

کووید-۱۹

سرولوژی
(ایمنی، ارزیابی اثربخشی واکسن و تشخیص
سر می)
مرتضی ایزدیار

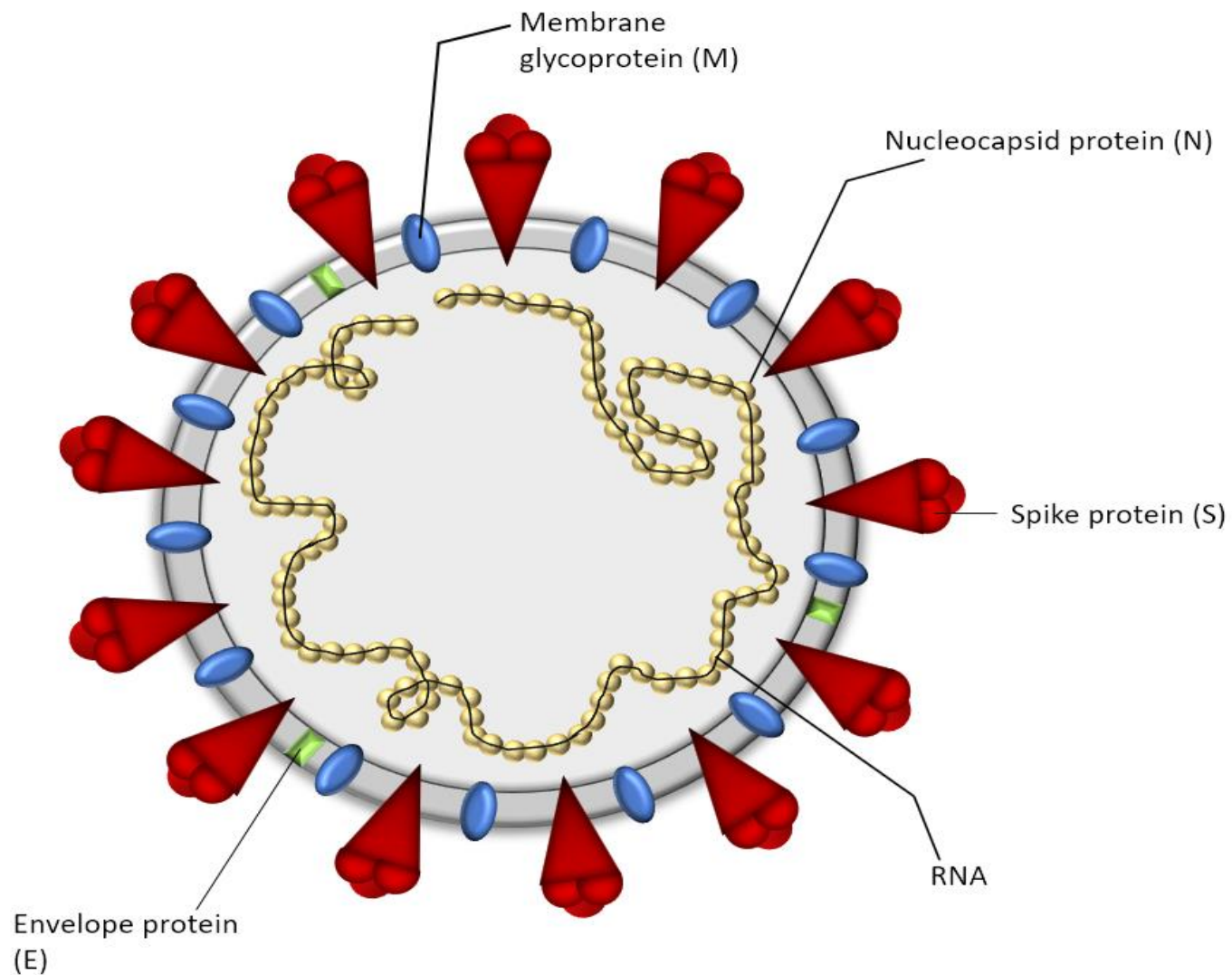
طبقه بندی و واژه شناسی

- کروناویروس اشاره به خانواده ویروس دارد.
- کروناویروس ها ویروس های پوشش دار واجد RNA تک رشته ای پلاریده مثبت .
(enveloped, positive sense single-stranded RNA viruses)
- ساخت پروتئین های غیر ساختاری (NSPs) مستقیماً از RNA- ساخت پروتئین های ساختاری با واسطه RNA سابژنومیک
- در خانواده کروناویروس ها ۴ جنس (آلفا، بتا، گاما ، دلتا کروناویروس ها قرار دارند)
- فقط جنس های آلفا و بتا قادر به آلوده کردن انسان می باشند.
- آلفا کروناویروس ها (229E و NL63) و بتا کروناویروس ها (OC43 و HKU1) عامل سرما خوردگی هستند.
- سه ویروس SARS-CoV، MERS-CoV و SARS-CoV-2 به ترتیب با میزان مرگ و میر ۳۷٪، ۱۰٪ و ۵٪ جزو ویروس های مرگبار خانواده بتا هستند.

طبقه بندی و تاریخچه

- SARS-CoV-2 به نام ویروس اشاره دارد:
- Severe Acute Respiratory Syndrome- Coronavirus type 2
- کووید-۱۹ اشاره به نام بیماری دارد.
- Coronavirus Disease year 2019
- بیماری در اوایل دسامبر ۲۰۱۹ در شهر ووهان از استان هوبی در مرکز چین پدیدار شد.
- بیماری های منتقله از کروناویروس ها منشأ حیوانی دارند.
- منشأ آن به خوبی مشخص نیست ولی به نظر می رسد با فروش حیوانات دریایی در بازار تره بار پیوستگی دارد ($R_0=0.24$) و ویروس پس از انتقال به انسان، توانایی انتقال از انسان به انسان را یافت ($R_0=2.5$)
- در ۱۱ مارس ۲۰۲۰ (۲۱ اسفند ۱۳۹۸) بدنبال سرعت بالای سرایت بیماری در کشتی تفریحی کروز در ژاپن، همایش گروه های مذهبی در کره جنوبی، پیست های اسکی ایتالیا و استرالیا و شهری مذهبی در ایران (قم) WHO این بیماری را پاندمی اعلام نمود.

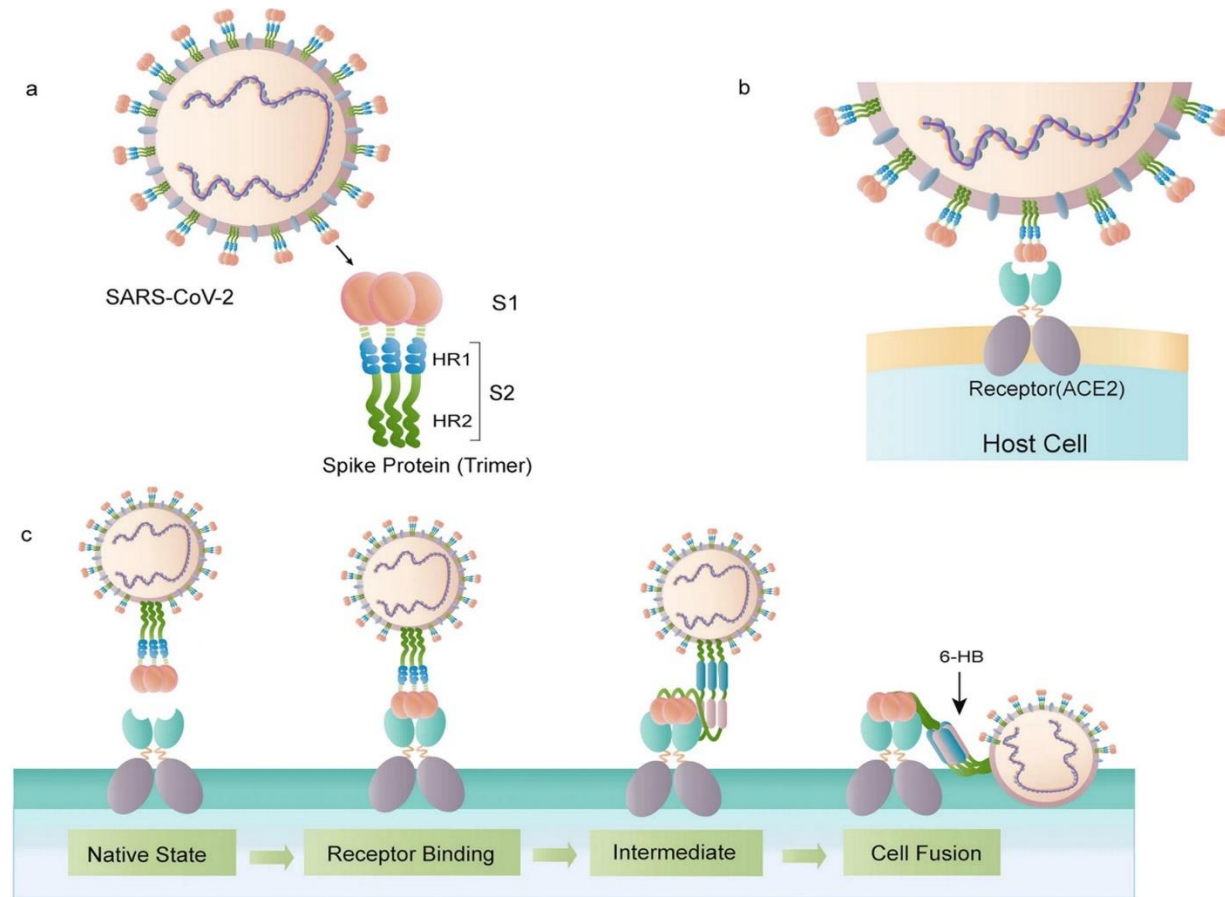
ساختار ویروس SARS-CoV-2



پروتئین‌های ساختاری

- ▶ ویروس SARS-CoV-2 دارای ۴ پروتئین ساختاری است
- ▶ پروتئین E که در پاتوژنز و اسمبل ویروس نقش دارد.
- ▶ خاموش کردن ژن E در ویروس SARS-CoV باعث از بین رفتن کشندگی ویروس در خوکچه هندی می‌گردد.
- ▶ پروتئین M که در شکل دهی به ویروس، اسمبل و پاتوژنز نقش دارد.
- ▶ پروتئین نوکلئو کپسید (N) که به RNA ویروس متصل و در همانندسازی نقش دارد.
- ▶ پروتئین اسپایک (S) که گلیکوزیله است و عامل ورود ویروس به سلول میزبان است.
- ▶ دایمر هماگلوتنین استراز (HE)؟؟؟؟ به نظر می‌رسد خاموش شدن ژن این پروتئین از جمله تفاوت‌های SARS-CoV-2 با سایر بتاکروناویروس‌هاست

ساختمان گلیکوپروتئین S



ساختمان گلیکوپروتئین S – ادامه

- ▶ گلیکوپروتئین S به صورت هموتریمر از سطح ویروس به بیرون امتداد یافته است (منظره گل میخکی).
- ▶ هر ساب یونیت از دو مونومر S1 و S2 تشکیل شده است
- ▶ ساب یونیت S1 که ناحیه RBD از این ساب یونیت مسؤل اتصال ویروس به سلول میزبان از طریق پذیرنده ACE2 است. تفاوت انتشار ACE2 در نسوج مختلف تعیین کننده تروپیسم نسجی ویروس است.
- ▶ علاوه بر ACE2 پذیرنده‌هایی دیگری نیز به عنوان رسپتور همیار (Co-receptor) شناسایی شده است (C-type Lectin، PS-receptor و).
- ▶ پس از اتصال موقت ویروس به سلول میزبان پروتئازهای غشایی حد فاصل S1-S2 را برش داده و باعث پدیدار شدن دومن جدیدی به نام S' می گردد.
- ▶ ساب یونیت S2 مسؤل ممزوج شدن ویروس با سلول میزبان است.
- ▶ پروتئین S به دو شکل فضایی باز و بسته و وجود دارد که در شکل بسته میزان دسترسی RBD به ACE2 کم است و وابسته به پروتئازهای غشایی است، اما در شکل باز چندین اتصال بین RBD و ACE2 برقرار می شود و از وابستگی ویروس به پروتئازهای غشایی کاسته می شود.
- ▶ ساب یونیت S2 در تمامی بتاکروناویروس ها ساختمان یکسانی دارد.
- ▶ درواریانت اومیکرون نسبت به سوشی ووهان ۶۰ موتاسیون رخ داده که ۱۵ تای آن در ناحیه RBD صورت گرفته است

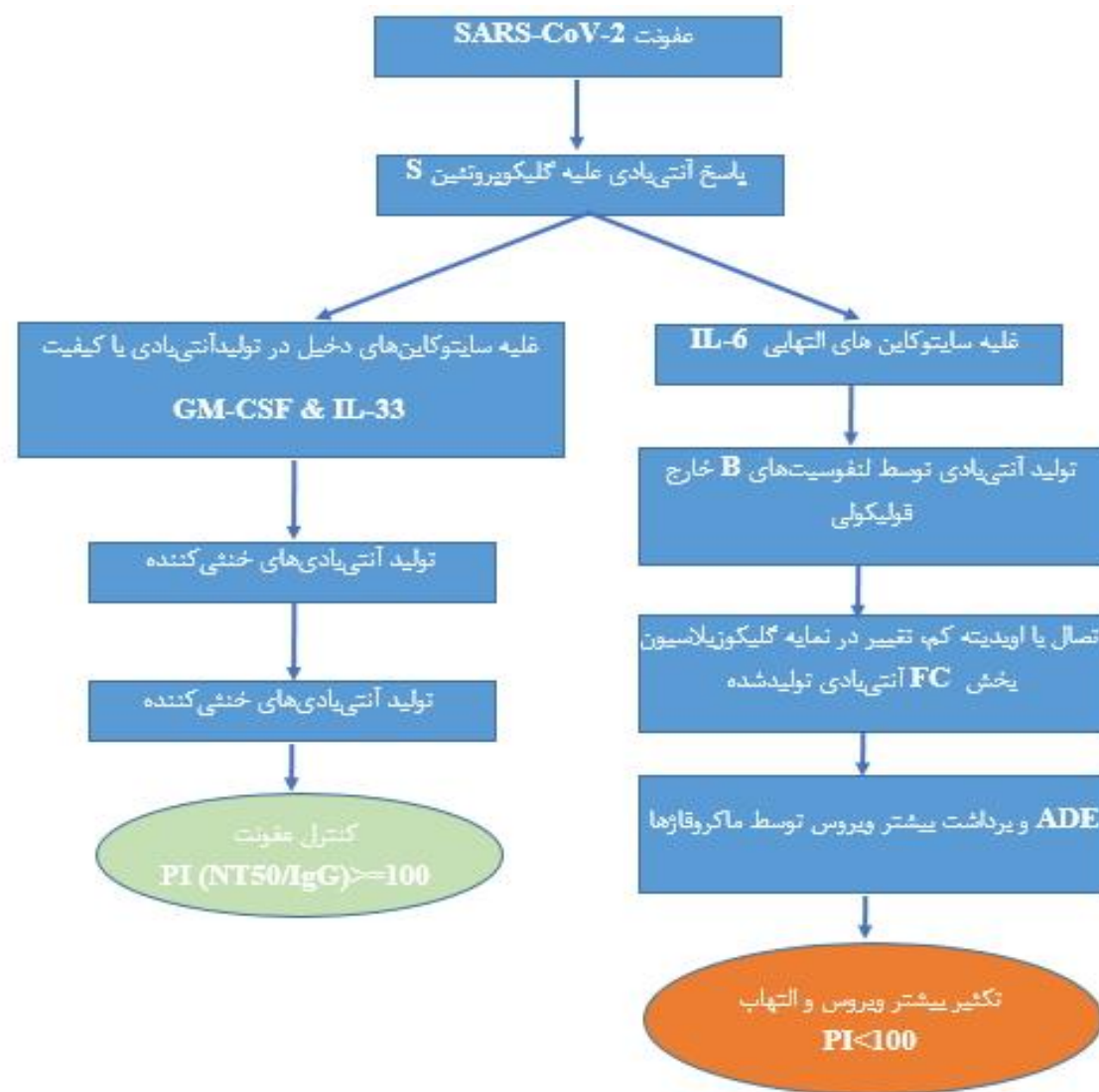
N نوکلئوکپسید

- ▶ از نظر عملکردی باعث بسته بندی RNA ویروس در ریبونوکلئوکپسید می گردد.
- ▶ ساختاری حفاظت شده نزد کروناویروس ها دارد پروتئین N SARS-CoV-2 تشابه حدود ۹۰ درصدی با همین پروتئین در SARS-CoV دارد.
- ▶ در اولین کیت های تشخیصی سرولوژی از پروتئین N SARS-CoV استفاده شد.
- ▶ قبلاً تعیین توالی شده بود.
- ▶ تیتراژی از آنتی بادی علیه این پروتئین در بدن مبتلایان تشکیل می شود.
- ▶ آنتی بادی علیه پروتئین N خنثی کننده (نوترالیزان) نیست.

پاسخ ایمنی هومورال در کووید-۱۹

- ▶ تیتراژ آنتی بادی اختصاصی علیه SARS-CoV-2 با وخامت بیماری همبستگی دارد. (نوترالیزاسیون یا کمک به تکثیر بیشتر ویروس در بدن میزبان ADE؟)
- ▶ برخلاف آنفلونزا و سایر پاتوژن های تنفسی آنتی بادی غالب در کووید-۱۹ از کلاس IgG3 است
- ▶ ظهور IgM اختصاصی تقدم بسیار ناچیزی نسبت به IgG دارد و در بسیاری موارد همزمان تولید می شود.
- ▶ تیتراژ IgA و IgG در اشکال شدید بیماری (بستری بیمارستان) و در گذشتگان بیش از اشکال سرپایی و خفیفی است، در حالی که چنین تفاوتی در خصوص IgM چندان مشهود نیست.
- ▶ تولید IgM اختصاصی در مردان بیش از زنان است در حالی که چنین تفاوتی در خصوص IgG دیده نمی شود.
- ▶ القاء شدید و زودرس IL-6

پاسخ ایمنی در کووید-۱۹ Good Ab versus Bad Ab



کووید-۱۹ ، واکسیناسیون

▶ واکسنهای کووید-۱۹ به ۵ پلاتفرم طبقه بندی می شوند:

▶ وکتورهای ویروسی

▶ ویروس های غیرفعال شده

▶ واکسن های مبتنی بر اسید نوکلئیک

▶ ساب یونیت های پروتئینی نوترکیب

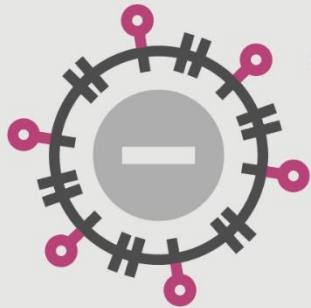
▶ ویروس های زنده ضعیف شده

واکسن‌های ویروس غیرفعال

Types of SARS-CoV-2 vaccines for COVID-19

Inactivated vaccines

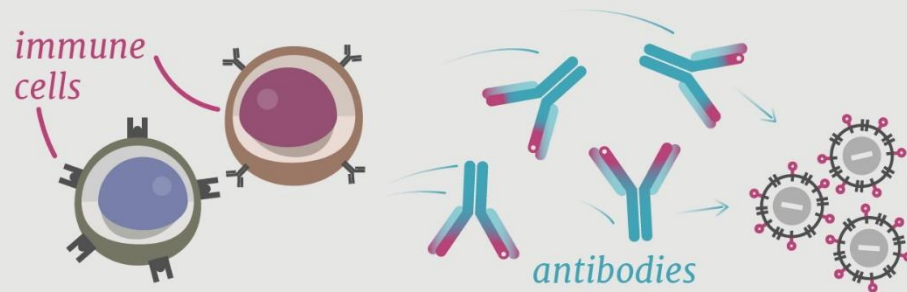
British Society for
immunology
www.immunology.org



Contain **killed SARS-CoV-2 virus**.

The killed virus is recognised by the immune system to trigger a response without causing illness.

This response builds immune memory, so your body can fight off SARS-CoV-2 in future.



Considerations

May need to be administered with an adjuvant to boost immune response.



Examples in human use for other disease

Influenza vaccine

Approved elsewhere in the world for COVID-19

Sinovac, Sinopharm, Bharat Biotech

In clinical trials for COVID-19

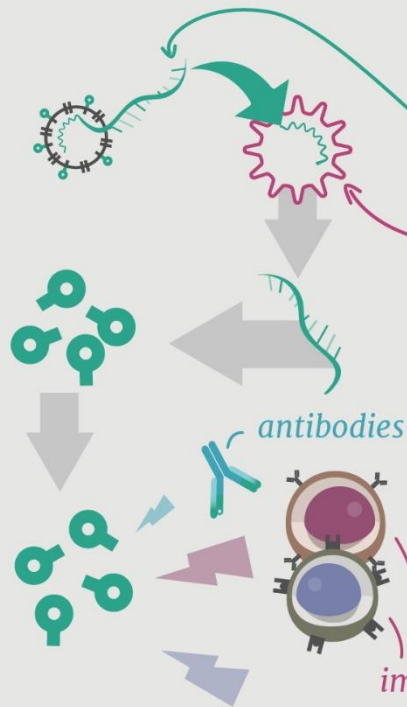
Shifa-Pharmed, Chinese Academy of Medical Sciences

وکتورهای ویروسی

Types of SARS-CoV-2 vaccines for COVID-19

Viral vector vaccines

British Society for
immunology
www.immunology.org



Use an unrelated harmless virus, modified to deliver **SARS-CoV-2 genetic material**. The delivery virus is known as a **viral vector**.

Our cells use the genetic material to make a specific SARS-CoV-2 protein, which is recognised by the immune system to trigger a response.

This response builds immune memory, so your body can fight off SARS-CoV-2 in future.

Considerations

Generate strong immune response.

May need to be stored at specific low temperatures.



Examples in human use for other diseases

Ebola vaccine

Approved in the UK for COVID-19

AstraZeneca/Oxford

Approved elsewhere in the world for COVID-19

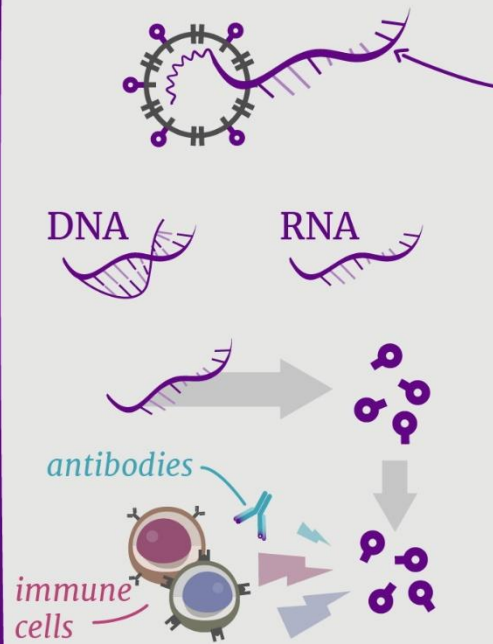
Janssen, CanSino, Gamaleya

واکسن‌های مبتنی بر اسید نوکلئیک

Types of SARS-CoV-2 vaccines for COVID-19

Genetic vaccines (nucleic acid vaccines)

British Society for
immunology
www.immunology.org



Contain a segment of **SARS-CoV-2 virus genetic material** that codes for a specific protein. Can be DNA or RNA.

Our cells use the genetic material to make the SARS-CoV-2 protein, which is recognised by the immune system to trigger a response.

This response builds immune memory, so your body can fight off SARS-CoV-2 in future.

Considerations

Low cost and fast to develop.

May need to be stored at specific low temperatures.



Approved in the UK for COVID-19

Pfizer/BioNTech & Moderna

In clinical trials for COVID-19

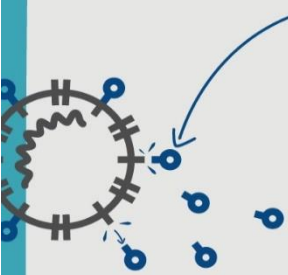
CureVac, Inovio Pharmaceuticals

ساب‌یونیت‌های پروتئینی نو ترکیب

Types of SARS-CoV-2 vaccines for COVID-19

Protein vaccines

British Society for immunology
www.immunology.org



Contain **proteins** from the SARS-CoV-2 virus, which are recognised by the immune system to trigger a response.

Can be whole proteins, protein fragments, or many protein molecules packed into nanoparticles.

This response builds immune memory, so your body can fight off SARS-CoV-2 in future.

Considerations

Have good previous safety records.

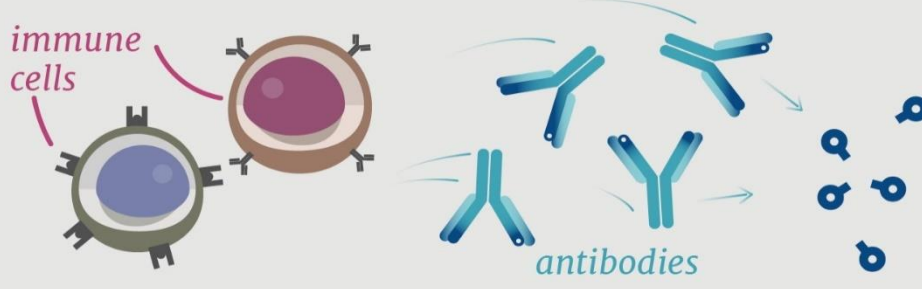
Usually administered with an adjuvant to boost immune response.

Examples in human use for other diseases

Hepatitis B vaccine

In clinical trials for COVID-19

Novavax, Sanofi/GSK



immune cells

antibodies

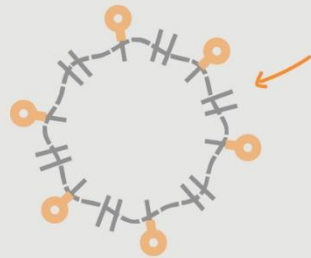
در ایران از این پلتفرم ، در حال حاضر دو واکسن
پاستوکوک (Soberana 02) و اسپایکوژن در حال استفاده می‌باشد

واکسن‌های ویروس زنده ضعیف شده

Types of SARS-CoV-2 vaccines for COVID-19

Attenuated vaccines

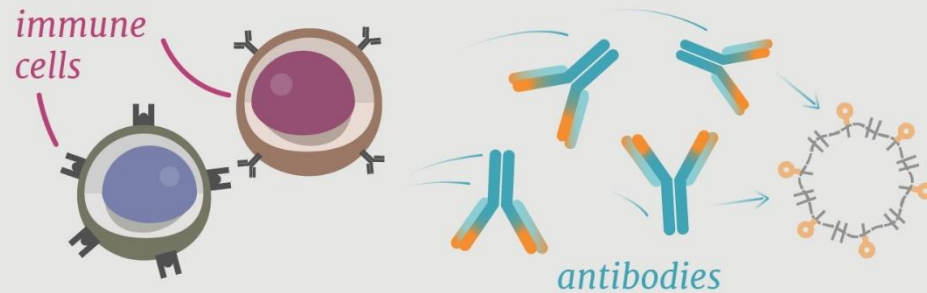
British Society for
immunology
www.immunology.org



Contain **weakened SARS-CoV-2 virus**.

The weakened virus is recognised by the immune system to trigger a response without causing illness.

This response builds immune memory, so your body can fight off SARS-CoV-2 in future.



Considerations



A well-known approach which requires time and extensive testing.

The immune response resembles the natural infection.

Examples in human use for other disease

Oral Polio vaccine

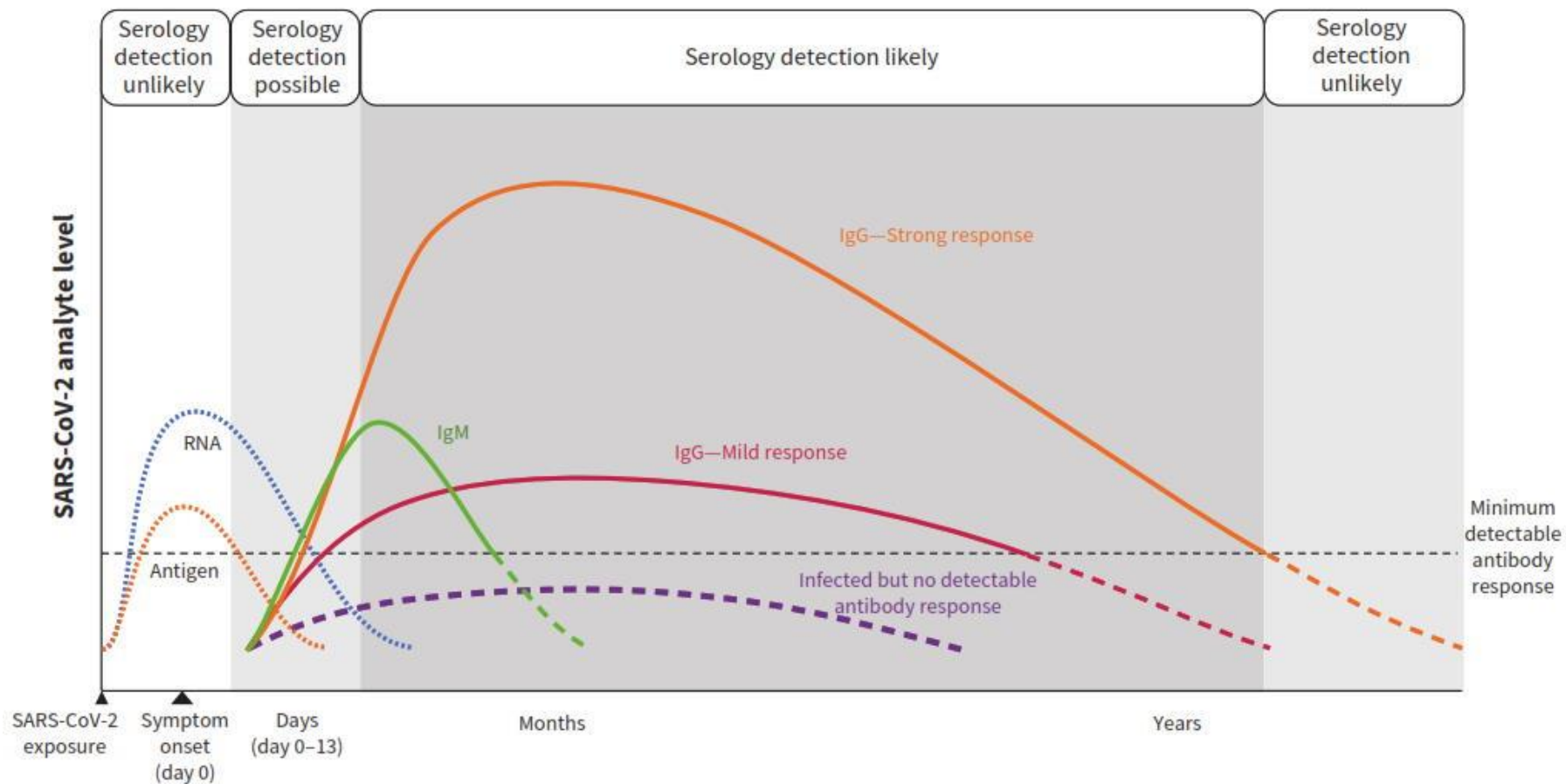
In clinical trials for COVID-19

Codagenix

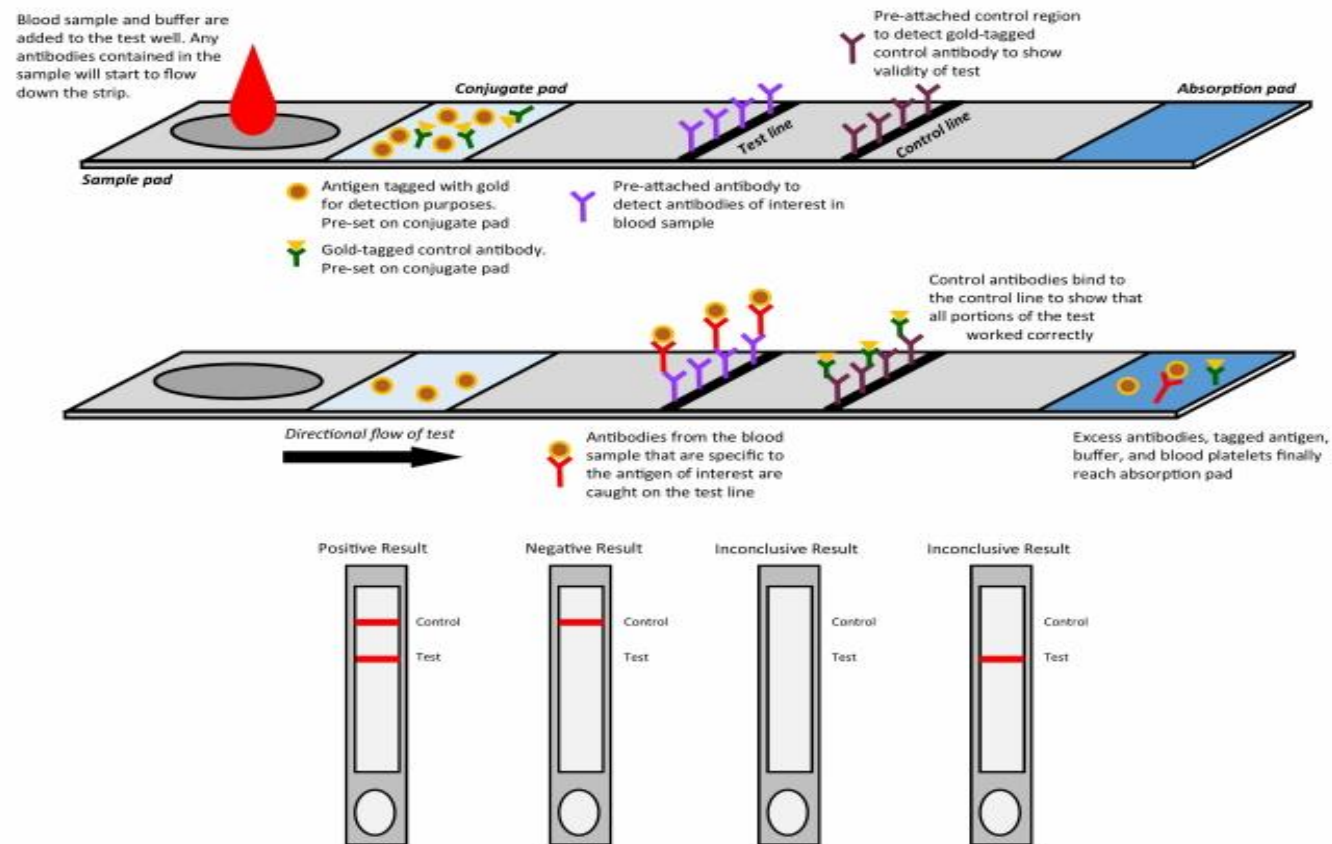
سرولوژی کووید ۱۹ – روش شناسی

- ▶ سنجش آنتی بادی از کلاس خاص (IgA، IgG و IgM)
- ▶ آنتی ژن هدف (rRBD، rS، rN)
- ▶ سنجش آنتی بادی تام (Roche- Target Antigen rN)
- ▶ اصول (الایزا – کمیومینسانس، الکتروکمیومینسانس)
- ▶ سنجش آنتی ژن در ترشحات تنفسی (تشخیص آنتی ژن N)
- ▶ روش های خنثی سازی ویروس جایگزین (rACE2 به عنوان آنتی ژن هدف)
- ▶ روش های ایمونواسی تشخیص پیش آگهی بیماری (IL-6) – استفاده از توسیلیزوماب (Tocilizumab)

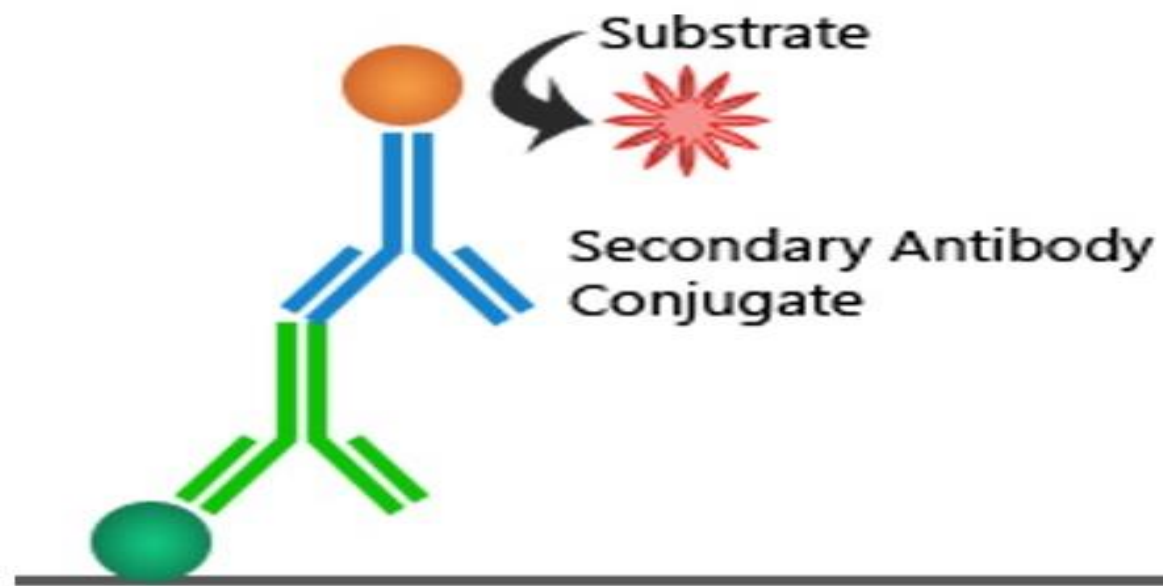
کینتیک روش‌ها براساس تشخیص Ag یا Ab



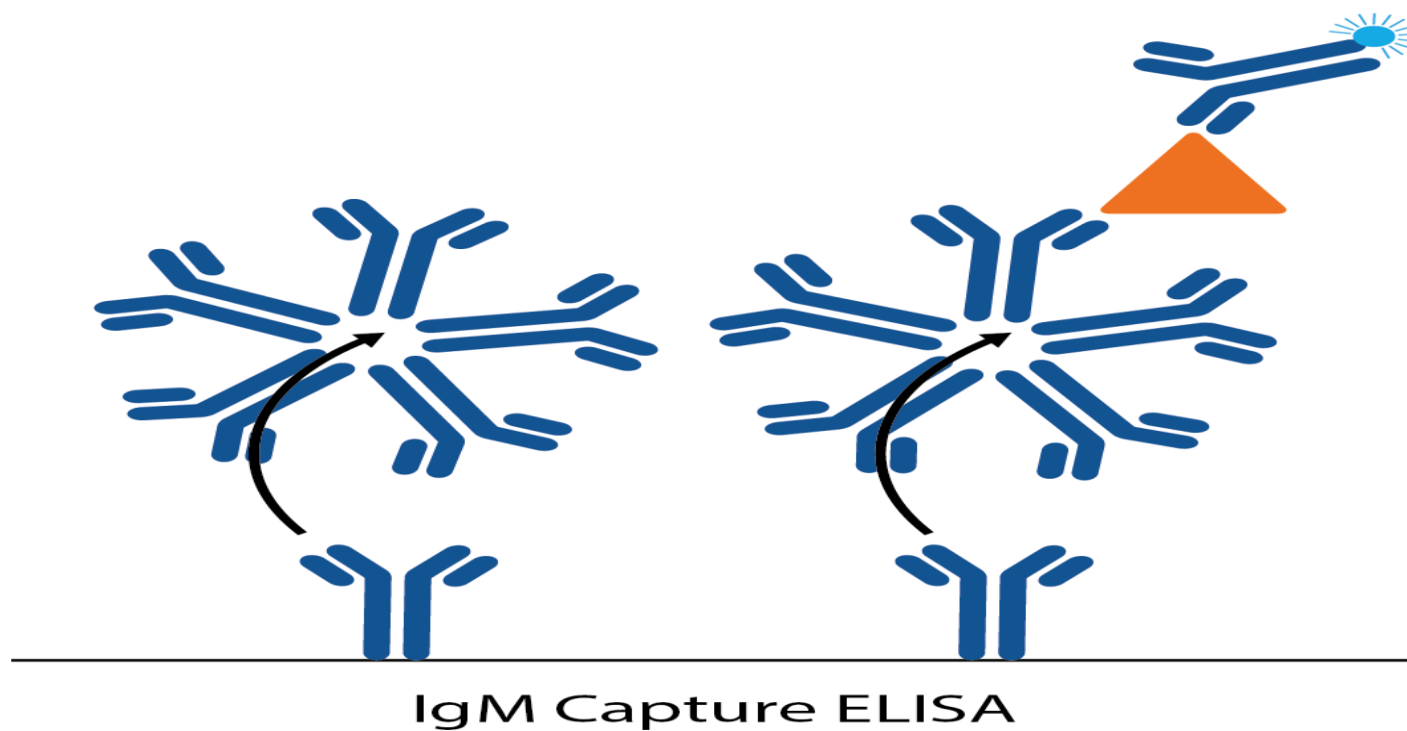
روش های ایمنونواسی – تست های سریع



روش های ایمنوواسی غیر مستقیم

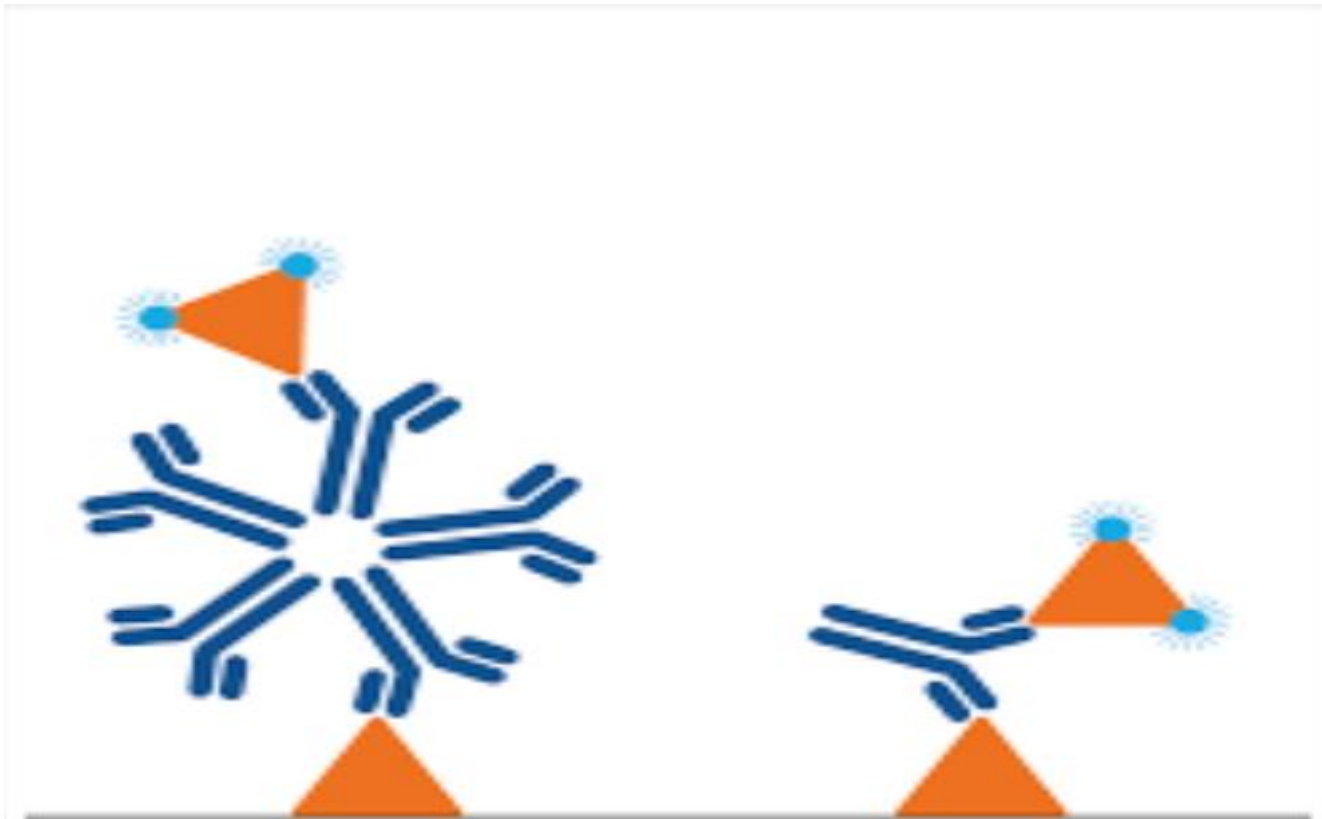


روش های ایمنونواسی – اصول ربایشی (Capture IgM)

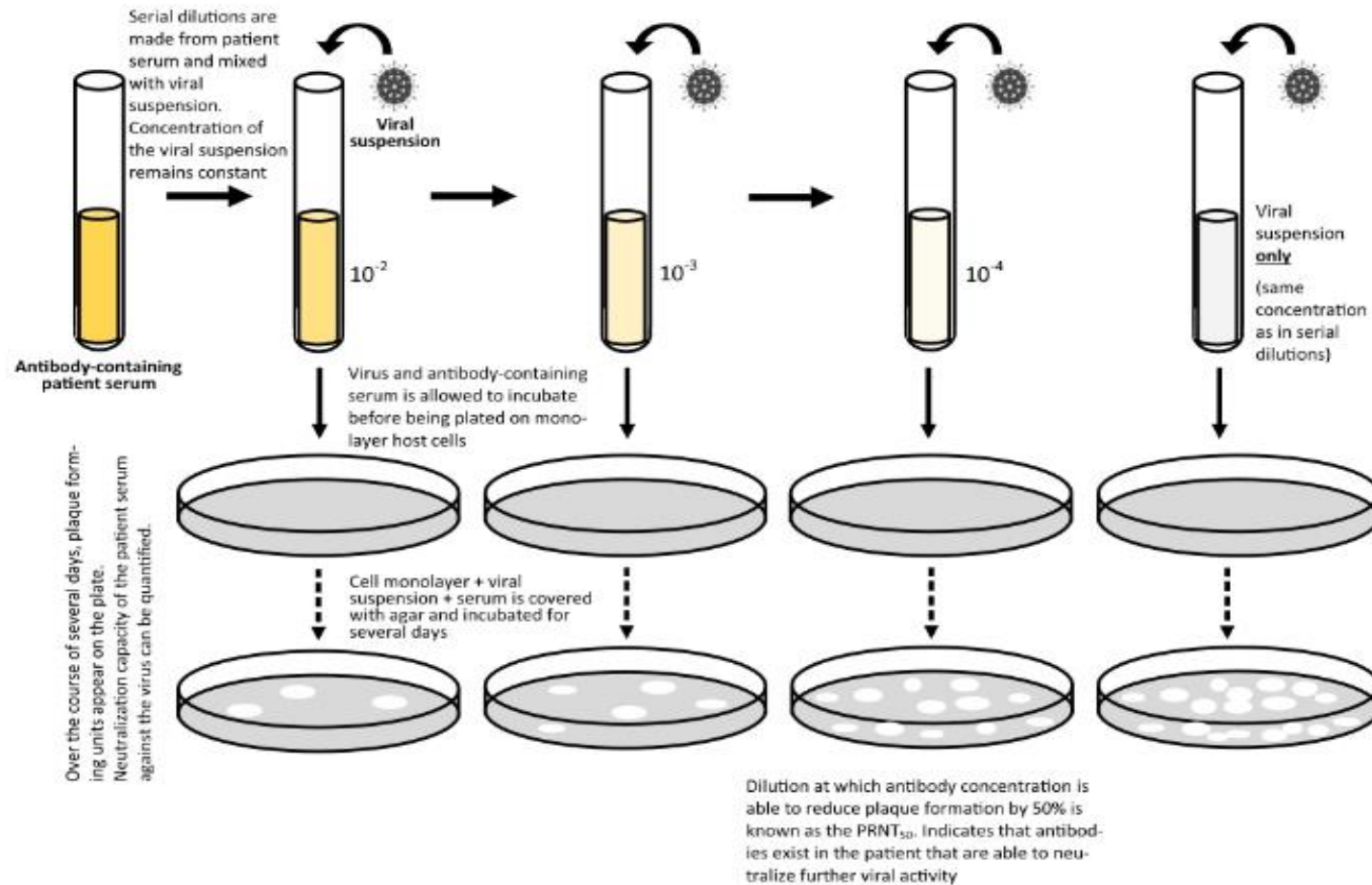


روش های ایمونواسی – اصول ساندویچ مضاعف

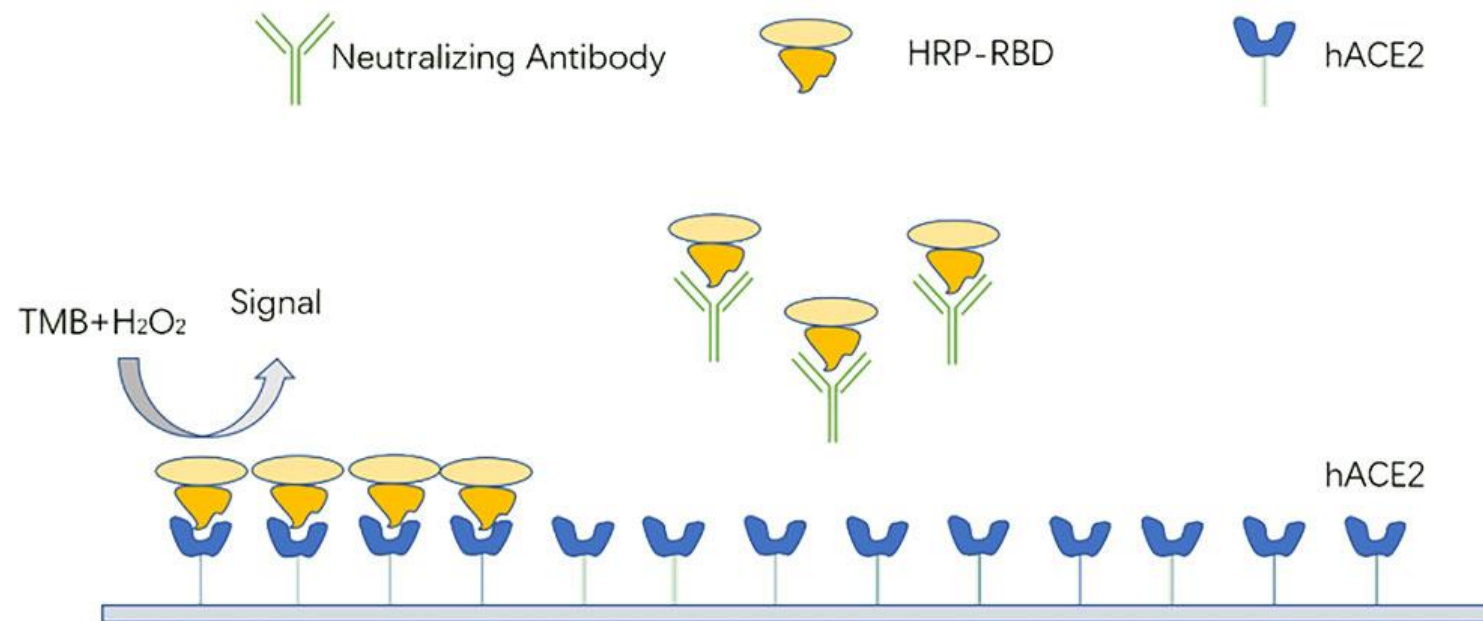
Double Sandwich principle



تستهای خنثی سازی (PRNTs)



روش های خنثی سازی جایگزین



سرو لوژی کووید-۱۹ (کاربرد صحیح)

- ▶ به عنوان آزمایش کمکی در افراد دارای علائم که آزمایش های مولکولی و وجود RNA ویروس را نشان نمی دهد (یک نتیجه مثبت IgM در صورت وجود علائم به احتمال زیاد بر وجود بیماری دلالت می کند).
- ▶ به عنوان آزمایش کمکی در افرادی که مستمراً نتایج آزمایش های مولکولی آنها در غیاب عامل عفونی مثبت است (Long-term effects of Covid-19)
- ▶ در افرادی که علائم بالینی نامتعارف دارند نظیر مثل سندروم های التهابی (بیماری التهابی مولتی سیستم در کودکان و بالغین، انگشتان کوویدی Covid toes و ترومبوز)
- ▶ بر آورد دقیق تر از شیوع بیماری
- ▶ شناسایی کاندید مناسب برای جمع آوری پلاسما برای کار آزمایشی بالینی
- ▶ بررسی انتشار جغرافیایی
- ▶ شناسایی مناطق شدت آلوده و افراد در معرض خطر
- ▶ تحلیل های منطقه ای و برنامه های مراقبتی (نیازمند روشی با اختصاصیت تشخیصی بالا >99%)
- ▶ بررسی اثربخشی واکسن

تشخیص سرولوژیک کووید ۱۹ – تصدیق یا صحه گذاری

- ▶ کیت های با هدف تشخیص برون بدنی (IVD) در مقابل کیت های با هدف پژوهشی (IUO)
- ▶ مشخصه های اجرایی روش های کمی در مقابل مشخصه های اجرایی روش های کیفی
- ▶ حساسیت تشخیصی (بالینی) در مقابل حساسیت آنالیتیک
- ▶ اختصاصیت تشخیصی (بالینی) در مقابل اختصاصیت آنالیتیک
- ▶ تعیین نقطه مرزی یا Cut-off
- ▶ ارزش پیش بینی منفی و مثبت (PVnegative & PVpositive)
- ▶ مجوز کاربرد اورژانسی (EUA)
- ▶ حداقل حساسیت تشخیصی ۹۰٪ و اختصاصیت تشخیصی ۹۵٪ برای اخذ EUA
- ▶ حداقل ۵۰ نمونه منفی و ۵۰ نمونه مثبت برای صحه گذاری حساسیت و اختصاصیت تشخیصی

EP12A- user protocol for Evaluation of Qualitative Test performance; Approved guideline

مشخصه های اجرایی و تعاریف در روش هایی با تفسیر کیفی

- ▶ حساسیت تشخیصی: درصد افراد مبتلا به حالت موردنظر که آزمایش آنها مثبت است
- ▶ ویژگی تشخیصی: درصد افراد بدون حالت موردنظر که آزمایش آنها منفی است.
- ▶ مثبت کاذب (FP): اخذ پاسخ مثبت برای فردی بدون حالت موردنظر
- ▶ منفی کاذب (FN): اخذ پاسخ منفی برای فردی مبتلا به حالت موردنظر
- ▶ استاندارد طلایی (Gold standard): واژه ای غیراختصاصی برای فرآیند یا ماده (مواد)ی که بهترین برآورد موجود از حقیقت را بیان می دارد.
- ▶ ارزش پیش بینی منفی (PVnegative): درصد افراد با پاسخ منفی بدون حالت موردنظر
- ▶ ارزش پیش بینی مثبت (PVpositive) درصد افراد مثبت واجد حالت موردنظر

Reference:

EP12A- user protocol for Evaluation of Qualitative Test performance; Approved guideline

تشخیص سرولوژیک کووید-۱۹- تصدیق یا صحه گذاری

- ▶ Diagnostic Sensitivity = $100 \times \frac{TP}{TP+FN}$
- ▶ Diagnostic Specificity = $100 \times \frac{TN}{TN+FP}$
- ▶ prevalence = $100 \times \frac{TP+FN}{TP+FP+TN+FN}$
- ▶ $\Rightarrow NPV = 100 \times \frac{TN}{TN+FN}$
- ▶ $\Rightarrow PPV = 100 \times \frac{TP}{TP+FP}$
- ▶ $Efficiency = \frac{TP+TN}{TP+TN+FP+FN}$

حداقل نمونه برای تصدیق حساسیت و اختصاصیت تشخیصی

The total number of specimens tested during the study depends on the evaluator's intended use of the method and the prevalence of the condition of interest. If, for instance, a total of 100 specimens are tested and the condition of interest prevalence in the laboratory sample population is 5%, approximately five specimens will have positive results, and about 95 specimens will have negative results. This might be an adequate sample size for evaluating the specificity, but it is not a sufficient number of specimens with positive results to evaluate sensitivity. The options available to the evaluator are to test specimens until the desired number of positive and negative results with the comparative method is obtained, or to test specimens until a desired number of specimens with positive results is obtained with the comparative method, using all accumulated specimens with negative results in the analysis. As a minimum guideline, testing should continue until results from at least 50 positive specimens are obtained with both the test and comparative method. At least 50 negative specimens are obtained using the comparative method to determine the specificity of the candidate method. If estimated sensitivity and specificity of the method are each approximately 90% when 50 negative and 50 positive specimens are tested, the confidence interval will be 78% to 97%—a spread of 19 percentage points. If a larger number of specimens is tested, the confidence interval will be narrower. If a wider confidence interval is acceptable, fewer samples can be tested.

اهمیت تعداد نمونه در اعتبار آماری نتایج

	روش مقایسه ای		
روش تحت بررسی	positive	negative	Total
Positive	19	0	19
Negative	1	20	21
Total	20	20	39
	محدوده اطمینان ۹۵٪		
خلاصه آماری	درصد	حد پایینی	حد بالایی
حساسیت تشخیصی	95.00%	75.13%	99.87%
ویژگی تشخیصی	100.00%	83.16%	100.00%

اهمیت تعداد نمونه در اعتبار آماری نتایج-ادامه

	روش مقایسه ای		
روش تحت بررسی	positive	negative	Total
Positive	49	0	49
Negative	1	50	51
Total	50	50	100
	محدوده اطمینان ۹۵٪		
خلاصه آماری	درصد	حد پایینی	حد بالایی
حساسیت تشخیصی	98.00%	89.35%	99.95%
ویژگی تشخیصی	100.00%	92.89%	100.00%

بهبود حساسیت تشخیصی

- ▶ راهبرد آزمایش موازی (Parallel testing): نتیجه هنگامی مثبت تلقی می‌شود که حداقل یکی از آزمایش‌ها مثبت شوند:
- ▶ دو آزمایش Covid-19 RT-PCR و Anti-SARS-CoV-2 IgM باعث افزایش حساسیت تشخیصی از 70% به 90% می‌شود.
- ▶ دو آزمایش PAP-smear و HPV-testing برای تشخیص Cervical cancer باعث افزایش حساسیت تشخیصی از 70% به 97% می‌گردد.
- ▶ مطابق این راهبرد پاسخ‌های منفی تست اول باید با تست دوم نیز منفی شود تا تست منفی حقیقی قلمداد گردد.
- ▶ راهبرد آزمایش موازی باعث بهبود ارزش پیش بینی منفی می‌گردد.

خصوصیات روش‌های کیفی – انتخاب روش

- ▶ بیشترین حساسیت تشخیصی: هنگامی که بیماری جدی، اما قابل درمان است و مثبت کاذب عواقب روحی – روانی یا اقتصادی وخیمی در پی ندارد. آزمایش تشخیص گلودرد چرکی استرپتوکوکی
- ▶ بیشترین اختصاصیت تشخیصی: هنگامی که بیماری جدی و غیر قابل درمان است و مثبت کاذب عواقب روحی، روانی یا اقتصادی در پی دارد. تست تأییدی آنتی‌بادی HIV
- ▶ بیشترین ارزش پیش‌بینی (PV) هنگامی که درمان نابجا عواقب ناگواری در پی دارد (سقط درمانی در مواقع تیر فراينده آنتی‌بادی علیه روبلا)
- ▶ بیشترین کارآمدی: هنگامی که بیماری جدی و قابل درمان است و پاسخ‌های مثبت و منفی کاذب هر دو عواقب ناگواری دارند (جستجوی آنتی‌ژن باکتریایی در CSF برای یافتن علت مننژیت)

پیش بینی مثبت و منفی – شیوع بیماری

▶ مثال ۱: درصد پیش بینی مثبت و منفی را برای روش سرولوژیک Total-Anti-SARS-CoV-2 با حساسیت تشخیصی ۹۵٪ و اختصاصیت ۹۸٪ را برای شهر D با شیوع ۱۰٪ بیماری بدست آورید:

$$1000 * 10\% = 100$$

$$TP = 100 * 95\% = 95 \Rightarrow FN = 100 - 95 = 5$$

$$Non - affected population = 1000 - 100 = 900$$

$$TN = 900 * 98\% = 882$$

$$FP = 900 - 882 = 18$$

$$PVnegative = 100 \times \frac{882}{882 + 5} \sim 99\%$$

$$PVpositive = 100 \times \frac{95}{95 + 18} \sim 84\%$$

نتیجه گیری: ارزش پیش بینی مثبت تابع اختصاصیت و ارزش پیش بینی منفی تابع حساسیت تشخیصی است.

پیش بینی مثبت و منفی – شیوع بیماری

▶ مثال ۲: متعاقب اثر بخشی یک برنامه کنترل بیماری، شیوع بیماری کووید-۱۹ در شهر A به 0.1% می رسد. در برنامه مراقبتی برای پایش گردش بیماری در جمعیت از یک کیت Anti-SARS-CoV-2 total IgG با حساسیت تشخیصی ۹۸٪ و اختصاصیت تشخیصی ۹۵٪ استفاده شده است. میزان ارزش پیش بینی مثبت و منفی را بدست آورید. آیا کیت یادشده برای هدف موردنظر مناسب می باشد؟

$$100000 * 0.1\% = 100$$

$$TP = 100 * 98\% = 98 \Rightarrow FN = 100 - 98 = 2$$

$$Non - affected population = 100000 - 100 = 99900$$

$$TN = 99900 * 95\% = 94905$$

$$FP = 99900 - 94905 = 4995$$

$$PVnegative = 100 \times \frac{94905}{94905 + 2} \sim 100\%$$

$$PVpositive = 100 \times \frac{98}{98 + 4995} \sim 1.92\%$$

$$Recalculated Prevalence = 100 \times \frac{98 + 4995}{100000} \sim 5.1\%$$

نتیجه گیری: برای برنامه های مراقبتی به روش هایی با اختصاصیت تشخیصی بسیار بالا (>99%) نیاز داریم و استفاده از روش هایی با اختصاصیت متوسط به بر آورد کاذب بیش از مقدار واقعی منجر می گردد.

بهبود ارزش پیش‌بینی مثبت

- ▶ هر چه شیوع بیماری بیشتر باشد، ارزش پیش‌بینی مثبت بهتر می‌شود.
- ▶ در مناطق با شیوع بیماری بالا کیت تشخیصی با اختصاصیت متوسط نیز PVpositive مطلوب را برای ما تأمین می‌کند.
- ▶ در مناطق با شیوع کم بیماری به روشی با اختصاصیت بسیار بالا نیازمندیم (>99%).
- ▶ راهبرد آزمایش متوالی (Serial testing) برای بهبود ویژگی تشخیصی و ارزش پیش‌بینی مثبت (A&B). در این راهبرد PVpositive آزمایش اول برای آزمایش دوم معادل شیوع محسوب میشود.
- ▶ آزمایش توأم Anti-rS-SARS-CoV-2 IgG و Anti-rN-SARS-CoV-2 IgG در یک برنامه مراقبتی

آزمایش متوالی

▶ مثال ۲: در یک برنامه مراقبتی در شهری که شیوع بیماری به 0.2% رسیده است، برای بررسی موارد مثبت در راهبرد آزمایش متوالی از دو گزینه روش (الف) Anti-SARS-CoV-IgG با فرمت ایمونواسی غیرمستقیم علیه آنتی ژن rN و روش (ب) Anti-SARS-CoV-2 با فرمت ساندویچ مضاعف علیه rS-RBD استفاده شده است. در صورتی که حساسیت و ویژگی تشخیصی روش (الف) به ترتیب ۹۲٪ و ۹۷٪ و روش (ب) به ترتیب ۱۰۰٪ و ۹۵/۵٪ باشد، ارزش پیش بینی مثبت را در دو حالت (۱) اول الف سپس ب و (۲) اول ب سپس الف محاسبه و نتیجه گیری نمایید:

▶ حالت اول:

- ▶ $Total\ Affected = 100000 \times 0.2\% = 200$
- ▶ $TP = 200 \times 92\% = 184 \Rightarrow FN = 200 - 184 = 16$
- ▶ $Total\ Not - affected = 100000 - 200 = 99800$
- ▶ $TN = 99800 \times 97\% = 96806$
- ▶ $FP = 99800 - 96806 = 2994$
- ▶ $PV_{positive} = \frac{184}{184+2994} \sim 5.8\%$

آزمایش متوالی – ادامه

- ▶ $Tottal Affected = 1000 \times 5.8\% = 58$
- ▶ $TP = 58 \times 100\% = 58 \Rightarrow FN = 0$
- ▶ $Tottal Not - affected = 1000 - 58 = 942$
- ▶ $TN = 942 \times 95.5\% \sim 900 \Rightarrow FP = 942 - 900 = 42$
- ▶ $Final PVpositive = \frac{58}{58+42} = 58\%$

▶ نتیجه گیری: راهبرد آزمایش متوالی باعث بهبود قابل توجه اختصاصیت و ارزش پیش بینی مثبت می گردد.

آزمایش متوالی – ادامه

▶ حالت دوم اول ب سپس الف

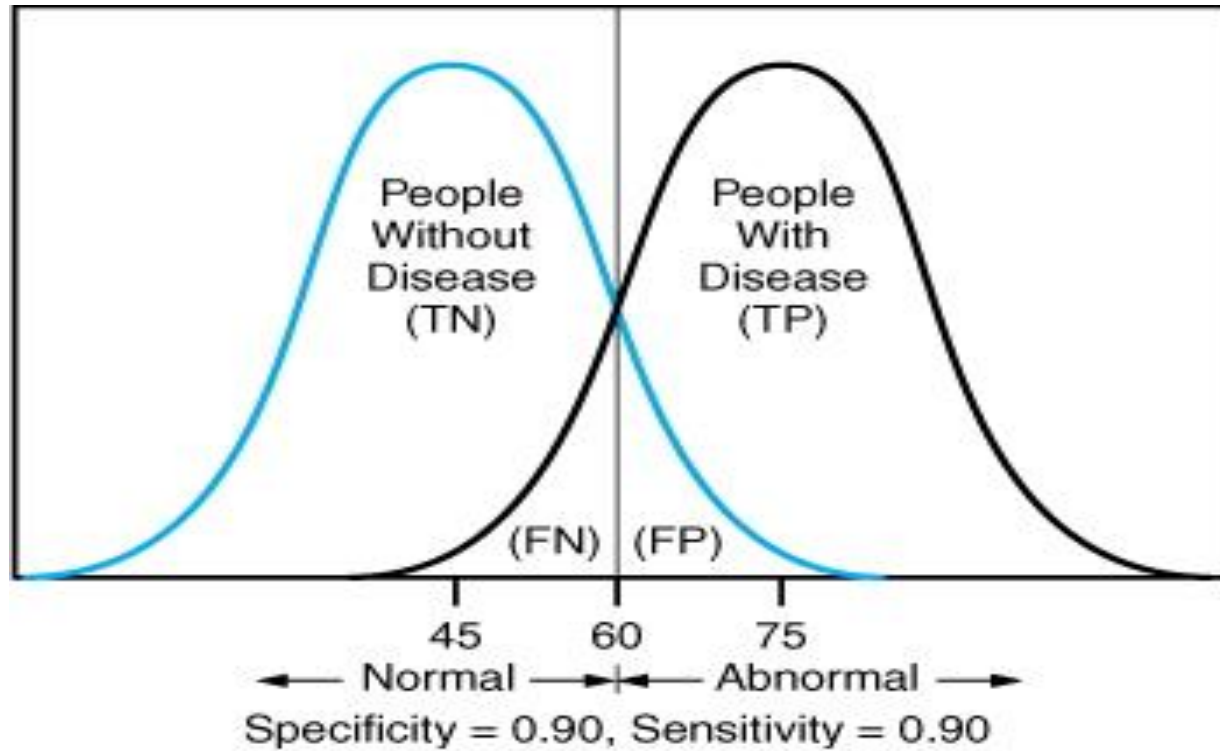
- ▶ $Tottal\ affected = 100000 \times 0.2\% = 200$
- ▶ $TP = 200 \times 100\% = 200 \Rightarrow FN = 0$
- ▶ $Tottal\ Not - affected = 100000 - 200 = 99800$
- ▶ $TN = 99800 \times 95.5\% = 95309 \Rightarrow FP = 99800 - 95309 = 4491$
- ▶ $PVpositive = \frac{TP}{TP+FP} = \frac{200}{200+4491} = 4.26\%$
- ▶ $Tottal\ affected = 10000 * 4.26\% = 426$
- ▶ $TP = 426 \times 92\% = 392 \Rightarrow FN = 426 - 392 = 34$
- ▶ $Total\ Not - affected = 10000 - 426 = 9574$
- ▶ $TN = 9574 \times 97\% \sim 9287 \Rightarrow FP = 9574 - 9287 = 287$
- ▶ $PVpositive = \frac{TP}{TP+FP} = \frac{392}{392+287} = 57.7\%$

آزمایش متوالی – ادامه

▶ نتیجه گیری:

در راهبرد آزمایش متوالی، توالی آزمایش ها در ارزش پیش بینی مثبت نهایی تأثیری ندارد. اما دو گزینه از نظر تعداد مواردی که نیاز به تست مجدد دارند، با یکدیگر تفاوت دارند و به دلیل صرفه جویی و کاهش هزینه ها گزینه ای انتخاب می شود که نیاز به آزمایش مجدد کمتری دارد، لذا از بین دو گزینه "الف سپس ب" و "ب سپس الف" ما گزینه ب سپس الف را انتخاب می کنیم (۴/۲۶ در مقایسه با ۵/۸ نفر).

Cut-Off تعیین



Sensitivity

specificity

محاسبه گرهای آنلاین

- ▶ 2x2 Contingency Calculator
- ▶ <http://tools.westgard.com/two-by-two-contingency.shtml>
- ▶ Medcalculator
- ▶ https://www.medcalc.org/calc/diagnostic_test.php

منابع

1. Ahmad Abu Turab Naqvi. (2020). Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach. BBA - Molecular Basis of Disease 1866 (2020) 165878
2. Aliye Bastug. Et al.(2020) Clinical and laboratory features of COVID-19: Predictors of severe prognosis. International Immunopharmacology 88 (2020) 106950
3. Can-rong Wu. Et al. Structure genomics of SARS-CoV-2 and its Omicron variant: drug design templates for COVID-19. Acta Pharmacologica Sinica (2022) 0:1-13; <https://doi.org/10.1038/s41401-021-00851-w>
4. CLSI. User protocol for evaluation of qualitative test performance; approved guideline.2nd ed. CLSI document EP 12-A2. Garrett P.E et al. Clinical and Laboratory Standard Institute, 2008.
5. Fatima Amanat. et al. (2020). A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans. medRxiv preprint doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.17.20037713>
6. Fei Zhou. et al. (2020). Clinical course and risk factors for mortality of adult in patients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. www.thelancet.com Published online March 9, 2020. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30566-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30566-3)
7. Hiroyuki Kogaki. et al (2005). Novel Rapid Immunochromatographic Test Based on an Enzyme Immunoassay for Detecting Nucleocapsid Antigen in SARS-Associated Coronavirus. Journal of Clinical Laboratory Analysis 19:150-159 (2005)
8. James O. Westgard, Sten A. Westgard. (2020). A Review of Predictive Value of Laboratory Tests. <https://www.westgard.com/predictive-value.htm>

9. Jason A. Tetro. (2020). Is COVID-19 receiving ADE from other coronaviruses? Microbes and infections. (2020). <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2020.02.006>
10. Jessica Watson. Et al. (2020). Interpreting a covid-19 test result. BMJ 2020;369:m1808 doi: 10.1136/bmj.m1808 (Published 12 May 2020)
11. Jin Yong Kim. (2020). Viral Load Kinetics of SARS-CoV-2 Infection in First Two Patients in Korea. J Korean Med Sci. 2020 Feb 24;35(7):e86
12. John Hopkins Bloomberg school of public Health. Serology based-tests for Covid-9.
13. John Hopkins Bloomberg school of public Health. Serology testing for Covid-19. Febraury 28, 2020
14. Juanjuan Zhao. et al. (2020). Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. medRxiv preprint doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.02.20030189>
15. Jun Lan. et al. (2020). Structure of SARS-CoV-2 Spike receptor binding domain bound to ACE2 Receptor. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2180-5>
16. Mackay I.A. et al. (2002). Real-time PCR in virology. Nucleic Acid Research. 2002. 30(6): 1292-1305
17. Marlin Touma. (2020). COVID-19: molecular diagnostics overview. Journal of Molecular Medicine. <https://doi.org/10.1007/s00109-020-01931-w>

18. Minzhe Shen. Et al. (2020). Recent advances and perspectives of nucleic acid detection for Coronavirus. Journal of Pharmaceutical Analysis 10 (2020) 97e101
19. Nisreen M.A. Okba. (2020). SARS-CoV-2 specific antibody responses in COVID-19 patients medRxiv preprint doi:<https://doi.org/10.1101/2020.03.18.20038059>
20. Wanbing Liu. Et al. (2020). Evaluation of Nucleocapsid and Spike Protein-Based EnzymeLinked Immunosorbent Assays for Detecting Antibodies against SARS-CoV-2. Jou Clin Microbiol (2020) 58(6) e00461-20
21. Wilfredo F. Garcia-Beltran. Et al. COVID-19-neutralizing antibodies predict disease severity and survival. Cell. 184(2021), 476-488.
22. Yosuke Hirotsu. Et al. (2020). Comparison of automated SARS-CoV-2 antigen test for COVID-19 infection with quantitative RT-PCR using 313 nasopharyngeal swabs, Including from seven serially followed patients. International Journal of Infectious Diseases 99 (2020) 397-402
23. Yuan Huang. Et al. Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential antiviral drug development for COVID-19. Acta Pharmacologica Sinica (2020) 41:1141-1149; <https://doi.org/10.1038/s41401-020-0485-4>