Armstrong RA, Kane AD, Cook TM. Outcomes from intensive care in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Anesthesia.* 2020;75(10):1340-1349.

22) Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult in patients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *The Lancet.* 2020;395(3):1054-1062.