



T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**COVID-19 HASTALARINDA SARS COV-2 VİRÜS SAÇILIMI
VE
NÖTRALİZAN ANTİKOR DÜZEYLERİ**

TUĞBA AYHanci

UZMANLIK TEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. MUSTAFA ALTINDİŞ

2022-SAKARYA

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**COVID-19 HASTALARINDA SARS COV-2 VİRÜS SAÇILIMI
VE
NÖTRALİZAN ANTİKOR DÜZEYLERİ**

TUĞBA AYHANCİ
UZMANLIK TEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. MUSTAFA ALTINDİŞ

2022-SAKARYA

ONAY

Kurum : Sakarya Üniversitesi/Tıp Fakültesi

Program türü : Uzmanlık Tezi

ANabilim Dalı : Tıbbi Mikrobiyoloji

Tez Sahibi : Tuğba AYHanci

Sınav Tarihi : **Saat:**

Tez Başlığı : COVID-19 Hastalarında SARS CoV-2 Virüs Saçılımı ve Nötralizan Antikor Düzeyleri

Bu çalışma, içerik ve kalite bakımından Uzmanlık Tezi olarak Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

	Ünvan, Adı-Soyadı (Kurum adı)	İmza	Kabul/Red*
Danışman (Üye)			
Üye			
Üye			

* Red kararının gerekçesi onay dayfasının arkasında belirtilmelidir.

ONAY

“Bu tez .././202.. tarihinde yukarıdaki jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.”

.././202..
Tıp Fakültesi Dekanı

BEYAN

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

*Bu çalışma T.C. Sakarya Üniversitesi İlaç Dışı Gelişimsel Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 29/05/2020 tarihinde onay alınarak hazırlanmıştır.

*Bu çalışma, Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Komisyonu Başkanlığı tarafından 2020-7-25-101 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Tarih:/..../.....

Adı-Soyadı

İmza

TEŞEKKÜR



İÇİNDEKİLER

BEYAN	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMA VE SİMGELER LİSTESİ	vi
ŞEKİL LİSTESİ.....	viii
TABLO LİSTESİ.....	x
RESİM LİSTESİ	xii
ÖZET.....	xiii
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1.Tarihçe	3
2.2. Virolojik Özellikler	5
2.2.1. Köken ve sınıflandırma.....	5
2.2.2. Genomik yapı.....	6
2.2.3. Yapısal proteinler.....	6
2.2.4. Yapısal olmayan proteinler	8
2.2.5. SARS CoV-2 varyantları	9
2.3. Patogenez.....	11
2.3.1. Hücreye giriş.....	11
2.3.3 Bir araya gelme ve salınım	14
2.4. Bulaş.....	14
2.4.1. Solunum yolu ile bulaş	14
2.4.2. Fomitler yoluyla bulaş	15

2.4.3. Diğer bulaş yolları	16
2.5. Tanı.....	16
2.5.1. Klinik tanı	16
2.5.2. Radyolojik tanı.....	17
2.5.3. Laboratuvar tanısı	18
2.5.3.1. Örneklerinin işlenmesinde biyogüvenlik	18
2.5.3.2. Numunelerin toplanması	18
2.5.3.3. Virüsün izolasyonu	19
2.5.3.4. Viral RNA testleri	20
2.5.3.5. Serolojik testler	21
2.5.3.6. Antijen testleri.....	23
2.6. Tedavi ve Korunma	24
2.6.1. Küçük moleküllü ilaçlar.....	24
2.6.1.1. Virüsün konak hücrelerini enfekte etmesini engelleyen ilaçlar	24
2.6.1.2. Viral replikasyonla ilişkili proteinleri hedefleyen ilaçlar.....	25
2.6.2. Biyoteknolojik ilaçlar	28
2.6.2.1. İmmünomodülatörler	28
2.6.2.2. Monoklonal antikorlar.....	29
2.6.2.3. Konvelesan plazma	29
2.6.3. Aşılar.....	30
2.6.3.1. İnaktif aşılar	31
2.6.3.2. Canlı zayıflatılmış aşılar	31
2.6.3.3. Rekombinant protein aşıları	31
2.6.3.4. Vektör aşıları.....	32
2.6.3.5. DNA aşıları	33
2.6.3.6. RNA aşıları	33

3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	35
3.1. Etik Kurul Onayı	35
3.2. Çalışma Grubu.....	35
3.4. Nükleik Asit İzolasyonu	37
3.4.1. Solunum yolu örnekleri ve idrar örneklerinden nükleik asit izolasyonu.....	37
3.4.2. Dışkı örneklerinden nükleik asit izolasyon.....	37
3.4.3. Kan örneklerinden nükleik asit izolasyonu.....	38
3.5. SARS CoV-2 RT-PCR Analizi	38
3.6. SARS- CoV-2 IgG Antikor Tayini.....	39
3.7. Hücre Kültürü ile Nötralizan Antikor Tayini	39
3.8. Mikroelisa Yöntemi ile Temsili (Surrogate) Nötralizan Antikor Tayini.....	41
3.9. İstatistiksel Analizler	41
4. BULGULAR	43
4.1. TCH Grubu Hastaların Demografik Özellikleri	43
4.2. SCH Grubu Hastaların Demografik Özellikleri	46
4.3. SARS CoV-2 RT-PCR Bulguları	47
4.4. SARS- CoV-2 IgG Antikor Tayini Bulguları.....	54
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	66
6. KAYNAKLAR	86
ÖZGEÇMİŞ	105

KISALTMA VE SİMGELER LİSTESİ

ACE-2	İnsan anjiyotensin dönüştürücü enzim 2
BAL	Bronkoalveolar lavaj
BSL	Biyogüvenlik düzeyi
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CLIA	Kemilüminesans enzim immuno testler
CO ₂	Karbondioksit
CoV	Coronavirus
COVID-19	Koronavirus hastalığı-2019
CPE	Sitopatik etki
CRP	C-reaktif protein
CT	Cycle threshold
DM	Diabetes mellitus
DNA	Deoksiribonükleik asit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
FVP	Favipiravir
HCoV	Human Coronavirus
HT	Hipertansiyon
IFA	İmmünofloresans testleri
IL-6	İnterlökin 6
KOAH	Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
LFA	Lateral flow testleri
LYM	Lenfosit
MAb	Monoklonal antikor
MERS-CoV	Orta Doğu Solunum Sendromu Koronavirüsü
mRNA	Mesajcı RNA
NAAT	Nükleik asit amplifikasyon testi
NAb	Neutralizing antibody

NEU	Nötrofil
NF	Nazofarenks
NSP	Non structural protein
OF	Orofarenks
ORF	Açık okuma çerçevesi
PCT	Prokalsitonin
PLT	Platelet
RBD	Receptor binding domain
RNA	Ribonikleik asit
RT-PCR	Ters transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu
SARS	Şiddetli Akut Solunum Yolu Yetersizliği Sendromu
SARS CoV-2	Şiddetli Akut Solunum Sendromu Koronavirüs 2
SCH	Sağlık Çalışanı COVID-19 Hastası
sVNT	Temsili (surrogate) virüs nötralizasyon testi
TCH	Toplumdan COVID-19 Hastası
TMPRSS2	Transmembrane serine protease 2
VMB	Variants being monitoring
vNAT	Viral inaktivasyon ve izolasyon solüsyonu
VNT	Virüs nötralizasyon testi
VOC	Variants being concern
VOHC	Variant of high consequence
VOI	Variants being interest
WBC	Beyaz kan hücresi

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1. SARS CoV-2 genom yapısı. (Haque 2020'den uyarlanmıştır).....	6
Şekil 2.2. SARS CoV-2 virion yapısı (Synowiec ve ark., 2021'den uyarlanmıştır)....	8
Şekil 2.3. SARS CoV-2 replikasyon döngüsü (https://www.drozdogan.com/yeni-koronavirus-sars-cov-2-nasil-bulasir-ve-hastalik-yapar-son-bilimsel-gelismeler). ...	13
Şekil 2.4. SARS CoV-2 tanısında temel yöntemler ve etkin kullanılabileceği dönemler (Şirin ve ark, 2021).	23
Şekil 4.1. TCH ve SCH grubu hastalarda altta yatan hastalıkların dağılımı.	45
Şekil 4.2. Çeşitli klinik örneklerde SARS CoV-2 RT-PCR pozitiflik oranlarının dağılımı.	48
Şekil 4.3. SARS CoV-2 RT-PCR sonucu pozitif TCH grubu hastaların CT değerlerinin zamana göre değişimi.	54
Şekil 4.4. TCH ve SCH grubu hastaların anti SARS CoV-2 IgG antikor pozitifliklerinin zamana göre değişim grafiği.	55
Şekil 4.5. TCH grubu hastaların zamana göre anti SARS CoV-2 IgG düzeyleri.	57
Şekil 4.6. SCH grubu hastaların zamana göre anti SARS CoV-2 IgG düzeyleri.....	58
Şekil 4.7. TCH ve SCH grubu hastaların anti SARS CoV-2 IgG antikor düzeylerinin zamana göre değişimi.....	58
Şekil 4.8. TCH grubu hafif hastaların zamana göre SARS CoV-2 IgG düzeyleri.....	59
Şekil 4.9. TCH grubu ciddi hastaların zamana göre SARS CoV-2 IgG düzeyleri. ...	60
Şekil 4.10. Hafif ve ciddi klinik duruma sahip TCH grubu hastalarda anti SARS CoV-2 IgG antikor düzeylerinin zamana göre değişimi.	60
Şekil 4.11. SCH grubu aşı ve aşısız hastalarda anti SARS CoV-2 IgG antikor düzeylerinin zamana değişimi.....	61
Şekil 4.12. TCH grubu hastaların SARS CoV-2 NAb düzeylerinin zamana göre değişimi.	63
Şekil 4.13. TCH grubu hafif hastaların SARS CoV-2 NAb düzeylerinin zamana göre değişimi.	63
Şekil 4.14. TCH grubu ciddi hastaların SARS CoV-2 NAb düzeylerinin zamana göre değişimi.	64

Şekil 4.15. Hafif ve ciddi klinik duruma sahip TCH grubu hastaların NAb düzeylerinin zamana göre değişimi..... 64



TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1. Yapısal olmayan proteinler ve fonksiyonları.....	9
Tablo 2.2. SARS CoV-2 VOC olarak kabul edilmiş varyantlar.	11
Tablo 3.1. SARS CoV-2 RT-PCR reaksiyon koşulları.	39
Tablo 4.1. TCH ve SCH grubu hastalara ilişkin demografik özellikler ve klinik durumların dağılımı.....	44
Tablo 4.2. TCH grubu hastalara ilişkin demografik özelliklerin hasta klinik durumlarına göre dağılımı.....	45
Tablo 4.3. TCH grubu hastalara ilişkin biyokimyasal ve hematolojik parametrelerin klinik duruma göre dağılımı.....	46
Tablo 4.4. SCH grubu hastalarda klinik semptomların dağılımı.	47
Tablo 4.5. TCH grubunda çeşitli klinik örneklerde SARS CoV-2 RT-PCR bulguları.	49
Tablo 4.6. TCH grubunda klinik durumlar ve SARS CoV-2 RT-PCR pozitiflikleri. 51	
Tablo 4.7. SARS CoV-2 RT-PCR pozitif klinik örneklerin ortalama CT değerleri. . 53	
Tablo 4.8. TCH ve SCH grubu hastaların anti SARS CoV-2 IgG antikor pozitifliği dağılımı.	55
Tablo 4.9. TCH grubu hastalarda anti SARS CoV-2 IgG antikor pozitifliklerinin klinik durumlara göre dağılımı.....	56
Tablo 4.10. TCH ve SCH grubu hastalarda SARS CoV-2 antikor düzeylerinin dağılımı.	57
Tablo 4.11. TCH grubu hastaların anti SARS CoV-2 IgG antikor düzeylerinin klinik durumlara göre dağılımı.....	59
Tablo 4.12. SCH grubu hastalarda anti SARS CoV-2 IgG antikor düzeylerinin aşılma durumlarına göre dağılımı.....	61
Tablo 4.13. TCH grubu hastalarda NAb düzeylerinin klinik durumlara göre dağılımı.	62
Tablo 4.14. SCH grubu hastaların sNAb titrelerinin dağılımı.	65
Tablo 4.15. SCH grubu hastaların sNAb titrelerinin yaş ve cinsiyete göre dağılımı. 65	

Tablo 4.16. SCH grubu hastalarda sNAb düzeylerinin aşı olma durumlarına göre dağılımı.	65
---	----



RESİM LİSTESİ

Resim 3.1. Hücre kültüründe saptanan CPE'ler.....	33
---	----



ÖZET

GİRİŞ VE AMAÇ: Bu çalışmada COVID-19 hastalarından alınan çeşitli klinik örneklerde SARS CoV-2 RNA'sının varlığı, virüsün saçılım profili ve enfeksiyonu geçiren hastalarda anti SARS CoV-2 IgG ve nötralizan antikor yanıtlarının araştırılması amaçlanmıştır.

YÖNTEM: Çalışmaya toplumdan 47 COVID-19 hastası (TCH, Mayıs-Haziran 2020) ve 30 sağlık çalışanı COVID-19 hastası (SCH, Kasım-Aralık 2020) dahil edildi. SARS CoV-2 RNA'sının araştırılması için TCH grubundan 0, 3, 7, 14 ve 28. günlerde orofareks, nazofareks, balgam, kan, dışkı ve idrar örnekleri alındı. Anti SARS CoV-2 IgG ve nötralizan antikorların (NAb) belirlenmesi için TCH ve SCH grubundan ardışık günlerde serum örnekleri alındı. Virüsün RNA'sı; RT-PCR, anti SARS CoV-2 IgG antikor düzeyleri; ELISA, NAb düzeyleri; hücre kültürü ve temsili nötralizasyon testi yöntemleri ile belirlendi.

BULGULAR: SARS CoV-2, en yüksek oranda sırasıyla nazofareks (%100), dışkı (%65,8), balgam (%45,7), orofareks (%41,3), kan (%5,3) ve idrar (%2,2) örneklerinde saptanmıştır. Viral saçılımın solunum yolu örneklerinde 14 gün, dışkı örneklerinde 60 güne kadar devam ettiği gözlenmiş, kan örneklerinde 3. günden sonra virüs saptanmamıştır. Viral yükün solunum yolu örneklerinde tanı anında en yüksek düzeyde olduğu, dışkı örneklerinde 7. günde pik yaptığı görülmüştür. Dördüncü ayda TCH grubu hastaların tümünde IgG pozitifliği bulunmuş, SCH grubu hastaların sadece %82,1'inde seropozitiflik saptanmıştır. İlk ay sonunda TCH grubu hastaların tümünde (%100) NAb tespit edilmiştir. NAb titrelerinin 28. günde pik yaptığı ve sonrasında düşüş gösterdiği belirlenmiştir. SCH grubu hastaların %26,1'nin düşük, %47,8'inin orta, %26,1'nin yüksek titrede temsili NAb oluşturduğu belirlenmiştir.

SONUÇ: Sonuç olarak; balgam, dışkı, kan ve idrar gibi birçok örnekte SARS CoV-2 RNA'sı saptanmış, dışkı örneklerinde viral saçılımın aylarca devam edebildiği gözlenmiştir. Hastalarda büyük oranda 4. ayda anti SARS CoV-2 IgG antikor pozitifliği gözlenmiştir. Koruyucu antikor düzeylerinin hastalığın geçirildiği ilk ayda en yüksek düzeye ulaştığı belirlenmiştir. Bu bulgular, aşılama stratejileri ve pandemi ile mücadelede önemlidir. Ancak, virüs saçılım ve antikor titre çalışmaları için daha detaylı ve kapsamlı araştırmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Anti SARS CoV-2 IgG, COVID-19, NAb, RT-PCR, SARS CoV-2

ABSTRACT

SHEDDING OF SARS COV-2 VIRUS IN COVID-19 PATIENTS AND NEUTRALIZING ANTIBODY LEVELS

INTRODUCTION AND AIM: In this study, it was aimed to investigate the presence of SARS CoV-2 RNA in various clinical samples taken from COVID-19 patients, the shedding profile of the virus, and the anti-SARS CoV-2 IgG and neutralizing antibody responses in infected patients.

METHODS: 47 COVID-19 patients from the community (CCP, May-June 2020) and 30 healthcare worker COVID-19 patients (HCWP, November-December 2020) were included in the study. Oropharynx, nasopharynx, sputum, blood, stool and urine samples were taken from the CCP group on days 0, 3, 7, 14 and 28 to investigate SARS CoV-2 RNA. Serum samples were taken from CCP and HCWP groups on consecutive days for the determination of anti SARS CoV-2 IgG and neutralizing antibodies (NAb). RNA of the virus; RT-PCR, anti-SARS CoV-2 IgG antibody levels; ELISA, NAb levels; determined by cell culture and surrogate neutralization test methods.

RESULTS: SARS CoV-2 had the highest rates in the nasopharynx (100%), stool (65.8%), sputum (45.7%), oropharynx (41.3%), blood (5.3%), and urine, respectively. It was detected in (2.2%) samples. It was observed that viral shedding continued for 14 days in respiratory tract samples and up to 60 days in stool samples, and no virus was detected in blood samples after the 3rd day. It was observed that the viral load was at the highest level at the time of diagnosis in respiratory tract samples, and peaked on the 7th day in stool samples. At the fourth month, IgG positivity was found in all CCP group patients, and seropositivity was found in only 82.1% of HCWP group patients. At the end of the first month, NAb was detected in all (100%) patients in the CCP group. In CCP group patients, NAb titers peaked on the 28th day and then decreased. It was determined that 26.1% of the patients in the HCWP group had low, 47.8% moderate and 26.1% high titers of surrogate NAb.

CONCLUSION: As a result; SARS CoV-2 RNA was detected in many samples such as sputum, stool, blood and urine, and it was observed that viral shedding in stool samples could continue for months. Anti-SARS CoV-2 IgG antibody positivity was observed in most of the patients at the 4th month. It was determined that protective antibody levels reached the highest level in the first month of the disease. These findings are important in vaccination strategies and in the fight against the pandemic. However, more detailed and comprehensive studies are needed for virus scattering and antibody titer studies.

Keywords: Anti SARS CoV-2 IgG, COVID-19, NAb, RT-PCR, SARS CoV-2

1. GİRİŞ VE AMAÇ

SARS CoV-2, ilk olarak Aralık 2019'da Çin'in Hubei eyaleti Wuhan şehrinde ortaya çıkan yeni bir koronavirüstür. Uluslararası Virüs Taksonomi Komitesi SARS-CoV ile % 85 genom sekans homolojisi gösterdiğinden yeni virüse SARS CoV-2 ismini vermiştir (Zhu ve ark., 2020). SARS CoV-2'nin neden olduğu hastalık koronavirus hastalığı-2019 (COVID-19) olarak adlandırılmıştır. Virüs, Çin'de ortaya çıktıktan kısa bir süre sonra tüm dünyaya yayılmış ve 11 Mart 2020'de pandemi durumu ilan edilmiştir (<https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019> (Erişim Tarihi: 11.02.2020)). Halen devam eden pandemide 27.01.2022 tarihi itibari ile dünya genelinde 362 541 740 doğrulanmış vaka ve 5 627 080 ölüm, Türkiye genelinde 11 167 927 doğrulanmış vaka ve 86 487 ölüm bildirilmiştir (<https://coronavirus.jhu.edu/map.html> Erişim Tarihi: 27.01.2021).

SARS CoV-2'nin neden olduğu COVID-19, asemptomatikten hastalıktan kritik hastalığa kadar geniş bir spektrum göstermektedir. Hafif hastalık seyrinde ateş, öksürük devamında balgam üretimi ve yorgunluk en sık gözlenen semptomlar iken, virüsün varyantları nedeni ile belirli dönemlerde en sık gözlenen semptomlar arasında tat ve koku alma bozuklukları da eklenmiştir (Peeri ve ark., 2020). Solunum yetmezliği, ARDS, sepsis ve şok daha çok kritik hastalarda görülmektedir (Zhou ve ark., 2020). Hastaların yaklaşık olarak %80'i hafif, %15'i şiddetli, %5 ise kritik hastalık seyri geliştirmektedir. Genel olarak hafif hastalık seyri izleyen COVID-19'da fatalite oranı %0,3-14 olarak belirlenmiş ancak ciddi hastalarda bu oranın %49'lara kadar çıkabildiği saptanmıştır (Borges ve ark., 2021; Liu ve ark., 2020; Wu Z, 2020; Zhou ve ark., 2020).

Diğer RNA virüslerinde olduğu gibi SARS CoV-2 virüsü ortaya çıktıktan kısa bir süre sonra çok sayıda mutasyon geçirmiş ve ilk varyant Mayıs 2020'de Güney Afrika'da ortaya çıkmıştır. Ardından başka varyantların da ortaya çıkması ile birlikte adlandırmada oluşacak karışıklığın önlenmesi ve standart hale getirilmesi için Yunan alfabesi kullanılarak adlandırma yapılmıştır. Bulaştırıcılık düzeyi ve antikor

yanıtından kaçabilme yeteneğine sahip vaka kümelenmelerine neden olan varyantlar endişe verici varyantlar içinde değerlendirilmiştir. Şuana kadar alfa, beta, gama, delta ve omicron varyantı endişe verici varyantlar içinde değerlendirilmiştir. Salgının erken dönemlerinde ortaya çıkan alfa, beta ve gama varyantlarının günümüz itibarı ile dolaşımdaki sirkülasyonu azalmış, delta ve omicron varyantları baskın varyantlar haline gelmiştir. Salgın suşu ise neredeyse saptanamayacak düzeylerde (https://www.cdc.gov Erişim Tarihi: 05.01.2021). İki yıl önce başlayan COVID-19 pandemisi, virüsün varyantlarının da etkisi ile halen tüm dünyayı etkilemeye devam etmektedir. Pandemi ile mücadelede; COVID-19 hastalığının erken teşhisi, hastaların toplumdan izole edilmesi ve bulaşı önleyici tedbirleri uygulanması oldukça önemlidir. Dünya genelinde COVID-19'un laboratuvar tanısında kullanılan en yaygın yöntem halen SARS CoV-2 RT-PCR yöntemidir. SARS CoV-2 RT-PCR testinin duyarlılığı yaklaşık %70-72 ve özgüllüğü %98-99 düzeyindedir (Brihn ve ark., 2021). Çünkü örnek tipi, alınma zamanı (hastalığın evresi), kalitesi, saklama ve transfer koşulları bu testin sonucunu önemli oranda etkilemektedir. SARS CoV-2 RT-PCR testi için en sık ve en yaygın kullanılan örnek NF/OF kombine sürüntü örneğidir. Daha az sıklıkla NF, OF, nazofaringeal aspirat, orta konka/ön burun sürüntüsü örnekleri ile balgam, BAL ve trakeal aspirat gibi alt solunum yolu örnekleri de kullanılmaktadır (https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/guidelines-clinical-specimens.html Erişim 07.01.2022). Hastalığın seyri esnasında virüsün vücuttaki dinamiği ve saçılımı ile ilgili çok sayıda bilimsel çalışma yapılmıştır. Ancak ortaya çıkan varyantların dinamiğinde farklılıklar görülebildiğinden konu henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Ayrıca hastalığın geçirilmesi ve/veya aşından sonra SARS CoV-2'ye karşı oluşan antikor yanıtı, antikorun düzeyi ile kalıcılığının bilinmesi pandemiyi durdurmak ve uygun aşılama stratejilerinin belirlenmesi açısından son derece öneme sahiptir.

Bu çalışmada COVID-19 hastalığının geçirildiği dönem ve sonrasındaki süreçte çeşitli klinik örneklerdeki SARS CoV-2 RNA'sının varlığı, virüsün saçılım profili ile enfeksiyonu geçiren hastalarda anti SARS CoV-2 IgG ve nötralizan antikor düzeylerinin zamana göre değişiminin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Koronavirüsler (CoV'ler), hayvanlar ve insanlar arasında yaygın bulunan, birçok memeli ve kuş türünü enfekte eden geniş bir virüs ailesidir. 1931'de Beaudette ve Hudson tarafından tavuklardan izole edile İnfeksiyöz Bronşit Virusu (IBV) keşfedilen ilk koronavirüstür. Daha sonra 1940'larda Fare Hepatit Virusu (MHV) ve domuzlardan Transmissible Gastroenteritis Virusu (TGEV) olmak üzere, başlıca hindi, kedi, köpek ve ineklerden birçok hayvan koronavirüsü izole edilmiştir (Ye ve ark., 2020; V'kovski ve ark., 2020)

İnsan koronavirüslerinin (HCoV) tarihi, 1965 yılında Tyrrell ve Bynoe'in soğuk algınlığı bulunan bir hastadan alınmış nazofaringeal yıkantı sıvısından yeni bir CoV izole etmesi ile başlamıştır. Böylece, ilk kez in vitro ortamda HCoV izole edilmiştir. "B814" olarak adlandırılan bu virüsün kültür sıvısı gönüllü kişilere inoküle edilmiş ve önemli bir kısmında soğuk algınlığına neden olduğu gözlenmiştir. Hamre ve Procknow, 1966 yılında soğuk algınlığı geçiren tıp öğrencilerinin solunum yolu örneklerinden yaptıkları doku kültüründe "HCoV-229E" olarak adlandırdıkları yeni bir virüsü izole etmiştir. HCoV-OC43 de benzer teknikler ile 1967'de izole edilmiştir. Almeida ve Tyrrell, elektron mikroskobu çalışmaları ile izole edilen bu virüslerin benzer morfolojiye sahip olduklarını göstermiştir. (Tyrrell ve ark., 1975). Virüs morfolojilerinin "taç" benzeri yapılar oluşturması ile bu virus grubuna, Latince taç anlamına gelen "koronavirüs" ismi verilmiş ve benzer morfolojiye sahip bu virüsler yeni bir virüs cinsi olarak kabul edilmiştir (Gül, 2009).

Kasım 2002'de insanlarda hastalık oluşturduğu gözlenen başka bir koronavirüs izole edilmiştir. Atipik pnömoni olarak ortaya çıkan ve Ağır Akut Solunum Yetmezliği Sendromu'na (SARS) neden olan yeni virüs, insanlık tarihinde HCoV kaynaklı ilk pandemiye neden olmuştur (<https://www.niaid.nih.gov>; Cheng ve ark., 2007). Salgın sırasında toplam 8 098 kişi enfekte olmuş, 774 ölüm bildirilmiştir (Ye ve ark., 2020).

CoV'lerin artan yaygınlığı, sık genom rekombinasyonu, geniş genetik çeşitliliği ve yüksek insan-hayvan arayüzü davranışı nedeniyle, zaman zaman yeni koronavirüslerin ortaya çıkabileceği düşünülmektedir. Nitekim bu salgından sonra iki yeni HCoV daha tanımlanmıştır. HCoV-NL63, 2004 yılının sonlarında Hollanda'da 7 aylık bir çocuktan izole edilmiştir (Ye ve ark., 2020; Gül, 2009). Aynı yıl, HCoV-HKU1, Hong Kong'da pnömoni ve bronşiolit nedeniyle hastaneye yatırılan 71 yaşındaki erkek hastadan izole edilmiştir. HCoV-HKU1'in HCoV-NL63, HCoV-229E ve HCoV-OC43'e benzer şekilde, dünyada endemik olarak bulunduğu, mevsimsel ve genellikle soğuk algınlığı semptomları ile ilişkili hafif solunum yolu enfeksiyonlarına neden olduğu görülmüştür (Lau ve ark., 2005).

2004 yılından bu yana olan SARS CoV ile ilgili yeni enfeksiyonlar rapor edilmemişken, 2012'de insanlar için tehlikeli olan başka bir CoV ortaya çıkmıştır. Orta Doğu Solunum Sendromu Koronavirüsü (MERS-CoV), ilk kez Suudi Arabistan'da akut pnömoni ve böbrek yetmezliği nedeniyle hastaneye yatırılan bir hastadan izole edilmiştir (Ludwig ve Zarbock 2020). Bu virüs, 2020 yılı itibarıyla, 2 500'den fazla doğrulanmış vaka ve 858 ölüm ile bilinen en yıkıcı virüslerden biri olmuştur (Ye ve ark., 2020).

Aralık 2019 tarihinde ise insanları enfekte eden yedinci CoV olarak bilinen SARS CoV-2 ortaya çıkmıştır. Çin'in Hubei eyaleti Wuhan şehrinde deniz ürünleri ve canlı hayvan pazarı ile teması olan kişilerde mevcut tanı testleri ile nedeni belirlenemeyen atipik pnömoni vakaları bildirilmiştir. Ateş, öksürük ve solunum sıkıntısı gelişen hastalara radyolojik testlerinin yardımıyla pnömoni tanısı konmuştur. Ancak, hastalardan alınan örnekler çalışılabilen solunum yolu enfeksiyon etkenleri için negatif bulunmuştur. Etkenin tanımlanmasına yönelik yapılan çalışmalarda bronkoalveolar lavaj örnekleri sekanslanmış ve SARS CoV benzeri koronavirüs ile yaklaşık %85 sekans homolojisi olan yeni bir koronavirüs saptanmıştır (Zhu ve ark., 2020). Bu süreçte DSÖ, virüsü yeni koronavirus-2019 (2019-nCoV) olarak tanımlamıştır. Daha sonra, virüs hücre kültüründe izole edilmiş ve ayrıntılı genetik analiz sonuçlarına göre SARS-CoV ile yaklaşık %79, MERS-CoV ile yaklaşık %50 sekans homolojisi gösterdiği bildirilmiştir. Uluslararası Virüs Taksonomi Komitesi ise SARS-CoV ile genetik benzerliğinden dolayı, 11 Şubat 2020'de virüse Şiddetli Akut Solunum Sendromu Koronavirüs 2 (SARS CoV-2) ismini vermiştir. Aynı

tarihte DSÖ, virüsün neden olduğu hastalığı koronavirus hastalığı-2019 (COVID-19) olarak adlandırmıştır. Salgının ciddiyeti ve uluslararası ölçekte yayılma potansiyeli nedeniyle, 31 Ocak 2020'de küresel bir sağlık acil durumu, 11 Mart 2020'de ise pandemi ilan edilmiştir (<https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/media-resources/press-briefings> Erişim tarihi: 07.01.2022).

2.2. Virolojik Özellikler

2.2.1. Köken ve sınıflandırma

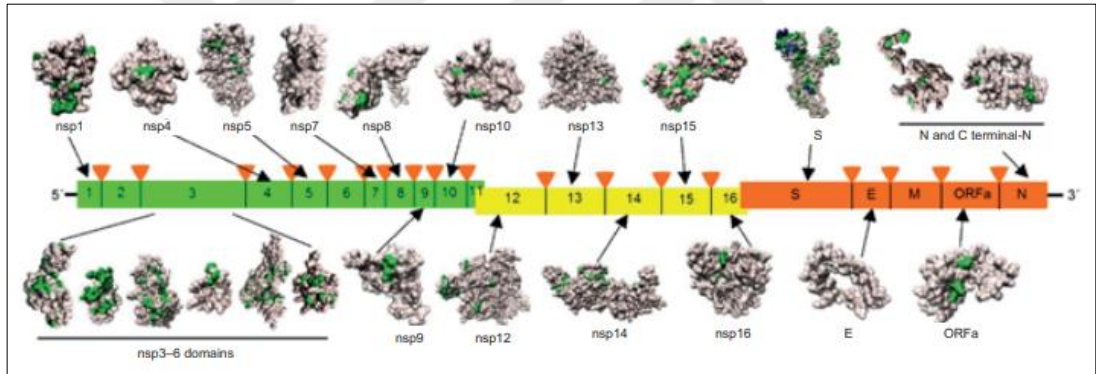
Koronavirüsler; tek zincirli, pozitif polariteli, segmentsiz, zarflı RNA virüsleridir. Tüm RNA virusları içinde en büyük genoma sahip virüs ailesini oluştururlar. Coronaviridae ailesi, Coronavirinae alt ailesi içerisinde yer alan koronavirüsler, genotipik ve serolojik olarak yapılan gruplandırmada alfa, beta, gama ve delta olmak üzere dört cinse ayrılmıştır. Bu dört cins farklı doku tropizmi ve konak dağılımı göstermektedir. Alfa ve beta koronavirüsler daha çok yarasa ve kemirgenleri enfekte ederken, gama ve delta koronavirüsler kuş ve balıkları enfekte eder. Ancak memelileri de enfekte edebildiği bildirilmiştir (Chen ve ark., 2020; Dhama ve ark., 2020; Haque ve ark., 2020). HCoV-229E ve HCoV NL63 alfa cinsinde; HCoV-HKU1, HCoV-OC43, SARS-CoV ve MERS CoV beta cinsinde yer almaktadır (Chen ve ark., 2020; Dhama ve ark., 2020). Genom dizi analizleri, SARS CoV-2'nin SARS-CoV ile arasında yaklaşık olarak %79, bat-SL-CoV ZC45 ve bat-SL-CoV ZXC21 ile arasında %89, MERS CoV ile %51,8'lik benzerlik ile homoloji yüzdesine göre ayrı bir virüs olarak ortaya çıktığını göstermiş ve yeni virüs beta cinsine dahil edilmiştir. (Gralinski ve Menachery 2020; Malik ve ark., 2020, Ren ve ark., 2020)

Genom analizleri, SARS CoV-2' nin yarasa koronavirüsü ile %96 benzer olduğunu göstermiştir (Zhou ve ar.,2020) Bu nedenle, virüsün kökenini yarasalardan aldığı ve insanlara bulaşta aracı konakların rol aldığı düşünülmektedir (Malik ve ark., 2020). Malayan pangolinlerinden (*Manis javanica*) izole edilen koronavirüs ile SARS CoV-2 arasında E (%100), M (%98,2), N (%96,7) ve S genlerinde (%90,4) çok yüksek amino asit homolojisi görülmüştür. Ancak, SARS CoV-2 ile enfekte pangolinlerin şiddetli solunum sıkıntısı çekmesi ve birçoğunun ölmesi, pangolilerin SARS-CoV-2 için uzun süreli bir rezervuar olamayacağını göstermiştir. Genom karşılaştırma çalışmaları, SARS-CoV-2'nin pangolin-CoV'leri ile yarasa-CoV-RaTG13 benzeri

virüs arasında rekombinasyon sonucu oluştuğunu ve pangolinlerin insanlara bulaşta ara konak olabileceğini öne sürmektedir (Xiao ve ark., 2021).

2.2.2. Genomik yapı

SARS CoV-2 genom organizasyonu, beta koronavirüs cinsinde bulunan diğer virüslerle ortak yapıları içerir. Genom büyüklüğü 29.9kb'dır (Erensoy, 2020). Genomunda 12 fonksiyonel açık okuma bölgesi (open reading frame- ORF) içerir. İlk ORFs genomunun üçte ikisini kaplar ve proteolitik olarak parçalanarak transkripsiyon ve replikasyonunda görev alan 16 yapısal olmayan proteini (NSPs) oluşturacak poliproteini (pp1ab) kodlar. Genomun üçte birlik kısmı ise yapısal proteinler olan spike (S), zarf (E), membran (M) ve nükleokapsit (N) kodlar. Bunun dışında, ORF 3a, ORF 6, ORF 7a, ORF 7b, ORF 8 ve ORF 10 gibi aksesuar proteinlerde kodlanmıştır (Gül, 2009) (Şekil 2.1.).



Şekil 2.1. SARS CoV-2 genom yapısı. (Haque 2020'den uyarlanmıştır)

2.2.3. Yapısal proteinler

Virüs partikülünün oluşmasında ve enfeksiyonun ortaya çıkmasında görev alırlar (Şekil 2.2.).

Spike (S) protein

Homotrimer yapıda bulunan S proteini, multifonksiyonel transmembran proteinidir. Virion membran yüzeyinden yaptığı 9-12 nm'lik çubuk şeklindeki çıkıntılarla taç benzeri bir görünüm oluşturur. Bu nedenle bu virüslere Latince'de "taç" anlamına gelen "koronavirus" ismi verimiştir. S proteini, enfeksiyöz virion partiküllerinin, konak hücre reseptörlerine bağlanması ve hücreye girişi için gereklidir (Dhama ve ark., 2020). Ayrıca, konak immün yanıtı indükleyen CoV'lerin hayati

immünodominant proteinlerinden biridir. Viral yaşam döngüsünde ve konak savunmasında anahtar roller oynar: Reseptör bağlanmasından ve membran füzyonundan sorumludur. Konak nötralizan antikorları için hedeftir. Doku tropizmi ve konak aralığının belirlenmesini sağlar (Li, 2016).

S protein, S1 ve S2 olmak üzere iki alt birimden oluşmaktadır. S1 konak reseptör bağlanmasını sağlarken, S2 füzyondan sorumludur. S1, N-terminal alanı (NTD) ve C-terminal alanı (CTD) olmak üzere iki alt alana bölünmüştür. Bu alt alanların her ikisi de konak reseptörleri ile etkileşime girerek reseptör bağlanma alanları (RBD) olarak işlev görür (Li, 2016.). RBD en değişken bölgedir. Türlerin özgüllüğünü belirler (Casella ve ark., 2021). Enfeksiyonun patogenezinde rol alan temel peptid bölgesidir. İnsan Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim 2 (ACE-2) reseptörü için bağlanma bölgesi içerir. S2 alt birimi; füzyon peptidi, transmembran bölgesi ve sitoplazmik bölge içermektedir. S2, yüksek oranda korunmuştur. Bu nedenle, antiviral (anti-S2) bileşikler veya aşılar için bir hedef protein olarak düşünülmektedir (Casella ve ark., 2021).

M Proteini

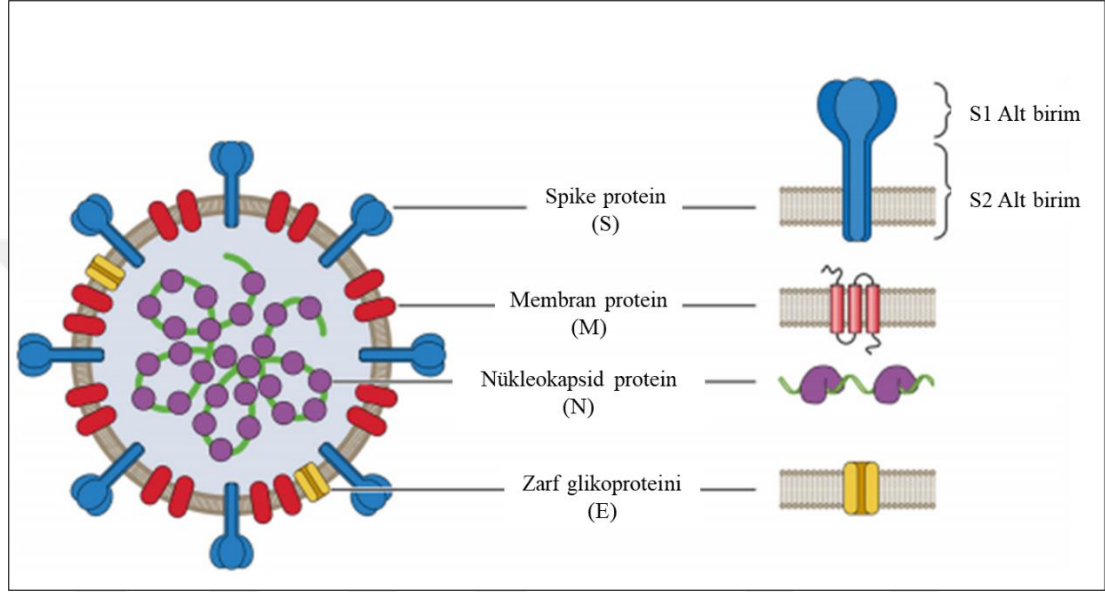
M proteini, virion partikülünde en fazla bulunan viral proteindir. Virüse şeklini verir Nükleokapside bağlanır ve merkezi bir düzenleyici olarak işlev görür (Neuman ve ark., 2011). M proteinleri aminosit içeriği bakımından oldukça çeşitli olsa da farklı cinsler içinde genel yapısal benzerliği korurlar. M proteini, virionun dışında kısa bir amino terminali ve virion içinde uzun bir karboksil terminali ile çevrili üç transmembran alanına sahiptir. Viral yapı, genel olarak M-M etkileşimi ile korunur (Dhama ve ark., 2020).

E Proteini

E proteini, yapısal proteinlerin en küçüğüdür. Virüsün patogenezinde, toplanmasında ve salınmasında multifonksiyonel role sahiptir. Viroporin (iyon kanalı) gibi davranan küçük bir entegre membran proteini olarak işlev görür. Bu proteinin yokluğu veya inaktivasyonu morfoloji ve tropizmdeki değişiklikler nedeniyle koronavirüslerin virülansının değişmesine neden olur (Dhama ve ark., 2020).

N Protein

Multifonksiyonel bir proteindir. Enfeksiyonun erken aşamalarında eksprese edilir. Viral genoma bağlanarak virion oluşumu sırasında ihtiyaç duyulan M protein etkileşimini kolaylaştırır ve virüsün transkripsiyon etkinliğini artırır (Chang ve ark., 2006).



Şekil 2.2. SARS CoV-2 virion yapısı (Synowiec ve ark., 2021'den uyarlanmıştır)

2.2.4. Yapısal olmayan proteinler

Yapısal olmayan proteinler, viral replikasyon aşamalarında rol oynar. 16 NSPs'nin bilinen işlevleri Tablo 2.1. 'de özetlenmiştir.

Tablo 2.1. Yapısal olmayan proteinler ve fonksiyonları (Raj 2020'den uyarlanmıştır).

Yapısal olmayan protein	Fonksiyonu
NSP 1	Doğal immün cevabı bloke eder, viral çoğalmanın sağlanması için enfeksiyonun erken aşamalarında apoptoz indüksiyonunu inhibe eder.
NSP 2	SARS CoV-2 enfeksiyonu sırasında hücre içi sinyal yollarını bloke eder.
NSP 3	Papain-like protezdir (PLPro). Polipeptitleri parçalar, konak protein sentezini inhibe eder. Sitokin ekspresyonunu indükler. NF-KB salınımını inhibe eder.
NSP 4	Replikatif yapıların kopyalanması, bir araya gelmesi ve salınımını sağlar.
NSP 5	Ana proteazdır (Mpro ya da Kimotripsin benzeri proteaz- (CLpro). İnterferon sinyalini inhibe eder.
NSP 6	Endoplazmik retikulumdan otofagozomlar üretir ve otofajiye katılır.
NSP 7	NSP 8 ve NSP 12 ile birlikte kofaktördür. Primaz ve primerden bağımsız RNA polimeraz aktivitesi vardır.
NSP 8	NSP 8 ve NSP 12 ile birlikte kofaktördür. Primaz ve primerden bağımsız RNA polimeraz aktivitesi vardır.
NSP 9	NSP8 ile kompleks halinde, RNA replikasyonunda ve virüsün virülansında rol oynar.
NSP 10	Hem NSP16'nın 2'O-metiltransferaz aktivitesi hem de NSP14'ün N7-guanin-metiltransferaz/ekzoribonükleaz aktiviteleri için bir kofaktördür.
NSP 11	Replikasyon için gereklidir.
NSP 12	RNA bağımlı RNA polimeraz aktivitesi vardır.
NSP 13	RNA helikaz, 5'trifosfataz
NSP 14	Metiltransferaz, ekzoribonükleaz, RdRp'nin hata oranını azaltır.
NSP 15	Endoribonükleaz aktivitesi vardır.
NSP 16	2'-O-Metiltransferaz aktivitesi gösterir.

2.2.5. SARS CoV-2 varyantları

Virüslerin özellikle de SARS CoV-2 gibi RNA virüslerinin replikasyonu sırasında genomlarında çok sık mutasyonlar gelişir. Bir veya daha fazla mutasyona sahip, orijinal virüsten farklılık gösteren virüse varyant virüs denmektedir. Pandemi süresince dünyanın farklı bölgelerinden farklı SARS CoV-2 varyantları ortaya çıkmıştır. ABD, oluşan varyantların izlenmesi, hızla karakterizasyonlarının sağlanması, aşılar, terapötikler ve tanı üzerindeki potansiyel etkilerinin aktif olarak izlenmesi için SARS CoV-2 Kurumlar Arası Grubun (SIG) kurulmasını sağlamıştır. DSÖ, ortaya çıkan varyantların tanımlanmasında, yerleşik adlandırma ve farklı

kodlama sistemlerinden kaynaklanan karışıklığın önlenmesi için Yunan alfabesinin kullanıldığı bir sınıflandırma sistemini kullanmıştır.

Mutasyonlar sonucu oluşan varyant virüsler 4 grup altında toplanmaktadır:

1. İzlenen varyantlar (Variants being monitoring: VBM)
2. Dikkate alınması gereken varyantlar (Variant of Interest: VOI)
3. Endişe verici varyantlar (VOC)
4. Sonuçları ağır olan varyantlar (Variant of High Consequence: VOHC)
(<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/variants/variant> Erişim Tarihi: 05.01.2022).

VBM: CDC, Amerika Birleşik Devletleri'nde dolaşan tüm varyantları izler. Gelecekte bir risk oluşturabileceğine dair bazı belirtilerle birlikte virüs özelliklerini etkilediğinden şüphelenilen genetik değişikliklere sahip, ancak fenotipik veya epidemiyolojik etki kanıtı belirsiz olan varyantlardır. İzlenen varyantlar olarak belirlenen varyantlar, tespit edilmeyen veya çok düşük seviyelerde dolaşımda olan varyantları içerir. Bu varyantlar, halk sağlığı için önemli ve yakın bir risk oluşturmaz.

VOI: Bulaşıcılık, hastalık şiddetinde artış, immün sistemden kaçış, tanısız veya terapötik etkinlikte azalma gibi virüs özelliklerini etkilediği bilinen veya tahmin edilen genetik değişiklikleri içerir. Zamanla artan vaka sayısının yanı sıra artan göreceli prevalansı olan birden fazla ülkede önemli topluluk bulaşmasına veya birden fazla COVID-19 kümesine veya küresel halk sağlığı için ortaya çıkan bir riske işaret eden epidemiyolojik etkilere neden olduğu belirlenen varyantlardır. Bu varyantlar bulaştırıcılık, tedavi ve aşı yanıtları açısından izlem altında tutulur. Lambda (C.37) ve Mu (B.1.621, B.1.621.1) tanımlanmış dikkate alınması gereken varyantlardır. Epsilon (B.1.427 ve B.1.429); Zeta (S.2); Eta (B.1.525); Teta (S.3); Iota (B.1.526); Kappa (B.1.617.1) ise önceleri dikkate alınması gereken varyantlar sınıfında iken aşağıdaki kriterlerden en az birine dayalı olarak düşürülmüştür:

1. varyant artık dolaşımda değil,
2. varyant uzun süredir dolaşımda ve herhangi bir etkisi yok

3. bilimsel kanıtlar, varyantın herhangi bir ilgili özellik ile ilişkili olmadığını göstermektedir.

VOC: COVID-19 epidemiyolojisinde bulaşıcılıkta artış veya zararlı değişiklik; virülansta artış veya klinik hastalık sunumunda değişiklik; halk sağlığı ve sosyal önlemlerin veya mevcut teşhislerin, aşıların, terapötiklerin etkinliğinde azalma gibi durumlardan bir veya daha fazlasına neden olan varyantlardır. SARS CoV-2 için VOC olarak kabul edilen varyantlar ve özellikleri Tablo 2.2.'de özetlenmiştir.

VOHC: Halk sağlığı ve tıbbi önlemlerin etkisinin daha önce dolaşımda olan varyantlara göre anlamlı düzeyde azaldığı /yetersiz kaldığı varyantlardır. Şu anda, yüksek sonuç düzeyine yükselen bir SARS CoV-2 varyantı bulunmamaktadır. (<https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/variants-concern>; [https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS CoV-2-variants/](https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/) Erişim Tarihi: 05.01.2022).

Tablo 2.2. SARS CoV-2 VOC olarak kabul edilmiş varyantlar.

DSÖ	Pango	İlk saptama	Bulaş üzerine etki kanıtı	Hastalık şiddetine etki kanıtı	İmmün sisteme etki kanıtı
Alfa	B.1.1.7	İngiltere, Eylül 2020	Var	Var	Yok
Beta	B.1.351	Güney Afrika, Mayıs 2020	Var	Var	Var
Gama	P.1	Brezilya, Kasım 2020	Var	Var	Var
Delta	B.1.617.2	Hindistan, Ekim 2020	Var	Var	Var
Omicron	B.1.1.529	Birden fazla ülke, Kasım 2021	Var	Yetersiz Kanıt	Yetersiz Kanıt

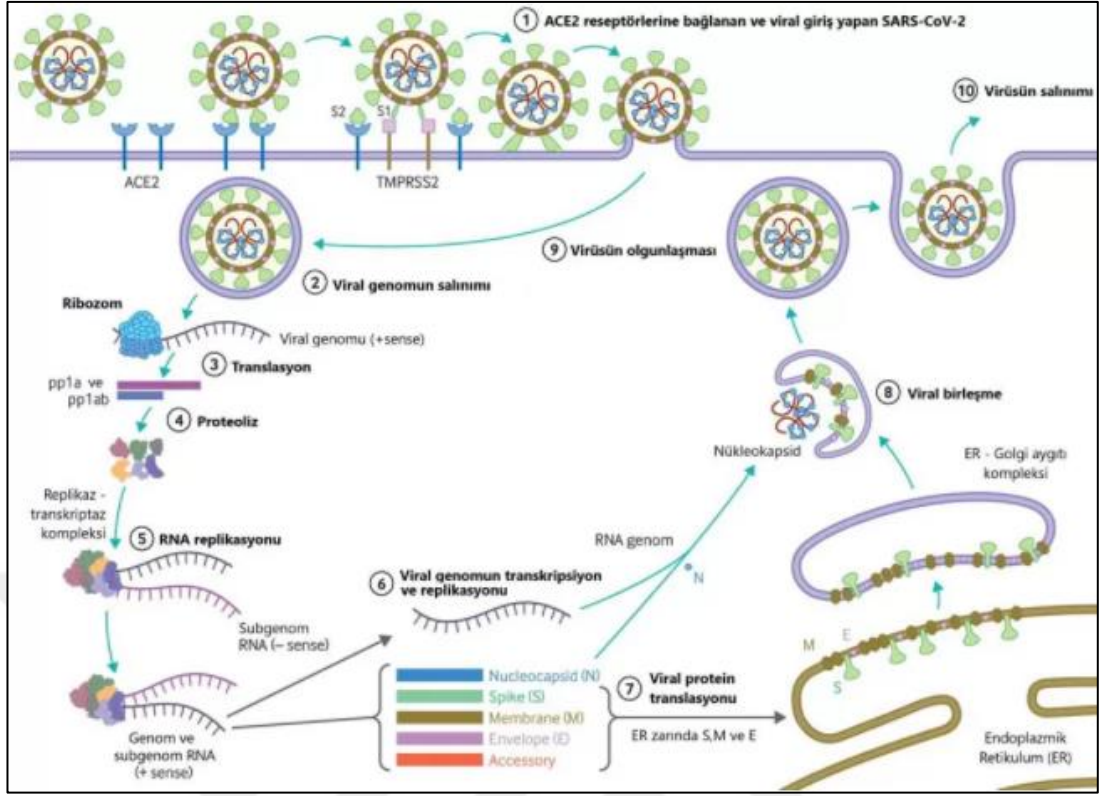
*Alfa varyantının dolaşımda görülme sıklığı azaldığı için VOC' tan düşürülmüştür. (<https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/variants-concern>; <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/> Erişim Tarihi: 05.01.2022'den uyarlanmıştır).

2.3. Patogenez

2.3.1. Hücreye giriş

Virüsün hücreye girişi, viral enfektivite ve patogenezin en önemli belirleyicisidir. Hücreye girişin önlenmesi konağın immün yanıtının belirlenmesi ve enfeksiyonu önleme stratejileri için önemli bir hedeftir. Hücreye girişin ilk basamağını virionun

hücre yüzey reseptörüne bağlanması oluşturur. SARS CoV-2 için hücreye giriş reseptörü ACE-2'dir. Reseptöre bağlanma, virüsün S proteini ile gerçekleşir. S1 alt birimi, prefüzyon durumunda virüsün hedef hücre yüzeyine bağlanmasını, S2 alt birim ise virüsün hücre membranı ile füzyonunu ve hücre içine girişini sağlar. (Wan ve ark., 2020; Zhang ve ark., 2020; Zhou ve ark., 2020). Hücreye giriş, hücre proteazlar tarafından S proteininin hazırlanmasını gerektirir. Bunun için hem S1/S2 ara bölgesinde hem de S2 alt birimde iki ayrı bölünme gerçekleşir. İlk bölünme, hücre proteaz olan furin tarafından sağlanır. S1/S2 "furin benzeri bölünme bölgesi" içerir (Coutard ve ark., 2020). Bu bölgenin furin tarafından bölünmesi ile S1 ve S2 alt birimleri ayrılmış olur. S1/S2 alanın aktivasyonu, S proteini ile ACE-2 reseptörü arasında etkileşimi ve ardından ACE-2'nin downregülasyonunu sağlar (Hoffmann ve ark., 2020). İkinci bölünmeyi, hücre yüzeyinde bulunan transmembran proteaz serin 2 (TMPRSS2) ya da endolizozomlarda bulunan katepsin katalizler. Virüs hücreye girişte daha çok TMPRSS2 yolunu tercih eder. Ancak, hücrede yetersiz düzeyde TMPRSS2 ekspresyonu varsa ya da virüs ACE-2 kompleksi TMPRSS2 enzimi ile karşılaşmamış ise virüs bağlı ACE-2 kompleksi klatrin aracılı endositoz ile geç endolizozomlara taşınır ve burada katepsin tarafından ikinci bölünme gerçekleşir. Bu bölünme füzyon peptidini açığa çıkarmak için önemlidir. Füzyon peptidinin açığa çıkması ile viral ve hücre membranlarının füzyonu kolaylaşır ve viral genom sitoplazmaya salınır (Inoue ve ark., 2007) (Şekil 2.3.).



Şekil 2.3. SARS CoV-2 replikasyon döngüsü (<https://www.drozdogan.com/yeni-koronavirus-sars-cov-2-nasil-bulasir-ve-hastalik-yapar-son-bilimsel-gelistmeler>).

2.3.2. Viral gen ekspresyonu

Virüs genomunun konak hücre sitoplazmasına salınımı, karmaşık bir viral gen ekspresyon programını başlatır. İlk basamak, replikaz geninin translasyonudur. Replikaz geni genomun üçte ikisini kaplayan ORF1a ve ORF1b'yi kodlar. Bu bölgenin translasyonu ile sırasıyla pp1a ve pp1ab olmak üzere iki poliprotein üretilir. pp1ab, ORF1a ve ORF1b'nin örtüşmesi ile oluşan ribozomal çerçeve kaymasından kaynaklanır (Perlman ve Netland 2009). Bu proteinler, NSP3 ve NSP5 içinde yer alan iki sistein proteazının proteolitik bölünmesi üzerine yapısal olmayan on altı proteine dönüştürülür: pp1a'dan (NSP 1–11) ve pp1ab'den (NSP 1–10, NSP 12–16) Schubert ve ark., 2020). NSP 2–16, RNA sentezi için viral replikaz-transkriptaz kompleksi (RTC) oluşturur ve replikasyon döngüsünü belirler (V'kovski ve ark., 2020). Viral RNA sentezi, NSP 12 olarak adlandırılan RNA'ya bağımlı RNA polimeraz (RdRP) ve iki kofaktörü (NSP 7 ve NSP 8) tarafından gerçekleştirilir (Gao ve ark., 2020). RdRp'nin proofreading aktivitesi bulunmamaktadır. Replikasyon sırasındaki hata oranı nükleotid başına 10^{-4} - 10^{-5} 'tir. Ancak NSP 14'ün

ekzoribonükleaz aktivitesi bulunmaktadır ve mutasyon oranını diğer virüslere kıyasla 10-15 kat azaltır (Denison ve Perlman, 1986).

Viral genomik replikasyon, pozitif polariteli genomik RNA'nın oluşturulması için kalıp olarak işlev gören tam uzunlukta negatif polariteli genomik kopyaların senteziyle başlatılır. Yani pozitif polariteli ana genomdan önce negatif polariteli bir ara ürün oluşur. Oluşan subgenomik RNA daha fazla genomik RNA sentezini sağlar.

2.3.3 Bir araya gelme ve salınım

Replikasyon ve subgenomik RNA sentezinin ardından, viral yapısal proteinler, S, E ve M endoplazmik retikulumu geçer. Bu proteinler sekretuar yol boyunca endoplazmik retikulum-golgi (ERGIC) ara bölmesine doğru hareket eder. N proteinleri tarafından paketlenmiş viral genom ERGIC membranlarından tomurcuklanarak yeni virüsleri oluşturur (V'kovski ve ark., 2020)

2.4. Bulaş

Bulaş, temel olarak enfekte kişilerin yaymış olduğu enfeksiyöz damlacıkların duyarlı kişiler tarafından solunması ile doğrudan ya da kontamine olmuş deri ve yüzeylerle temas sonrası oral, nazal veya konjunktival mukozadan virionların alınması ile dolaylı olarak gerçekleşir. Ancak bulaş, esasen solunum yolu ile olmaktadır (Cevik ve ark., 2020; Hui ve ark., 2020).

2.4.1. Solunum yolu ile bulaş

Solunum yolu ile bulaş, damlacıklar üzerinde asılı duran virüs partikülleri ya da aerosollerin buharlaşması ile oluşan damlacık çekirdekleri ile gerçekleşir (Meyerowitz ve ark., 2020). Damlacıklar, çapı 5 µm'dan büyük olan partiküllerdir. Bu partiküller, yaklaşık olarak 2 metre mesafede yayılarak yer çekimi etkisi ile hızla hareketsiz yüzeylere düşme eğilimi gösterir. Aerosoller ise çapı 5 µm' den küçük olan partikülleri tanımlar. Küçük partiküller hızla buharlaşarak, geride daha fazla yayılabilen ve saatlerce havada asılı kalabilen damlacık çekirdekleri oluşturur (Klompasve ark., 2020). Pandeminin başlangıcında, SARS CoV-2'nin aerosol yolu ile bulaşı genel olarak kabul edilmemiştir; ancak aylar içinde bazı COVID-19 kümelerinin, korolarda, alışveriş merkezlerinde, restoranlarda, et işleme tesislerinde

veya banyoları drenaj borularıyla birbirine bağlanan vertikal dairelerde saptanması bulaşın buralarda başlıca aerosol yolu ile olduğunu düşündürmüştür (Klompas ve ark., 2020).

Aerosol ve damlacıkların bulaştaki rollerine bakıldığında, aerosoller iç mekan havasında saatlerce bulaşıcı olarak kalabilir, burada birikerek akciğerlerin derinliklerinde kolayca solunabilir (Thomas, 2003). Büyük damlacıklar ise genellikle üst solunum yollarında tutulur (Wonderlich ve ark., 2017). Bu nedenle aerosoller ile oluşan enfeksiyonun daha şiddetli olabileceği düşünülmektedir.

Viral yük ve kinetiği de bulaş açısından önemli etkenlerdir. Solunum sıvısında yüksek viral yüke (ml başına $2,35 \times 10^9$ kopya), sahip bir kişi tek bir öksürüğü ile 10 saniye sonrasında bile havada asılı kalabilen $1,23 \times 10^5$ kadar virüs kopyası oluşturabilir. Bu sayı normal bir hasta (ml başına $7,00 \times 10^6$ kopya) için 386 kopya olarak bulunmuştur (Wang ve ark., 2020). En yüksek viral yük, semptom başlangıcında veya hastalığın ilk haftasında görülür. İleriki dönemlerde düşüş gösterir. Bu durum, semptom başlangıcından önce veya ilk haftasında en yüksek bulaşıcılık potansiyelini göstermektedir (Cevik ve ark., 2021).

2.4.2. Fomitler yoluyla bulaş

Enfeksiyöz ajanlar tarafından kontamine olabilen ve maruz kalındığında hastalığı başka bir kişiye bulaştırabilen cansız nesnelere fomit denir. Fomit yolu ile bulaş SARS CoV-2 ile enfekte kişilerin virüs yüklü damlacıkları yüzeylere yayması ile başlamaktadır. Daha sonra fomitlerle temas eden diğer insanların ellerini burunlarına, ağızlarına veya gözlerine temas ettirmesi ile bulaş zinciri tamamlanmaktadır (Deng ve ark.,2020; Wang ve ark., 2020). Bazı çalışmalar, COVID-19 hastalarının geniş çevresel kontaminasyona sahip olduğunu bildirmiştir (Santarpia ve ark., 2020). Bununla birlikte, çevresel yüzeylerde SARS CoV-2 RNA yükü insan nazofarenksine kıyasla belirgin şekilde daha düşüktür ve fomit bulaşının düşünüldüğü nadir durumlarda dahi solunum yolu yolu ile bulaş göz ardı edilmemelidir (Cai J 2020; Lui ve ark., 2020).

Fomit yolu ile bulaş yalnızca enfekte bir kişinin belirli bir yüzeye öksürmesi veya hapşırmasından hemen sonra (1-2 saat içinde) başka bir kişinin bu yüzeye

dokunduğu durumlarda meydana gelebilir (Goldman, 2020). Mevcut verilere dayanarak, doğrudan temas ve fomit bulaşının muhtemelen yalnızca alışılımadık bir bulaş yolu olarak kalacağı ve yzeylerde geğici olarak kalan viral RNA veya canlı virüslerin enfeksiyona neden olma olasılığının dűřük olduğu varsayılmaktadır (Meyerowitz ve ark., 2020).

2.4.3. Diğer bulaş yolları

SARS CoV-2 için solunum yolu ya da fomitler yoluyla bulař dıřında cinsel yol, vertikal yol, fekal-oral, konjonktival, ter, transplantasyon, kan transfüzyonu ve evcil hayvanlar yolu ile bulařın da teorik olarak mümkün olduđu dűřünölműř ancak henűz belgelenememiřtir (Deng ve ark., 2020; jones ve ark., 2020; Liu ve ark., 2020; Meyerowitz ve ark., 2020; Wang ve ark., 2020).

2.5. Tanı

2.5.1. Klinik tanı

Diđer solunum yolu viral enfeksiyonlarında olduğu gibi, COVID-19'un belirti ve semptomları spesifik değildir ve hastalığın klinik spektrumu asemptomatikten şiddetli pnömoniye ve ölüme kadar değişebilir (Day 2020). Pek çok durumda asemptomatik enfeksiyon bildirilmiştir, ancak hastaların enfeksiyonun ileriki aşamalarında klinik hastalık geliştirebildiği görölműřtir. Asemptomatik enfeksiyonların gerđek oranı belirsizdir, ancak bazı tahminler, enfeksiyonların %80'e varan kısmının belirgin semptomlarla sonuçlanmadığını göstermiştir (Li ve ark., 2020).

DSÖ kriterlerine göre, aşağıda belirtilen üç durumun herhangi birinin varlığında bir kişinin COVID-19 ile enfekte olduğundan şüphelenilmektedir:

1. Akut solunum hastalığı olan bir hasta (ateř ve en az bir solunum hastalığı belirtisi / semptomu, örneğin öksürük, nefes darlığı) ve semptom başlangıcından önceki 14 gün içinde COVID-19 hastalığının toplumda bulaştığını bildiren bir konuma seyahat etme veya ikamet öykűsü,
2. Semptom başlangıcından önceki son 14 gün içinde doğrulanmış veya olası bir COVID-19 vakasıyla temas halinde olan herhangi bir akut solunum yolu hastalığı olan bir hasta,

3. Şiddetli akut solunum hastalığı olan bir hasta (ateş ve en az bir solunum hastalığı belirtisi/semptomu, örneğin öksürük, nefes darlığı ve hastanede kalmayı gerektirme) ve klinik durumu tam olarak açıklayan alternatif bir teşhisin olmaması.

Şüpheli hasta, laboratuvar testleri ile doğrulmasının ardından enfeksiyon klinik belirti ve semptomlardan bağımsız olarak doğrulanmış bir COVID-19 vakası haline gelmektedir (<https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200412-sitrep-83-covid-19>. Erişim tarihi 05.01.2022). Genel olarak, laboratuvar tarafından doğrulanmış COVID-19 hastalarının %81'i, hafif ila orta derecede hastalık geçirirken, %14'ünde şiddetli hastalık (24-48 saat içinde dispne, taşipne, kan oksijen saturasyonu $\leq$ %93 ve PaO₂/FiO₂ oranı %50) ve %5'inde kritik hastalık (solunum yetmezliği, septik şok ve/veya çoklu organ disfonksiyonu/yetmezliği) gelişir. Bugüne kadar, yaş ve komorbidite varlığı hastalığın şiddeti ile ilişkili temel risk faktörleri olarak belirlenmiştir (Du ve ark., 2020; Liang ve ark., 2020; Petrilli ve ark., 2020).

2.5.2. Radyolojik tanı

Göğüs röntgeni, pulmoner bilgisayarlı tomografi (BT) taramaları ve akciğer ultrasonu gibi görüntüleme teknikleri COVID-19 hastalarında pnömoninin erken teşhisinde önemli araçlardır. Göğüs röntgeni daha ucuz ve takip için daha uygun olsa da teknik, düşük çözünürlüklü ve projeksiyon örtüşmesine sahip olduğu için birçok yanlış negatif COVID-19 vakasına yol açabilir (Zhao ve ark., 2020). BT ile değerlendirilen hastaların yaklaşık %90'ında bilateral çoklu buzlu cam opasitesi gösteren anormal bulguların varlığını bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2020). BT taraması (%97,2) tanıda altın standart olarak kullanılan RT-qPCR'den (%83,3) daha yüksek bir duyarlılığa sahiptir (Long ve ark., 2020). Ancak BT ile COVID 19, diğer viral pnömoni bulgularından ayırt edilemez ve yanlış pozitifler sonuçlara neden olabilir (Bai ve ark., 2020). Bununla birlikte, klinik değerlendirmenin görüntüleme bulguları ile ilişkilendirilmesi, COVID-19 tanısında tamamlayıcı bir role sahiptir.

2.5.3. Laboratuvar tanısı

Covid-19 laboratuvar tanısında, direkt ve indirekt yöntemler kullanılabilir. Direkt yöntemler, klinik örneklerde doğrudan virüs antijenlerin, partiküllerin veya viral nükleik asitlerin varlığını araştırır. İndirekt yöntemler ise enfeksiyona karşı gelişen serolojik yanıtı tespit eder. Direkt yöntemler daha spesifik tanı sağlarken, indirekt yöntemler hastalığın akut fazından sonra da tespit edilmesine olanak sağlar.

2.5.3.1. Örneklerinin işlenmesinde biyogüvenlik

WHO, tüm prosedürlerin yalnızca eğitimli profesyoneller tarafından yapılmasını ve uygun biyogüvenlik seviyesine sahip bir laboratuvarda gerçekleştirilmesini önermektedir. Nükleik asit amplifikasyon testleri (NAAT), sekans ve bazı serolojik testler gibi virüs izolasyonu gerektirmeyen testler biyogüvenlik düzeyi 2 (BSL2) laboratuvarlarda gerçekleştirilebilmektedir. Bununla birlikte, virüs kültürü, izolasyon veya nötralizasyon deneyleri gibi propagatif virüs çalışmasını içeren testler BSL-3'e eşdeğer laboratuvarlarda gerçekleştirilmelidir. Çalışma sırasında göz koruması (gözlük veya tek kullanımlık sperlik), solunum maskesi, uzun kollu önlük ve eldivenler dahil olmak üzere uygun kişisel koruyucu ekipman kullanılmalı ve örnek toplama ve işleme ile ilgili tüm standart çalışma prosedürleri takip edilmelidir. Aerosol oluşturan prosedürler gerçekleştirilirken yüz maskesi yerine N95 maske gibi daha yüksek seviyede koruma sağlayan maskeler kullanılmalıdır (<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/lab-safety-practices.html> Erişim tarihi: 26.01.2022).

2.5.3.2. Numunelerin toplanması

Tanı testleri için doğru numuneyi seçmek, güvenilir bir sonuç için en önemli adımdır. SARS CoV-2, nazofaringeal veya orofaringeal aspirat, yıkama sıvısı veya sürüntü örneklerinde, balgam, trakeal aspiratlar ve bronkoalveolar lavaj gibi çeşitli klinik örneklerde tespit edilebilmektedir (<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/guidelines-clinical-specimens.html> Erişim tarihi: 07.01.2022).

İnvaziv işlem gerektirmeyen ve güvenilir sonuç alınmasını sağlayan nazofaringeal sürüntü (NF) örnekleri, SARS CoV-2 testi için tercih edilen örneklerdir. Nazofaringeal sürüntü örneklerinin alınamadığı durumlarda orofaringeal sürüntü

(OF), burun orta türbinat sürüntüsü veya ön burun sürüntü örnekleri kabul edilebilir alternatiflerdir. Ancak ideal olan kompozit örnek alımıdır. Önce OF alınmalı daha sonra aynı swab ile burundan da örnek alınmalı ve aynı taşıma besiyerine konulmalıdır. Aynı hastadan alınan OF ve NF örnekleri ayrı taşıma solüsyonlarında gönderilmemelidir. Sürüntü örneklerinin alınmasında dakron uçlu swablar kullanılmalı, kalsiyum aljinat swabları ve tahta çubuk swabları kullanılmamalıdır. Örnek alma işlemi sonrasında viral bütünlüğün korunması için swablar 2-3 mL viral taşıma ortamı içeren steril tüplere yerleştirilmelidir. Bu şekilde örnekler 2-8 °C'de 72 saate kadar saklanabilir. Gecikmeli test veya nakliye durumlarında, numuneler -70°C veya altında saklanmalıdır (<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/guidelines-clinical-specimens.html> Erişim tarihi: 07.01.2022) Yetersiz numune toplama, işleme ve uygunsuz saklama durumları yanlış negatif test sonuçlarına neden olabilecek önemli değişkenlerdir. Balgam ile birlikte ekipman ve invaziv işlem gerektiren diğer alt solunum yolu örnekleri değerli örneklerdir. Ancak, yüksek aerosolüsyon riski nedeniyle alınması yalnızca özel durumlarda önerilmektedir.

SARS CoV-2'nin, solunum yolu örneklerine ek olarak dışkı, anal swablar, idrar, kan, oküler sekresyonlar, insan anne sütü ve semen gibi diğer örneklerde de saptandığı bildirilmiştir. Ancak bu örnekler rutin tanı testlerinde kullanılmamakta yalnızca araştırma çalışmalarında incelenmektedir (Chen ve ark., 2020; Colavita ve ark., 2020; Sun ve ark., 2020; Wang ve ark., 2020; Wu ve ark., 2020, Xie ve ark., 2020; Xing ve ark., 2020; Zhang ve ark., 2020).

2.5.3.3. Virüsün izolasyonu

SARS CoV-2 ilk olarak pnömoni olan bir hastadan alınan bronkoalveolar lavaj sıvısının Vero E6 ve Huh7 hücrelerine inokülasyonu sonucu izole edilmiştir. SARSCoV-2 tanısında kültüre dayalı yöntemler, dünyanın farklı yerlerinde araştırma ve halk sağlığı laboratuvarlarında kullanılmıştır. Ancak, testin düşük duyarlılığa sahip olması, zaman alıcı olması ve BSL-3 düzey laboratuvarlarda çalışma gerekliliği nedeni ile COVID-19 rutin tanısında virüs izolasyonu önerilmemektedir. SARS CoV-2 izolasyonu daha çok antiviral araştırmalar, patogeneze yönelik araştırmalar, virüs stabilite araştırması, nötralizan antikör test çalışmaları ve aşı geliştirme çalışmalarında kullanılmaktadır.

2.5.3.4. Viral RNA testleri

Salgın koşullarında hastaların hızlı bir şekilde tanımlanması için hızlı, güvenilir, ucuz ve kullanımı kolay testler gereklidir. PCR yöntemi, klinik örneklerde 10 kopya/ml gibi düşük düzeydeki virüs miktarlarını bile saptayabilen, yüksek duyarlılık ve özgüllük oranlarına sahip, kabul edilebilir maliyetlerde ve kısa sürede sonuç veren bir tekniktir. Bu nedenle, SARS CoV-2 tanısında en yaygın kullanılan yöntem gerçek zamanlı ters transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-qPCR) ile nükleik asit amplifikasyon yöntemidir. RT-qPCR için kullanılan moleküler hedefler, genetik olarak yüksek korunmuş bölgeler olan ORF1, N, S, E ve RNA bağımlı RNA polimeraz proteinlerini kodlayan genlerdir (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/331501> Erişim tarihi: 07.01.2022). Çoğu test, tanı için iki viral hedef bölge kullanmaktadır. Ancak reaktif yetersizliği durumunda valide edilmiş testlerde ve salgın durumunda tek hedef bölge için primer setinin kullanımı da önerilmiştir (<https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/covid-19-rapid-risk-assessment-coronavirus-disease-2019-pandemic-eighth-update> Erişim tarihi: 05.01.2022). Kurum içi geliştirilen testlere ek olarak, Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından birçok moleküler test kiti onaylanarak, SARS CoV-2 RNA genomunun tespiti için acil kullanım onayı almıştır (<https://www.fda.gov/medikal-cihazlar/acil> Erişim tarihi: 05.01.2022).

RT-qPCR testinin enfeksiyonun erken evresinde, hastalığın inkübasyon döneminde ve semptomlar ortadan kalktıktan sonra bile pozitif vakaları tanımlayabilmesi bu yöntemi serolojik yöntemlerden daha üstün kılmıştır (Wölfel ve ark., 2020). Ancak yöntemin başarısı öncelikle toplanan örnekte viral RNA varlığına bağlıdır. Virusun insan vücudundaki kinetiğine ve saçılımına bakıldığında önce orofarenks ve nazofarenkste bulunduğu daha sonra alt solunum yollarına yerleştiği görülmektedir. Bu olgularda örneğin alınma zamanı testin duyarlılığını etkilemektedir. Bu nedenle de, kullanılan bu testlerin gerçek klinik duyarlılığı bilinmemektedir. Analitik sensitivite ve spesifitesi yüksek olan SARS CoV-2 RT-PCR testi, hastalığın klinik evresine, örneğin yeri ve alınma zamanına, örnek toplama tekniği ve transport şekline bağlı olarak olduğundan düşük klinik sensitivite ve spesifite gösterebilmektedir. Virüste meydana gelen mutasyonlar da primer bağlanma bölgelerinde değişikliğe neden olarak yanlış negatif sonuçlara sebep olabilir. Bu nedenle negatif bir test sonucu, bireyin enfekte olmadığını göstermez. Test pozitif

ise, sonuç muhtemelen doğrudur, ancak nadiren de olsa test sürecinde meydana gelecek kontaminasyonlar yanlış pozitif sonuçlara neden olabilir. Ayrıca, viral RNA varlığı, her zaman enfeksiyöz virüs varlığını göstermez. Bu nedenle viral RNA saptanması, virüsün o hastadan başkasına bulaşabileceği anlamına gelmez. Bununla birlikte, bu testler, akut hastalık durumunda etkeni gösteren en iyi testlerdendir. Testin doğruluğunun numunenin kalitesinden etkilendiğini bilmek ve numunenin uygun ve güvenli bir şekilde elde edilmesi önemlidir (Altındış ve Toptan, 2020; Eren, 2020).

2.5.3.5. Serolojik testler

Serolojik yöntemler; tanı, temas izleme, sürü bağışıklığı değerlendirmesi ve aşı etkinliği değerlendirilmesi amacı ile giderek daha fazla oranda kullanılmaktadır. Seroepidemiolojik çalışmalar, salgının antikor tespiti yoluyla atak oranını veya ilerleyişini belirlemek için retrospektif değerlendirilmesine yardımcı olmaktadır. Bu çalışmalar, sağlık yetkililerine ve hükümetlere, mevcut pandemi sırasında halk sağlığı önlemlerinin uygulanmasıyla ilgili sağlıklı kararlar almalarına katkı sağlamaktadır (da Silva, 2020). Ayrıca, serolojik testler, RT-qPCR ile negatif sonuç alındığı halde güçlü bir COVID-19 enfeksiyonu şüphesi olan hastaların tanısında yararlı olabilmektedir (Long ve ark., 2020). Bu durumda, akut ve konvelesan dönemde alınan çift serum örnekleri tanısal değere sahip olmaktadır (da Silva, 2020).

SARS CoV-2 tanısı için geçen birkaç ayda içerisinde, enzime bağlı immünosorbent testleri (ELISA), immünofloresans testleri (IFA), kemilüminesans enzim immuno testler (CLIA) ve lateral flow testleri (LFA) olmak üzere çeşitli serolojik testler geliştirilmiştir. Bu yöntemlerden ELISA, CLIA ve LFA, COVID-19'lu hasta örneklerinin birinci basamak taraması için kullanılmaktadır. Serolojik testlerin çoğu, yüksek antijenlik yapıları nedeniyle virüsün nükleokapsid proteini (N), spike proteini (S) veya reseptör bağlanma bölgesine (RBD) karşı geliştirilmektedir (Crawford ve ark., 2020; Tang ve ark., 2020; Walls ve ark., 2020).

Öte yandan, serolojik tetler ile hastalığın akut fazında yanlış negatif sonuçlar alınabileceği unutulmamalıdır. Serolojik testler çalışılırken semptomların başlangıcından itibaren örnek alma süresi dikkate alınmalıdır. Yanlış negatif sonuçlar, bir kişinin enfekte olmadığına dair yanlış varsayıma yol açarak hastalığın

kontrol altına alınmasında engel oluşturabilir. Çoğu hastada enfeksiyondan sonraki ikinci haftada serokonversiyon geliştiğinden, hastalığın ilk 14 günü boyunca elde edilen negatif serolojik test sonuçları dikkatle yorumlanmalıdır (Zhao ve ark., 2020).

Antikorların bir alt grubu olan nötralize edici antikorlar (NAb'ler) enfeksiyonunun başlaması ve yayılımının önlenmesinde etkili antikorlardır. Viral hastalıklara karşı koruma veya tedavi için önemli bir bağışıklık ürünü olarak kabul edilirler. Enfeksiyon veya aşılama yoluyla indüklenen virüse özgü NAb'ler, viral enfeksiyonu bloke etme yeteneğine sahiptir. SARS CoV-2 S proteini hücre yüzey reseptörüne bağlanarak virüsün hücre içine geçişini sağlar. S proteinine karşı oluşan NAb'ler virüs-hücre yüzey reseptörü etkileşimini bloke ederek virüsün hedef hücrelere tutunmasını, hücre içine girişini ve enfeksiyonun yayılımını engeller.

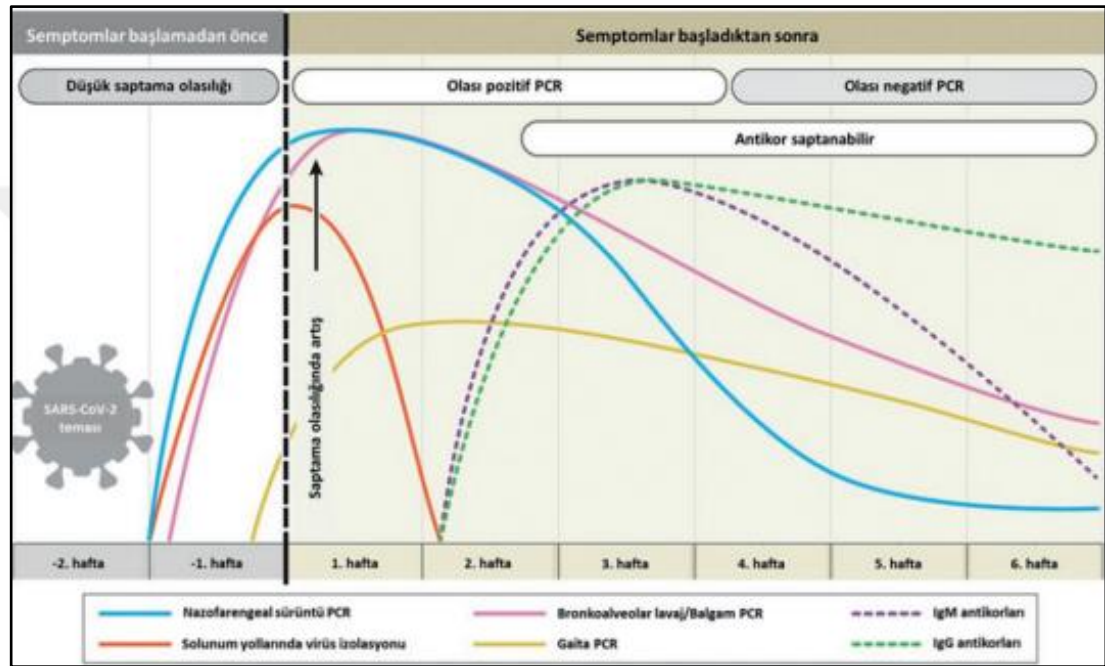
NAb'ler, virüs nötralizasyon testleri (VNT) ile saptanmaktadır. Bu testler, hasta serumunda bulunan özgül antikorların virüsü bloke etmesi ve hücre kültüründe sitopatik etki oluşumunun engellenmesi prensibine dayanmaktadır. Enfeksiyöz SARS-CoV-2 virüsü ile çalışıldığından BSL3 laboratuvarlar ve deneyimli personel gereklidir. Yüksek güvenlik önlemleri gerektirmesi, zahmetli ve zaman alıcı olması nedeniyle rutin kullanımda uygulanması zordur (Bewley ve ark., 2021).

Psödovirus nötralizasyon testlerinde enfeksiyöz SARS CoV-2 virüsü yerine S proteini içeren rekombinant psödovirüsler kullanılır. Rekombinant proteinlerin kullanılması nedeni ile BSL 2 laboratuvarlarda çalışılabilmesi test için avantaj oluşturmaktadır. Testte en çok kullanılan psödovirüsler, veziküler stomatit virüsü ve retrovirüslerdir. Dilüe edilmiş hasta serumu ve rekombinant psödovirüsler hücre kültürüne inoküle edilir. İnkübasyon sonrasında sitopatik etkilerin görülmemesi nötralizan antikor varlığını gösterir.

Temsili virüs nötralizasyon testi [Surrogate virus neutralization test (sVNT)] ELISA mikro kuyucuklarında gerçekleşir. Testin prensibi RBD'nin rekombinant ACE 2'ye spesifik bağlanmasına ve bu bağlanmanın RBD'ye özgü serum antikorları tarafından bloke edilmesine dayanır. Plak tabanı rekombinant RBD antijeni ile kaplanmıştır. Kuyucuklara önce hasta serumu ardından işaretli ACE-2 eklenir. RBD'ye özgü serum antikorları varlığında antikorlarla kaplanmış RBD'nin ACE-2'ye bağlanması önlenir. Böylece, substrat ilavesi sonrasında renk değişikliği olmaz. Renk değişikliğinin

olmaması sNAb varlığı gösterir. Bu testler, enfeksiyöz virüs varlığına veya hücre kültürüne ihtiyaç duyulmaması, BSL 2 laboratuvarlarda çalışılabilmesi ve 1-2 saat gibi kısa sürelerde sonuç alınabilmesi ile rutinde kullanılmaya adaydır (Dinç ve ark. 2021; Embregts ve ark., 2021).

SARS CoV-2 tanısında kullanılan temel yöntemler ve etkin kullanılabileceği dönemler Şekil 2.4.'te sunulmuştur.



Şekil 2.4. SARS CoV-2 tanısında temel yöntemler ve etkin kullanılabileceği dönemler (Şirin ve ark, 2021).

2.5.3.6. Antijen testleri

Antijen tespit testleri, tanıda kullanılabilecek bir diğer alternatif testlerdir. Antijen saptama deneyleri, biyolojik numunelerdeki viral partikülleri hedef çoğaltma basamağı olmadan doğrudan tespit etmek için geliştirilmiştir. Hedef çoğaltma basamağı olmadığı için duyarlılıkları NAAT yöntemlerine göre daha düşüktür. Ancak, viral yükün yüksek olduğu erken hastalık dönemde kullanılmaları ile yüksek duyarlılık sağlanabilmektedir. Bu nedenle bu testlerinin semptom başlangıcından sonraki 5-7 günlük erken dönemde çalışılması önerilmektedir. CDC, SARS CoV-2 antijen testlerini orta duyarlılıkta ve yüksek özgüllükte testler olarak değerlendirmiştir (Dinç ve ark., 2021). Şuanda tanı algoritmasına girmiş bir antijen testi bulunmamaktadır. Ancak PCR test kapasitesinin düşük olduğu ya da PCR test

imkanlarının bulunmadığı durumlarda hızlı bir ön tanı testi olarak kullanılabileceği düşünülmektedir. Örneğin alınma evresi, kalitesi ve viral yük antijen testlerinde yanlış negatif sonuçlara neden olabilmektedir. Klinik şüphe varlığında negatif antijen test sonucu alınmışsa mutlaka PCR testinin yapılması önerilmektedir. Bununla birlikte, diğer solunumsal koronavirüslerle çapraz reaksiyon sonucu yanlış pozitif sonuçlar da alınabilmekte, bu durumda da sonuçların PCR testleri ile doğrulanması gerekmektedir.

2.6. Tedavi ve Korunma

Günümüzde, SARS CoV-2 için etkinliği klinik olarak kanıtlanmış spesifik bir antiviral ajan bulunmamaktadır (Rehman ve ark., 2020). COVID-19, hastaların çoğunda hafif veya orta şiddette seyretmesine rağmen, hastaların %5-10 kadarında tedavi gerektiren şiddetli, potansiyel olarak yaşamı tehdit eden seyir izlemektedir (Hoffmann, 2021; Şimşek ve Ünal 2020). Ancak, hastaların iyileştirilmesi ve pandeminin kısa sürede kontrol altına alınmasında yeni tedavi rejimlerinin geliştirilmesi zaman alıcı, zor ve maliyetlidir. Bu nedenle öncelikle, halihazırda farklı endikasyonlar için kullanılan ilaçlar, FAZ 3 ve 4 çalışmalarına dahil edilip kullanılması tercih edilmektedir. Bu nedenle COVID-19'u ve gelişen komplikasyonları önlemek ve tedavi etmek için halihazırda kullanılmakta olan antiviral ajanlar; küçük moleküllü ilaçlar ve biyoteknolojik ilaçlar (monoklonal antikorlar, aşılar, konvelasan plazmalar ve immünomodülatörler) denenmektedir.

2.6.1. Küçük moleküllü ilaçlar

2.6.1.1. Virüsün konak hücrelerini enfekte etmesini engelleyen ilaçlar

S proteinini hedef alan ilaçlar

Duyarlı hücrelere girişten sorumlu S proteininin RBD içeren S1 alt birimi anti SARS CoV-2 ilaçların ve aşılarının geliştirilmesi için önemli bir hedeftir. Geniş spektrumlu anti viral ajanların SARS CoV-2'ye karşı etkili olabileceği düşünülmektedir (Yang ve ark., 2020).

Arbidol (ABD), birçok zarflı ve zarfsız virüse karşı etkinliği kanıtlanmış geniş spektrumlu bir antiviral ilaçtır (Boriskin ve ark., 2008). ABD'nin SARS-CoV'ye karşı

mekanizması, dynamin2 ile indüklenen membran kesilmesini engelleyerek klatrin aracılı endositozu etkilemesi ve klatrin kaplı yapıların hücre içi birikimini indüklemesidir (Blaising ve ark., 2013). In vitro çalışmalarda 50 μ M ABD'nin SARS-CoV üremesini engellediği gösterilmiştir (Khamitov RA2008). Çin Mühendislik Akademisi akademisyeni Lanjuan Li, ABD'nin (10-30 μ M) SARS CoV-2 enfeksiyonunu ve virüsün oluşturduğu sitopatik etkiyi inhibe edebileceğini göstermiştir. Ancak, ABD'nin COVID-19'u tedavi etmedeki etkinliği henüz tartışmalıdır. Chen ve ark., (2020), COVID-19 olan 134 hastanın tedavisinde ABD'nin semptomları hafifletme veya virüs klirensini hızlandırma üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığını bulmuştur.

TMPRSS2'yi hedef alan ilaçlar

TMPRSS2 enzmi, SARS CoV-2'nin S proteininde konformasyonel değişikliğe sebep olarak füzyon proteininin açığa çıkmasına neden olur. Böylece virüsün hücre içine girişini kolaylaştırır (Hoffmann ve ark., 2020). Klinik olarak onaylanmış bir TMPRSS2 inhibitörü olan kamostat mesilatın, SARS CoV-2'nin insan hücrelerine girişini engellediği gösterilmiştir. Bu da kamostat mesilatı SARS CoV-2 tedavisinde potansiyel bir ilaç haline getirmektedir (Hoffmann ve ark., 2020).

ACE-2'yi hedef alan ilaçlar

ACE-2, insan vücudunun çeşitli organlarında eksprese edilen bir protein reseptörüdür. Virüsün S proteininde yer alan RBD güçlü bir bağlanma serbest enerjisi (50.6 kcal / mol) ile ACE-2'ye bağlanır ve bu şekilde konak hücrelere girer (Xu ve ark., 2020). Bu nedenle, yarışmalı olarak ACE-2 reseptörüne bağlanmayı hedef alan anti SARS CoV-2 ilaçlarının virüsün hücreye girişini önleyebileceği düşünülmektedir.

2.6.1.2. Viral replikasyonla ilişkili proteinleri hedefleyen ilaçlar

Proteaz inhibitörleri

3-kimotripsin benzeri proteaz (3CLpro) ve papain benzeri proteaz (PLpro) RNA'ya bağımlı RNA polimeraz (RdRp, aynı zamanda np12 olarak da adlandırılır) ile kompleks oluşturarak virüsün replikasyonu ve birleşmesinde önemli rollere sahip 2

proteinlerdir (Park ve ark., 2016). Bu nedenle, bu iki proteaz, COVID-19'un tedavisi ve anti SARS CoV-2 ilaçlarının geliştirilmesi için önemli hedefler olarak düşünülmektedir.

HIV proteaz inhibitörleri olan lopinavir ve ritonavir tedavide bir dönem kullanılmış ancak DSÖ, standart bakımla karşılaştırıldığında ölüm oranında çok az azalma sağladığı veya hiç azalma göstermediği gerekçesi ile 4 Temmuz 2020'de Dayanışma Denemesinin lopinavir ve ritonavir kolunu durdurduğunu açıklamıştır (<https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/global-research-on-novel-coronavirus-2019-ncov/solidarity-clinical-trial-for-covid-19-treatments> Erişim tarihi:07.01.2022).

Phizer tarafından nirmatrelvir ve ritonavir etken maddelerinden hazırlanan Paxlovid, özellikle oral yoldan uygulanmak üzere tasarlanmış, araştırma aşamasında bir proteaz inhibitörüdür. Yapılan çalışmalar, Paxlovid'in hastaneye yatış veya ölüm riskini %89 oranında azalttığını göstermiştir (Wen ve ark., 2022). Ulusal Sağlık Enstitüleri (NIH) güncel tedavi rehberinde, hospitalize edilmeyen ancak ciddi hastalık gelişme riski yüksek olan hafif ila orta şiddetteki COVID-19 hastalarının tedavisinde kullanılabileceği ve semptom başlangıcından sonraki ilk 5 gün içinde alınması gerektiği belirtilmiştir (<https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/therapies/statement-on-bebtelovimab/> Erişim Tarihi: 12.03.2022).

RdRp inhibitörleri

RdRp, RNA sentezindeki rolü ve yüksek korunmuşluğu nedeniyle antiviral tedavide optimal bir hedef olmaktadır. Nükleotid analogları en umut verici, geniş spektrumlu viral RdRp inhibitör sınıfı ilaçlar olarak üretilmiştir (Shannon ve ark., 2020).

Bir ön ilaç olan remdesevir (RDV), viral RdRp'ye bağlanarak RNA transkripsiyonunun erken sonlandırılması yoluyla viral replikasyonu inhibe eder. Remdesevirin SARS-CoV ve MERS-CoV üzerinde güçlü inhibitör etkisi gösterilmiştir (Sheahan ve ark., 2017; Agostini ve ark., 2018). Aynı zamanda in vitro çalışmalar ile RDV'nin Vero E6 hücrelerinde düşük konsantrasyonda bile SARS CoV-2'ye karşı güçlü inhibitör etki gösterdiği belirlenmiştir (Wang ve ark., 2020). NIH, güncel tedavi rehberinde, hospitalize edilmeyen ancak ciddi hastalık gelişme

riski yüksek olan hafif ila orta şiddetteki COVID-19 hastalarının tedavisinde kullanılabileceği ve semptom başlangıcından sonraki ilk 7 gün içinde alınması gerektiği belirtilmiştir (<https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/therapies/statement-on-bebtelovimab/> Erişim Tarihi: 12.03.2022).

Favipiravir (FPV), 2014 yılında Japonya'da onay almış bir nükleozid analogudur. İnfluenza A ve B'nin antiviral tedavisi için kullanılmakta olup aynı zamanda Ebola virüsü, Sarı humma virüsü ve enterovirüsü etkili bir şekilde inhibe ettiği bilinmektedir (De Clercq, 2019). In vitro çalışmalar FPV'nin yüksek konsantrasyonlarda SARS CoV-2 enfeksiyonunu azaltabileceğini göstermiştir (Wang ve ark., 2020). Ancak, hastalığı hafif geçiren veya hiç semptomu olmayan 89 hastada yapılan bir klinik çalışma, yukarıdaki sonuçların aksine, FVP'in COVID-19'un erken aşamalarında, etkili olmadığını göstermiştir (<https://english.kyodonews.net/news/2020/07/af1418fc25ba-breakingnews-avigan-clinical-study-shows-no-effectiveness-in-treating-covid-19.html> phrase=Avigan&words=Avigan.). Aynı şekilde bir sistematik derleme ve metaanaliz çalışmasında hafif ila orta şiddetli genel hasta grubunda mortalite açısından önemli bir yararlı etki göstermediği bulunmuştur (Hassanipour ve ark., 2021)

Molnupiravir, SARS CoV-2 için geliştirilen FAZ 2 ve 3 çalışmalarında virüse karşı etkili olduğu gösterilmiş ilk oral, doğrudan etkili antiviral ilaç olmuştur. İlacın uygun bir güvenlik ve tolere edilebilirlik profiline sahip olduğu gösterilmiştir. Çalışmalar, molnupiravirin hastaneye yatış ve ölüm riskini yaklaşık olarak %50 oranında azalttığını bildirmiştir (Fischer ve ark., 2021). Ancak, NIH tedavi rehberinde molnupiravirin, nirmatrelvir/ritonavir, remdesivir veya sotrovimaba erişimin olmadığı durumlarda tercih edilmesi gerektiği bildirilmiştir (<https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/therapies/statement-on-bebtelovimab/> Erişim Tarihi: 12.03.2022).

2.6.2. Biyoteknolojik ilaçlar

2.6.2.1. İmmünomodülatörler

IL-1 İnhibitörleri

COVID-19 hastalarında endojen IL-1'in yükseldiği görülmüştür. Anakinra, rekombinant insan IL-1 reseptör antagonistidir (rhIL-1ra). Romatoid artrit (RA) ailesel akdeniz ateşine kadar değişen çeşitli enflamatuvar durumları tedavi etmek için onaylanmış ve ayrıca sitokin salınım sendromu ve makrofaj aktivasyon sendromu/ikincil hemofagositik lenfositosis gibi durumlarda kullanılmıştır. Yapılan çalışmalarda, anakinranın COVID-19 hastalarının solunum fonksiyonlarında ilerleyen düzelme ve yüksek sağ kalım ile ilişkili olduğu ayrıca mekanik ventilasyon ihtiyacını azalttığı bulunmuştur (Cavalli ve ark., 2020; Dimopoulos ve ark., 2020).

Canakinumab, IL-1 β 'ya karşı geliştirilen bir insan MAb'dir. SARS CoV-2 için etkinliğinin değerlendirildiği çalışma ile canakinumabın güvenli olduğu, iyi tolere edildiği ve sistemik inflamatuvar yanıtta hızlı bir azalma ve oksijenasyonda bir iyileşme ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Ucciferri ve ark., 2020).

IL-6 İnhibitörleri

IL-6, lenfositler, monositler ve fibroblastlar dahil olmak üzere çeşitli hücre tipleri tarafından üretilen bir pleiotropik, proinflamatuvar sitokindir. COVID-19 ile ilişkili sistemik inflamasyon ve hipoksik solunum yetmezliği, artmış IL-6, C-reaktif protein, D-dimer ve ferritin seviyeleri gibi artmış sitokin salınımı ile ilişkilidir (Wang Z., 2020; Zhou ve ark., 2020). Sarilumab, siltuximab ve tocilizumab rekombinant IL-6 antagonist monoklonal antikorlardır. Ancak, COVID-19'un tedavisi için IL-6 inhibitörlerinin kullanımının değerlendirilmesi için yeterli veri bulunmamaktadır (Yang ve ark., 2020).

Kök hücreler

SARS CoV-2, akciğerde önemli bir sitokin fırtınasını uyarabilmektedir (Chen ve ark., 2020). Bu nedenle, sitokin fırtınasından kaçınmak, COVID-19 ile enfekte hastaların tedavisinde temel strateji olabilir. Kök hücreler, bağışıklık sisteminin aşırı aktivasyonunu inhibe edebilir, sitokin fırtınasını önleyebilir veya hafifletebilir, mikro

ortamı iyileştirerek endojen onarımı teşvik edebilir, akciğerlerdeki akut inflamasyonun ilerlemesini inhibe edebilir ve solunum sıkıntısı semptomlarını hafifletebilir. Çin Halk Cumhuriyeti Bilim ve Teknoloji Bakanlığı tarafından yayınlanan kılavuz, şiddetli veya kritik COVID-19 hastalarına kök hücre tedavisi önermiştir (<https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/therapies/cell-based-therapy/> Erişim tarihi: 08.01.2022).

2.6.2.2. Monoklonal antikorlar

Monoklonal antikorlar (mAb'ler), tek bir B hücresi klonu tarafından üretilen oldukça homojen antikorlardır. mAb'ler, serum tedavisi ve intravenöz immünoglobulin preparatlarına kıyasla özgüllükleri, saflıkları, düşük kan kaynaklı patojen kontaminasyonu riski ve güvenlikleri nedeniyle virüs bağlanmasını veya girişini engelleyen immünoterapiler arasında ilk seçenektir. MAb'ler tarafından SARS-CoV ve MERS-CoV'deki S proteinlerini hedeflemenin umut verici sonuçlar, araştırmacıları bunları SARS CoV-2'ye karşı kullanmaya teşvik etmiştir. Virüs yüzeyindeki farklı epitoplara tanıyan mAb'lerin bir karışımı veya farklı mAb'lerin bir kombinasyonu, virüs nötralizasyonunun etkinliğini artırabileceği düşünülmektedir (Shanmugaraj ve ark., 2020).

NIH, güncel tedavi rehberinde, sotrovimabın hospitalize edilmeyen ancak ciddi hastalık gelişme riski yüksek olan hafif ila orta şiddetteki COVID-19 hastalarının tedavisinde kullanılabileceği ve semptom başlangıcından sonraki ilk 7 gün içinde alınması gerektiği belirtilmiştir. Ayrıca, nirmatrelvir/ritonavir, remdesevir veya sotrovimaba erişimin olmadığı durumlarda başka bir mAb olan bebtelovimabın kullanılabileceğini bildirmiştir. (<https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/therapies/statement-on-bebtelovimab/> Erişim Tarihi: 12.03.2022).

2.6.2.3. Konvelesan plazma

Konvelesan plazma (CP), SARS, MERS ve Ebola gibi bulaşıcı hastalıkları tedavi etmek için başarıyla kullanılmıştır ve bir dizi laboratuvar (örn. Viral yük, sitokin yanıtları) ve klinik sonuçları (özellikle ölüm oranı) olumlu şekilde etkilemiştir SARS CoV-2'ye karşı antikor içeren CP, virüsü baskılamaya ve inflamatuvar yanıtı

değiştirmeye yardımcı olduğu için COVID-19 tedavisinde potansiyel bir tedavi olarak düşünülmektedir. FDA, CP'nin enfeksiyona karşı etkili olabileceğini belirtmiştir (Tanne, 2020; Yang ve ark., 2020). Çin, ilerlemiş, şiddetli ve kritik COVID-19 hastalarını tedavi etmek için CP'yi kullandıklarını rapor etmiştir (Yang ve ark., 2020). Ancak yapılan son çalışmalar, COVID-19 tedavisinde CP tedavisinin standart tedaviye ilaveten uygulanmasında bir fayda olmadığını ve hastalık progresyonunu önleme açısından plasebo ile benzer etkinlikte olduğunu göstermiştir (RECOVERY Collaborative Group, 2021; Korley ve ark., 2021).

2.6.3. Aşılar

Güvenli ve etkili aşının geliştirilmesi ve kullanılması, salgının kontrol edilmesinde en önemli stratejilerdendir. Yapılan çalışmalar, COVID-19 pandemisinin sona ermesi için gerekli toplum bağışıklığının %60-70 olması gerektiğini belirtmiştir. Toplumsal bağışıklığı sağlamanın en pratik yolu ise aşılama. Toplumun doğal yol ile hastalığı geçirerek bağışıklık kazanması yüksek düzeyde sosyal ve ekonomik kayıplara neden olacaktır. Nitekim, İsveç salgına karşı bir önlem almadan sürü bağışıklığının doğal yoldan kazanılması stratejisini izlemiş ve nüfus başına atfedilen ölüm oranlarının yüksek olması ile bu yöntemden vazgeçmiştir (Jung ve ark., 2020). Elde edilen bu bilgi ve tecrübeler, salgının önlenmesinde aşı bağışıklığının önemini ve gerekliliğini göstermiştir.

11 Ocak 2020'de Çin tarafından SARS CoV-2'nin genetik dizisinin paylaşılması, küresel aşı araştırma ve geliştirme faaliyetlerini tetiklemiştir. SARS CoV-2'nin hücreye bağlanması ve insan hücrelerinin enfeksiyonunun ilk üç boyutlu atomik ölçekli haritası aşı tasarımı ve geliştirilmesine rehberlik etmek için atomik düzeyde bilgi sağlamıştır (Wrapp ve ark., 2020). SARS CoV-2 için potansiyel aşı hedefleri de belirlenmiştir. RBD, SARS CoV-2 aşı stratejisinin temel bir bileşeni olarak düşünülmektedir. Şu anda, SARS CoV-2'ye karşı canlı zayıflatılmış aşı, inaktive virüs aşısı, rekombinant protein aşısı, vektör aşısı ve nükleik asit aşısı (mRNA ve DNA aşısı) gibi farklı teknolojileri kullanan çok sayıda aşı üretilmektedir (Le ve ark., 2020). DSÖ tarafından acil kullanım onayı almış aşılar Tablo 2.3.'te sunulmuştur.

2.6.3.1. İnaktif aşılar

İnaktive aşilar, SARS CoV-2'nin hücre kültüründe genellikle Vero hücrelerinde çoğaltılması ve ardından virüsün kimyasal inaktivasyonu ile üretilmektedir (Gao ve ark., 2020; Wang ve ark., 2020). Üretimleri nispeten kolaydır ancak, hücre kültüründe virüsün üretilmesi gerekliliği ve biyogüvenlik seviyesi 3 laboratuvar koşullarına duyulan gereksinim inaktif aşı üretimini sınırlandırmaktadır. Bu aşilar genellikle kas içinden uygulanır ve alum (alüminyum hidroksit) veya diğer adjuvanları içerir. Bağışıklık sistemi tam bir virüs partikülü ile karşılaştığından bağışıklık tepkisi sadece SARS CoV-2'nin S proteinine değil aynı zamanda M, N ve E glikoproteinlerini karşı da oluşabilmektedir. Çin CoronaVac, BBIBP-CorV, WIBP-CorV, Hint Covaxin, Rus CoviVac ve Valneva bu teknikle geliştirilen aşılardır (https://en.wikipedia.org/wiki/COVID-19_vaccine#cite_note-london-3).

2.6.3.2. Canlı zayıflatılmış aşilar

Canlı zayıflatılmış aşilar, genetik olarak zayıflatılmış virüs kullanılarak üretilir. Genetik olarak zayıflatılmış virüs, sınırlı bir ölçüde replike olur, hastalığa neden olmaz, doğal enfeksiyonla indüklenene benzer immün tepkileri indükler. Zayıflatma işlemi, virüsü olumsuz koşullara adapte ederek (örneğin, daha düşük sıcaklıkta büyüme, insana ait olmayan hücrelerde büyüme) veya virüsün rasyonel modifikasyonu (örneğin, kodon de-optimizasyonu veya sorumlu genlerin silinmesi) ile sağlanabilir (Broadbent ve ark., 2016; Talon ve ark., 2000). Bu aşiların en önemli avantajı, intanazal olarak uygulanan aşının üst solunum yolunda mukozal immün tepki oluşturmastır. Aşılanmış bireylerde virüs az da olsa replikasyona devam ettiğinden, hem yapısal hem de yapısal olmayan viral proteinlere karşı antikor ve hücresel bağışıklık tepkileri oluşturabilir. Ancak, güvenlik endişeleri, zaman alıcı olması ve teknik olarak zor olan virüsü modifiye etme ihtiyacı bu aşilar için önemli dezavantaj olmaktadır. Şu anda sadece üç canlı atenüe aşı preklinik geliştirme aşamasındadır (Krammer, 2020).

2.6.3.3. Rekombinant protein aşiları

Rekombinant protein aşiları; rekombinant spike protein bazlı aşilar, rekombinant RBD bazlı aşilar ve virüs benzeri partikül (VLP) bazlı aşilar olmak üzere 3 gruba ayrılmaktadır. Rekombinant proteinler, böcek hücreleri, memeli hücreleri, maya ve

bitkiler RBD bazlı aşılar da Escherichia coli 39'da da sentez edilebilmektedir (Amanat ve ark., 2020; Chen ve ark., 2020; Draft ve ark., 2020). Bu aşılardan avantajı, virüsün belli antijenik yapılarının canlı virüse ihtiyaç olmadan üretilibilmeleridir. Ancak, Spike proteinini sentezlemek nispeten zordur (Amanat ve ark., 2020). RBD'yi sentezlemek daha kolaydır. Bununla birlikte, tek başına eksprese edildiğinde nispeten küçük bir proteindir ve güçlü nötralize edici antikolar RBD'ye bağlansa da, tam uzunluktaki sivri uçta bulunan diğer nötrleştirici epitoplardan yoksundur. Nisan 2021 itibariyle, EpiVacCorona, RBD- Dimer, Novavax, SOBERANA 02 ve Sanofi–GSK aşısı rekombinant olarak tasarlanmış aşılardır (https://en.wikipedia.org/wiki/COVID-19_vaccine#cite_note-london-3).

2.6.3.4. Vektör aşıları

Vektör aşıları; kopyalanmayan vektör aşıları, kopyalanan vektör aşıları ve inaktive vektör aşıları olmak üzere 3 gruba ayrılır. Kopyalanmayan vektör aşıları, geliştirilmekte olan büyük bir aşı grubunu temsil eder. Bu tür aşılar tipik olarak, spike proteinini eksprese etmek üzere tasarlanmış ve genomunun parçalarının silinmesiyle in vivo replikasyonu inhibe edilmiş başka bir virüse dayalıdır. Kopyalanan vektör aşıları, S proteini ifade etmek üzere tasarlanmış olan zayıflatılmış veya aşı virüs suşlarından üretilir. Bazı durumlarda, verimli bir şekilde çoğalmayan ve insanlarda hiçbir hastalığa neden olmayan hayvan virüsleri de kullanılmaktadır. Bu yaklaşım, daha güçlü bir bağışıklık uyarımı ile sonuçlanabilir, çünkü vektör aşılanmış bireyde bir dereceye kadar çoğalır ve sıklıkla aynı zamanda güçlü bir doğal bağışıklık tepkisini tetikler. Bu vektörlerden bazıları, mukozal immün yanıtları tetikleyebilecek mukozal yüzeyler yoluyla da uygulanabilir. İnaktive edilmiş virüs vektörleri, şu anda geliştirilmekte olan bazı SARS CoV-2 aşıları, yüzeylerinde S proteini sergileyen ancak kullanımdan önce etkisiz hale getirilen viral vektörlere dayanmaktadır. Bu yaklaşımın avantajı, inaktivasyon işleminin vektörleri daha güvenli hale getirmesidir, çünkü bunlar, bağışıklığı baskılanmış bir konakta bile çoğalamazlar. Standart viral vektörler kullanılarak, bağışıklık sistemine sunulan antijen miktarı kolaylıkla kontrol edilemez; bununla birlikte, inaktive edilmiş vektörlü aşılarda, inaktive veya rekombinant protein aşılarında olduğu gibi, kolaylıkla standardize edilebilir (Krammer, 2020). Oxford-

Astra Zeneca aşısı, Sputnik V, Johnson & Johnson ve Convidecia SARS CoV-2 için geliştirilmiş vektör aşılardır.

2.6.3.5. DNA aşıları

DNA aşıları, bakterilerden büyük ölçekte üretilebilen plazmit DNA'ya dayanmaktadır. Tipik olarak, bu plazmitler, S proteinini kodlayan geni içerir. Bu teknolojilerin en büyük avantajı, *E. coli*'de büyük ölçekli üretim olasılığı ve ayrıca plazmid DNA'nın yüksek stabilitesidir. Bununla birlikte, DNA aşıları genellikle düşük immünojenite gösterir. Şu anda SARS CoV-2'ye karşı dört farklı DNA aşısı adayı faz I/II klinik deneylerindedir (Krammer, 2020).

2.6.3.6. RNA aşıları

RNA aşıları, nispeten yeni bir gelişmedir. DNA aşılarına benzer şekilde, antijenin kendisi yerine genetik bilgi aktarılarak antijenin aşılanan kişinin hücrelerinde eksprese edilmesi sağlanır. Bu aşı tekniğinde, mRNA ya da kopyalama yeteneği olan bir RNA parçası kullanılmaktadır. Bu teknolojinin avantajları, aşının tamamen in vitro olarak üretilebilmesidir. Bununla birlikte, yeni bir teknoloji olması birçok bilinmezliğe neden olmaktadır. RNA aşıları, donmuş depolama gerektirir ve büyük ölçekli üretim ve uzun vadeli depolama kararlılığı açısından hangi sorunlarla karşılaşılacağı belirsizdir. Ek olarak bu aşıların güçlü mukozal bağışıklık indüklemeye olasılığı düşüktür. Pfizer–BioNTech, Moderna, CureVac SARS CoV-2 için geliştirilmiş mRNA aşılardır (https://en.wikipedia.org/wiki/COVID-19_vaccine#cite_note-london-3; Krammer, 2020).

Tablo 2.3. WHO tarafından onay almış COVID-19 aşıları ve özellikleri.
(<https://covid19.trackvaccines.org/agency/who/> Erişim Tarihi: 26.01.2022)

Üretici firma	Ülke	Aşı adı	Ulusal Düzenleyici Otorite	Aşı tipi	Karar tarihi
Novavax	Çek Cumhuriyeti	Nuvaxovid	EMA	Protein Altbirim	20.12.2021
Serum Institute of India	Hindistan	Covavax (Novavax formülasyonu)	CDSCO	Protein Altbirim	17.12.2021
Moderna	İspanya	Spikevax	EMA	RNA	30.04.2021
Pfizer/BioNTech	Alman	Comirnaty	EMA	RNA Aşısı	31.12.2020
Janssen (Johnson&Johnson)	Belçika	Ad26.COV2.S	EMA	Non- replikatif Vektör	12.03.2021
Oxford/AstraZeneca	Kore	Vaxzevria	FDA	Non- replikatif Vektör	15.02.2021
Serum Institute of India	Hindistan	Covishield (Oxford/ AstraZeneca formülasyonu)	CDSCO	Non- replikatif Vektör	15.02.2021
Bharat Biotech	Hindistan	Covaxin	CDSCO	İnaktif Aşı	03.11.2021
Sinopharm (Beijing)	Çin	Covilo	NMPA	İnaktif Aşı	07.05.2021
Sinovac	Çin	CoronaVac	NMPA	İnaktif Aşı	01.06.2021

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Etik Kurul Onayı

Bu tez çalışması için T.C. Sağlık Bakanlığı Bilimsel Araştırma Platformu (2020-05-04T00_00_36) onayı ve Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi İlaç Dışı Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı (Tarih: 29.05.2020 ve Karar No: 16214662/050.01.04/88) alındı (Ek 1).

3.2. Çalışma Grubu

Bu çalışmaya Mayıs-Haziran 2020 tarihlerinde Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde NF/OF kombine sürüntü örneklerinde SARS CoV-2 RT-PCR testi pozitif olan ve COVID-19 tanısı ile yatışı yapılan toplumdan/sağlık personeli olmayan 47 COVID-19 hastası (TCH) dahil edildi. Hastanede yatış ve gözlem gerektiren bu hastalara ait demografik bilgiler ile altta yatan hastalık (kronik hastalık vb.) verileri hastane bilgi yönetim sistemi üzerinden alındı.

Hastalar, hastalığın şiddetine göre ciddi ve ciddi olmayan grup olmak üzere iki grupta değerlendirildi. Solunum yetmezliği (solunum hızı ≥ 30 /dk, $PaO_2/FiO_2 < 300$, $SpO_2 < 90$ veya 5 L/dk oksijen tedavisine rağmen $PaO_2 < 70$ mmHg), şok veya multiorgan disfonksiyonu olan hastalar klinik seyri ciddi olan hasta grubuna; yukarıdaki kriterleri karşılamayan daha hafif hastalar ciddi olmayan hasta grubuna dahil edildi.

Ayrıca, bu çalışmaya Kasım-Aralık 2020 tarihleri arasında NF/OF kombine sürüntü örneklerinde SARS CoV-2 RT-PCR testi pozitif bulunmuş ve COVID-19 hastalığını geçirmiş olan 30 sağlık çalışanı COVID-19 hastası (SCH) dahil edildi. Bu gruptaki kişilerin demografik bilgileri ve altta yatan hastalık (kronik hastalık vb.) verileri hastane bilgi yönetim sistemi üzerinden alındı. Hastalığın seyri sırasındaki semptomlar hakkında bilgi toplamak amacı ile hastalara mini anket uygulandı.

3.3. Örneklerin Alınması, Transportu ve Saklanması

Yeni koronavirüsün vücudun hangi bölümlerinde ne kadar süre ile bulunduğunu belirlemek için çalışmaya dahil edilen TCH (n= 47) grubundaki hastalardan ilk bir aylık dönemde; 0, 3, 7, 14 ve 28. günlerde orofarenks, nazofarenks, balgam, kan, dışkı ve idrar örnekleri alındı.

Orofarinks ve nazofarinks sürüntü örnekleri dakron uçlu eküvyon çubukla (Bioeksen, Türkiye) alınarak direkt viral inaktivasyon ve izolasyon solüsyonu (vNAT COVID-19 Transfer Tüpü, Bioeksen, Türkiye) içeren tüplere konularak oda ısısı şartlarında COVID-19 PCR laboratuvarına transfer edildi. Balgam ve idrar örnekleri steril vida kapaklı kaplara, dışkı örnekleri temiz kaplara, kan örnekleri EDTA'lı tüplere alındı ve oda ısısı şartlarında COVID-19 PCR laboratuvarına transfer edildi. Nazofarinks, orofarinks, balgam ve idrar örnekleri Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında aynı gün çalışıldı. Çalışılan örneklerin yanında dışkı ve kan örnekleri de daha sonra çalışılmak üzere alikotlanarak -80°C'de saklandı.

TCH (n= 47) grubundaki hastalarda anti SARS CoV-2 IgG antikor ve serum NAb düzeylerinin belirlenmesi için 0, 3, 7, 14, 28, 60, 90 ve 120. günlerde vakumlu jelli biyokimya tüplerine kan örnekleri alındı. Hastalığı geçiren SCH (n= 30) grubundan ise anti SARS CoV-2 IgG düzeyleri ve temsili (surrogate) serum nötralizan antikor seviyelerinin belirlenmesi için 14, 28, 60, 90, 120 ve 150. günlerde vakumlu jelli biyokimya tüplerine kan örnekleri alındı. Alınan kan numuneleri pıhtılaşma sürecini tamamladıktan sonra 1500 g'de 10 dk santrifüj edildi. İçinde pıhtı bulunan ve lipemik numuneler çalışma dışı bırakıldı. Santrifüj sonucunda elde edilen serum örnekleri alikotlanarak çalışılincaya kadar -80°C'de saklandı. Çalışma günü bütün numuneler oda ısısına getirilerek homojen olması sağlandı.

TCH grubundaki hastalardan yatışlarının ilk günü alınan kan örneklerinde çalışılan hematolojik (WBC, PLT, NEU, LYM) ve biyokimyasal (D-dimer, CRP, PCT, ferritin,) parametrelere ait veriler daha sonra analiz edilmek üzere hastane bilgi yönetim sistemi üzerinden alındı.

3.4. Nükleik Asit İzolasyonu

3.4.1. Solunum yolu örnekleri ve idrar örneklerinden nükleik asit izolasyonu

Dakron çubukla alınan NF ve OF örnekleri vNAT tüplerine alındığından herhangi bir nükleik asit izolasyonu ön basamağına gerek kalmadan vorteks işleminden sonra 5 µl örnek alınarak direkt amplifikasyon aşamasına geçildi.

Balgam ve idrar örneklerinden nükleik asit izolasyonu için Bio-Speedy® Viral Nükleik Asit İzolasyon Kiti (vNAT®, Bioeksan, Türkiye) kullanıldı. Bu amaçla, homojenize edilen 100 µl klinik örneğin üzerine 100 µl vNAT® eklendi. Karışım 15 saniye vortekslenerek 5 dakika oda ısısında inkübe edildi. Karışımdan 5 µl alınarak amplifikasyon aşamasına geçildi.

3.4.2. Dışkı örneklerinden nükleik asit izolasyon

Dışkı örneklerinden viral RNA izolasyonu için QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen, Almanya) kullanıldı. Uygulanan izolasyon prosedürü sırasıyla;

1. 1.5 ml'lik bir ependorf tüpte 140 µl ön hazırlık uygulanmış örnek, 560 µl AVL tampon ve 5,6 µl taşıyıcı RNA ile karıştırıldı (AVL tampon ve taşıyıcı RNA taze hazırlandı).
2. 10 dk oda ısısında inkübe edildi (kit talimatlarına göre bu sürenin 10 dk'yı geçmemesine dikkat edildi).
3. İnkübasyon sonunda 560 µl etanol (%96-99) eklenerek vorteks işlemi uygulandı.
4. Hazırlanan karışımlardan 630 µl alınarak toplama tüpü içine yerleştirilmiş spin kolonlara yüklendi.
5. Spin kolonlar 6000 g'de 1 dk santrifüj edildi.
6. Hazırlanan karışımlardan geriye kalan 630 µl örnek aynı spin kolona yüklenerek 5. aşama tekrar edildi.
7. Santrifüj sonrasında kolonlar yeni toplayıcı tüplere yerleştirilerek 500 µl AW1 eklendi.
8. 6000 g'de 2 dk santrifüj edildi.
9. Santrifüjden çıkan kolonlar, yeni toplama tüpleri içine yerleştirilip, 500 µl AW2 eklendi.
10. 20.000 g'de 3 dk santrifüj edildi.

11. Santrifüjden çıkan kolonlar, yeni toplama tüpleri içine yerleştirilip, santrifüj işlemi 20.000 g' de 1 dk tekrar edildi.
12. Santrifüjden çıkan kolonlar, yeni 1,5 ml'lik steril ependorf tüplere konuldu.
13. Her kolona 60 µl elüsyon tamponu (AVE buffer) eklenip oda ısısında 1 dk inkübe edildi.
14. 6000 g'de 1 dk santrifüj edildikten sonra kolonlar çöpe atılıp, içerisinde 60 µl RNA örneği bulunan 1,5 ml'lik ependorf tüpler etiketlenerek PCR reaksiyonunda kullanılmak üzere çalışmaya alındı.

3.4.3. Kan örneklerinden nükleik asit izolasyonu

Kan örneklerinden viral RNA izolasyonu QIASymphony®DSP Virus/Pathogen Kit (Qiagen, Almanya) ve QIASymphony otomatize izolasyon sistemi kullanılarak üretici firma talimatlarına göre yapıldı.

3.5. SARS CoV-2 RT-PCR Analizi

SARS CoV-2 RT-PCR çalışmasında Bio-Speedy® Double Gene RT-qPCR kiti (Bioeksan, Türkiye) kullanıldı. Bu kit, SARS CoV-2 spesifik N ve ORF1ab gen bölgelerini hedeflemektedir.

Nükleik asit izolasyonu yapılan örneklerden veya direkt vNAT tüpünden 5 µL örnek, 5 µL primer içeren oligomix ve 10 µL master mix ile amplifikasyon aşamasına geçildi. Hazırlanan PCR tüpleri, aşağıda belirtilen programa göre ayarlanmış PCR cihazına yerleştirilerek, amplifikasyonun gerçekleşmesi sağlandı (Tablo 3.1.)

Tablo 3.1. SARS CoV-2 RT-PCR reaksiyon koşulları.

Reaksiyon Kurulumu		qPCR Programı		
İçerik	Reaksiyon	Döngü Sayısı	Sıcaklık	Süre
2X Prime Script Mix 10 µL		1	52°C	3 dk
		1	95°C	10 sn
CVD Di Oligo Mix 5 µL		5	95°C	1 sn
			60°C	12 sn
Template Nükleik Asit 5 µL		40	85°C	1 sn
			55°C	1 sn
Toplam Reaksiyon Hacmi	20 µL		FAM (Green)/HEX (Yellow)	

Reaksiyon sonunda döngü eşik değeri (cycle of threshold, CT) 38'in altında olan ve sigmoidal olduğu gözlenen eğriler SARS CoV-2 RNA için pozitif olarak yorumlandı.

3.6. SARS- CoV-2 IgG Antikor Tayini

Serum örneklerinde SARS CoV-2 virüsünün N ve S proteinine karşı oluşmuş özgül IgG antikorları saptamak için COVID-19 IgG kiti (Dia-Pro, İtalya) kullanıldı. Çalışmalar, tam otomatize mikro ELISA cihazı (Grifols, Triturus, İspanya) ile yapıldı.

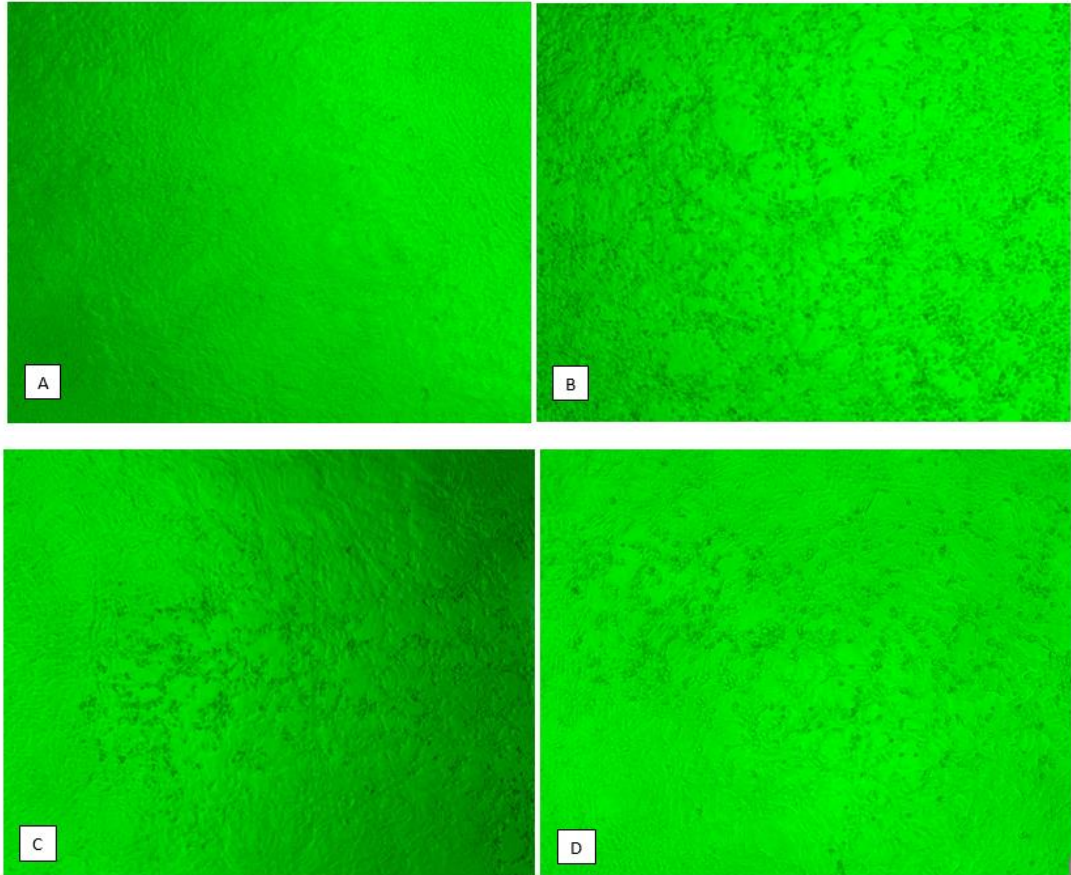
Test prosedürü aşamaları (pipetleme, inkübasyon, yıkama ve okuma işlemleri) üretici firma talimatlarına uygun olarak yapıldı. Kullanılan kit ile anti SARS CoV-2 IgG serum titreleri semi-kantitatif olarak ölçülebilmektedir. Sonuçlar, cut off indeks veya signal of cut off (S/CO) olarak verilebilmektedir. Cut off indeks (S/CO) değerleri; <0.9 olanlar negatif, $0.9 \leq - < 1.1$ arasında olanlar gri zon (sınır değer), ≥ 1.1 olanlar pozitif kabul edildi.

3.7. Hücre Kültürü ile Nötralizan Antikor Tayini

Hücre kültürü ile serum NAb seviyeleri Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü BSL3 laboratuvarında çalışıldı.

VNT testine başlanmadan önce serum örnekleri 56°C'de 30 dk inkübe edilerek kompleman inaktivasyonu yapıldı. Test, 96 kuyucuklu mikro plak içerisinde

gerçekleştirildi. Serum örneklerinden 250 µL alınarak 1/4'den 1/2048 'e kadar her bir dilüsyondan 4 adet olacak şekilde DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) ile çift katlı dilüsyonları yapıldı. Her dilüsyon üzerine eşit miktarda (250 µL) 100TCID₅₀/ml virus eklenerek 37°C'de 1 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında dilüe edilmiş serum ve virus karışımından 200 µL alınarak mikro plaklarda bulunan monolayer VERO E6 hücre kültürlerine eklendi. Bu plaklar, 37°C'de %5 CO₂'li ortamda 5 gün inkübe edilmiş olup bu süre zarfında invert mikroskop ile günlük olarak sitopatik etki (CPE) yönünden kontrol edildi. Her bir hasta için CPE görülmeyen en düşük titrasyon belirlendi.



Resim 3.1. Hücre kültüründe saptanan CPE'ler. A: Negatif kontrol (sadece hücre kültürü); B: Pozitif kontrol (hücre kültürü + virüs); C ve D: anti SARS CoV-2 IgG/IgM antikor pozitif hasta serumu (hücre kültürü + virüs + hasta serumu).

3.8. Mikroelisa Yöntemi ile Temsili (Surrogate) Nötralizan Antikor Tayini

Temsili (surrogate) NAb (sNAb) düzeylerinin belirlenmesi amacıyla ACE2-RBD Neutralization Assay kiti (Dia-Pro, İtalya) kullanıldı. Çalışmalar, tam otomatize mikro ELISA cihazı (Grifols, Triturus, İspanya) ile yapıldı. Test, virüs spike (S) proteini reseptör bağlama alanına (RBD) karşı oluşan IgG tipi antikorları semikantitatif olarak saptamaktadır. Serum örneklerinde bulunan antikorların nötralize edici etkisi, konjuge RBD ile kaplanmış 96 kuyucuklu mikro plaklar kullanılarak araştırıldı. Bu yöntemde; çeşitli dilüsyonlarda serum örnekleri kuyucuklara pipetlendi. Her hasta serumunun 4 farklı dilüsyonu (1/2, 1/8, 1/16 ve 1/32) test edildi. İnkübasyon (60 dk) ve yıkama aşamasından sonra biotinle işaretli liyofilize ACE-2 reaktifi (konjugat 1), 4 ml streptavidin+horseradish peroksidaz reaktifi (konjugat 2) içinde çözülerek hazır hale getirilen nihai konjugat reaktifi kuyucuklara eklendi. Tekrar inkübasyon (45 dk) ve yıkama aşamasından sonra substrat reaktifi, 15 dakika sonrasında stop solüsyonu eklendi. 450/620-630 nm de mikropalaklar okutuldu.

Hastanın serum örneğinin çeşitli dilüsyonlarında yeteri kadar antikor bulunduğu durumda kuyucuk yüzeylerine bağlı durumda olan RBD antijeni ile birleşeceğinden daha sonra eklenen konjugat karışımı (ACE-2-biotin+streptavidin-HRP) ile bağlanma meydana gelmeyecek ve substrat ilavesi ile renklenme olmayacak, diğer bir deyişle yeterli serum antikor düzeyi varsa bu kuyucukta düşük absorbans düzeyleri gözlenecektir. Bu doğrultuda okunan absorbanslara göre S/CO değerleri cihaz tarafından otomatik olarak hesaplandı. Üretici talimatlarına göre S/CO değeri, >1 ise pozitif kabul edildi. Böylece pozitif kuyucukların hasta serumunun hangi dilüsyonuna karşılık geldiği belirlenerek, 1/2 titre düşük, 1/4-1/16 titre orta, $\geq 1/32$ yüksek titre kabul edildi.

3.9. İstatistiksel Analizler

Çalışmada kullanılan sayısal değişkenler normal dağılıma uygunluk yönünden Kolmogorov-Smirnov normallik testi ile incelendi ve bazı değişkenler dışında tüm değişkenlerin normal dağılıma sahip olmadığı görüldü. Buna göre bağımsız iki grup arasındaki karşılaştırmalarda Man Whitney U testi, bağımlı ikiden fazla grup

arasındaki karşılaştırmalarda Friedman testi kullanıldı. Friedman testi sonucunda önemli fark bulunması durumunda ikili karşılaştırmalarda Dunn testi kullanıldı.

Normal dağılıma sahip sayısal değişkenler aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma, normal dağılıma sahip olmayan sayısal değişkenler ise ortanca [çeyreklikler arası genişlik] biçiminde gösterildi.

Kategorik değişkenler yönünden gruplar arası karşılaştırmalarda Fisher kesin ki kare testi kullanıldı. Kategorik değişkenler sayı ve yüzde ile gösterildi.

Çalışmada Tip I hata (α) 0.05 olarak öngörölmüş olup p değerleri 0.05'in altında hesaplandığında istatistiksel olarak önemli kabul edildi. Tüm istatistiksel hesaplamalar istatistiksel yazılım programı ile gerçekleştirildi. (IBM SPSS Statistics, Version 23.0. Armonk, NY: IBM Corp.)

4. BULGULAR

4.1. TCH Grubu Hastaların Demografik Özellikleri

Çalışmaya dahil edilen TCH grubundaki hastaların 26'sı erkek, 21'i kadın olup ortalanca yaş 55 bulunmuştur. Hastalar komorbidite varlığı açısından araştırıldığında; %48,9'unda (n=23) komorbidite saptanmazken, %51,1'nin (n=24) en az bir komorbid hastalığa sahip olduğu görülmüştür.

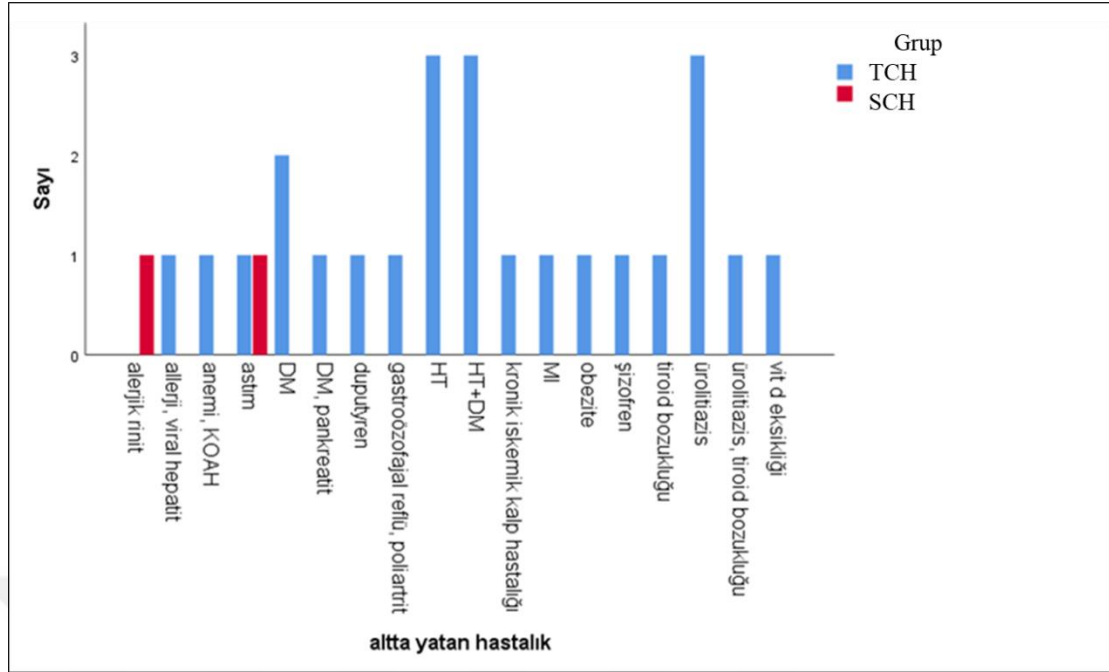
Hastalarda en sık görülen komorbid hastalıklar; HT (%6,4), HT-DM (%6,4), ürolitiazis (%6,4) ve DM (%4,3) olarak belirlenmiştir. Bunun yanı sıra, 1 (%2.1) hastada allerji-viral hepatit, 1(%2.1) hastada anemi-KOAH, 1 (%2.1) hastada astım, 1 (%2.1) hastada DM-pankreatit, 1 (%2.1) hastada duputyren, 1 (%2.1) hastada gastroözofajal reflü-poliartrit, 1 (%2.1) hastada kronik iskemik kalp hastalığı, 1 (%2.1) hastada MI, 1 (%2.1) hastada obezite, 1 (%2.1) hastada şizofren, 1 (%2.1) hastada tiroid bozukluğu, 1 (%2.1) hastada ürolitiazis-tiroid bozukluğu ve 1 (%2.1) hastada vitamin D eksikliği öyküsü saptanmıştır (Tablo 4.1. ve Şekil 4.1.).

Yatarak tedavi alan hastaların 6'sı ciddi, 41'i ciddi olmayan grupta değerlendirilmiş, ciddi gruptaki hastalardan 2'si ex olmuş, kalan hastalar iyi hal ile taburcu edilmiştir. Ciddi gruptaki hastaların 4'ü kadın, 2'si erkek, hafif gruptaki hastaların 22'si erkek, 19'u kadın olup ortalanca yaşlar sırası ile 72.5 ve 48 olup, bu iki grup arasında yaş yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu tesbit edilmiştir (p =0.004) (Tablo 4.2.).

Tablo 4.1. TCH ve SCH grubu hastalara ilişkin demografik özellikler ve klinik durumların dağılımı.

		TCH (n=47)	SCH (n=30)	P
Yaş [Ortanca (çeyreklikler arası genişlik)]		55 [38-71]	26 [24-32.25]	<0.001
Cinsiyet	Erkek	26 (55.3)	11 (36.7)	0.173
	Kadın	21 (44.7)	19 (63.3)	
Altra Yatan Hastalık	Alerjik Rinit	0 (.0)	1 (3.3)	-
	Allerji+Viral Hepatit	1 (2.1)	0 (.0)	
	Anemi+KOAHA	1 (2.1)	0 (.0)	
	Astım	1 (2.1)	1 (3.3)	
	DM	2 (4.3)	0 (.0)	
	DM+Pankreatit	1 (2.1)	0 (.0)	
	Duputyren	1 (2.1)	0 (.0)	
	Gastroözofajal Reflü+Poliartrit	1 (2.1)	0 (.0)	
	HT	3 (6.4)	0 (.0)	
	HT+ DM	3 (6.4)	0 (.0)	
	Kronik İskemik Kalp Hastalığı	1 (2.1)	0 (.0)	
	Geçirilmiş MI	1 (2.1)	0 (.0)	
	Obezite	1 (2.1)	0 (.0)	
	Şizofren	1 (2.1)	0 (.0)	
	Tiroid Bozukluğu	1 (2.1)	0 (.0)	
	Ürolitiazis	3 (6.4)	0 (.0)	
	Ürolitiazis+Tiroid Bozukluğu	1 (2.1)	0 (.0)	
	Vitamin D Eksikliği	1 (2.1)	0 (.0)	
	Yok	23 (48.9)	28 (93.3)	
Klinik Durum	Hafif	41 (87.2)	30 (100.0)	0.076
	Ciddi	6 (12.8)	0 (.0)	

KOAHA: Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı; **DM:** Diabetes mellitus; **HT:** Hipertansiyon; **MI:** Miyokard İnfarktüsu



Şekil 4.1. TCH ve SCH grubu hastalarda altta yatan hastalıkların dağılımı.

Tablo 4.2. TCH grubu hastalara ilişkin demografik özelliklerin hasta klinik durumlarına göre dağılımı.

		Klinik Durum		p
		Hafif (n=41)	Ciddi (n=6)	
Yaş		48 [48-64]	72.5 [62-72.5]	0.004
Cinsiyet	Erkek	22 (53.7)	4 (66.7)	0.678
	Kadın	19 (46.3)	2 (33.3)	

Hafif ve ciddi klinik duruma sahip TCH grubu hastaların biyokimyasal ve hematolojik parametrelerden ferritin, CRP, PCT ve lenfosit düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark ($p<0,05$) saptanmıştır. Diğer parametreler açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görülmüştür. Hafif ve ciddi TCH grubu hastalara ait hematolojik ve biyokimyasal parametreler Tablo 4.3.'te özetlenmiştir.

Tablo 4.3. TCH grubu hastalara ilişkin biyokimyasal ve hematolojik parametrelerin klinik duruma göre dağılımı.

	Klinik Durum				p
	Hafif (n=41)		Ciddi (n=6)		
	n	Ortanca (ÇAG)	n	Ortanca (ÇAG)	
D-dimer (ND: <500 mg/L)	41	290 [180-457]	6	364,5 [280,5-1105]	0,180
Ferritin (ND: 20-500 ng/mL)	40	115,3 [44,15-240,3]	6	323,25 [187,86-2865,5]	0,011
CRP (ND: 0-5 mg/L)	41	20,77 [5,76-41,34]	6	146,5 [29,49-202,25]	0,001
PCT (ND: <0,10 ng/mL)	18	0,05 [0,04-0,09]	3	0,24 [0,16-.]	0,011
WBC (ND: 3,70-10,10 (K/µL)	41	5,98 [4,95-7,69]	6	6,39 [5-10,1]	0,608
LYM (ND: 1,09-2,99 (K/µL)	41	1,74 [1,23-2,17]	6	0,71 [0,62-1,61]	0,029
PLT (ND: 130,0-450,0 (K/µL)	41	188 [163,95-232,5]	6	142 [95,48-223,25]	0,109
NEU (ND: 1,63-6,96 (K/µL)	41	3,81 [2,74-4,92]	6	4,99 [2,35-9,05]	0,390
HGB (ND: 13,20-17,30 g/dL)	41	12,9 [11,75-14,03]	6	12,25 [10,58-15,75]	0,697

CRP: C-reaktif protein; **PCT:** Prokalsitonin; **WBC:** Beyaz Küre Sayısı; **LYM:** Lenfosit; **PLT:** Platelet; **NEU:** Nötrofil; **HGB:** Hemogloblin; **ND:** Normal Değer.

4.2. SCH Grubu Hastaların Demografik Özellikleri

SCH grubundaki hastaların demografik bilgileri incelendiğinde; 19'u kadın, 11'i erkek idi. Bu hastaların medyan yaşı 26 bulunmuş ve TCH grubu hastalar ile yaşlar arasında istatistiksel fark görülmüştür ($p < 0.001$). Ayaktan izlem ve tedavi alan SCH grubunun tamamı hafif grupta değerlendirilmiştir. Bu hastaların %93,3'ünde ($n=28$) komorbidite yok iken, 1 (%3.3) hastada allerjik rinit ve 1 (%3.3) hastada astım öyküsü saptanmıştır (Tablo 4.1.). Hastaların ilk başvuru sırasında şikayetleri ve görülme sıklıkları Tablo 4.4.'de özetlenmiştir.

SCH grubu hastalardan örnek alma sürecinde ülkemizde aşılama programının başlamasından dolayı çalışmaya dahil olan 11 hastaya (%36,7) 2. ay örneklerinin alınmasından sonra SARS CoV-2 aşısı uygulanmıştır.

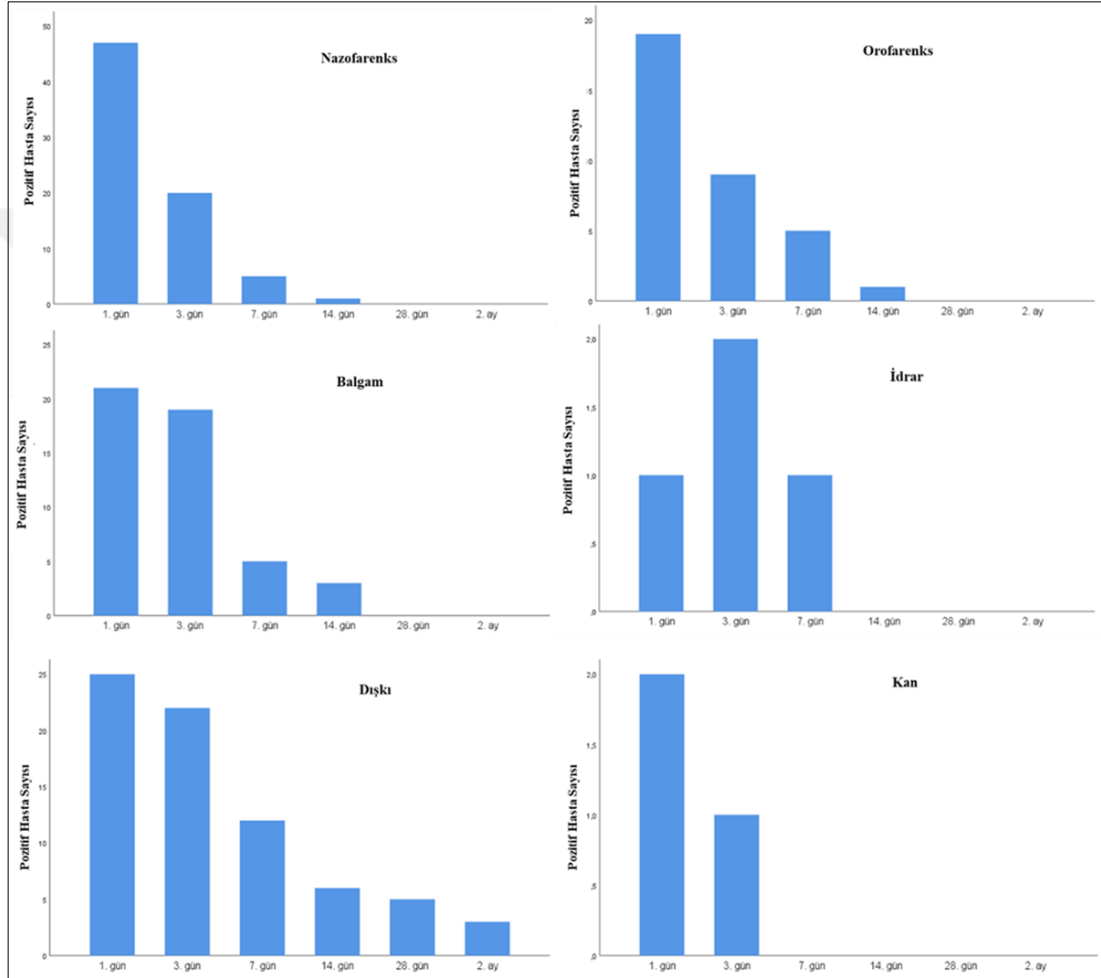
Tablo 4.4. SCH grubu hastalarda klinik semptomların dağılımı.

	Semptomlar	Sağlık Çalışanları (n=30)
Ateş	Yok	18 (60.0)
	Var	12 (40.0)
Öksürük	Yok	15 (50.0)
	Var	15 (50.0)
Boğaz Ağrısı	Yok	18 (60.0)
	Var	12 (40.0)
Ses Kısıklığı	Yok	27 (90.0)
	Var	3 (10.0)
Baş Ağrısı	Yok	23 (76.7)
	Var	7 (23.3)
Nefes Darlığı	Yok	22 (73.3)
	Var	8 (26.7)
Halsizlik	Yok	4 (13.3)
	Var	26 (86.7)
Kas/Eklemler Ağrısı	Yok	9 (30.0)
	Var	21 (70.0)
Tat/Koku Eksikliği	Yok	16 (53.3)
	Var	14 (46.7)
İshal	Yok	27 (90.0)
	Var	3 (10.0)

4.3. SARS CoV-2 RT-PCR Bulguları

SARS CoV-2'nin farklı klinik örneklerdeki zamana göre dağılımını belirlemek için TCH grubu hastalardan (n=47) örnek alma periyotlarında 169 NF, 167 OF, 166 balgam, 164 idrar, 130 dışkı ve 158 kan olmak üzere toplam 954 klinik örnek alınmıştır. Birinci gün NF/OF kombine sürüntü örnekleri pozitif olan 47 hastanın

tümünde (%100) NF örnekleri de PCR pozitif bulunmuştur. Birinci gün; 25 dışkı (%65,8), 21 balgam (%45,7), 19 OF (%41,3), 2 kan (%5,3) ve 1 idrar (%2,2) örneğinde PCR pozitifliği saptanmıştır. Örnek alınma periyotlarına bakıldığında; 14. günden sonra sadece dışkı örneklerinde PCR pozitifliğinin görüldüğü ve bunun 2. ayda alınan örnekte de devam ettiği tesbit edilmiştir. Örnek alma periyotlarında örnek tiplerine göre PCR pozitiflikleri Şekil 4.2. ve Tablo 4.5.'te sunulmuştur.



Şekil 4.2. Çeşitli klinik örneklerde SARS CoV-2 RT-PCR pozitiflik oranlarının dağılımı.

Tablo 4.5. Çeşitli klinik örneklerde SARS CoV-2 RT-PCR bulguları.

		PCR Sonuçları	TCH (n=47) n (%)	p
PCR Nazofarenks	1. gün	Negatif	0 (.0)	0.001
		Pozitif	47 (100.0)	
	3. gün	Negatif	21 (51.2)	
		Pozitif	20 (48.8)	
	7. gün	Negatif	23 (82.1)	
		Pozitif	5 (17.9)	
	14. gün	Negatif	24 (96.0)	
		Pozitif	1 (4.0)	
	28. gün	Negatif	17 (100.0)	
		Pozitif	0 (.0)	
	2. ay	Negatif	11 (100.0)	
		Pozitif	0 (.0)	
PCR Orofarenks	1. gün	Negatif	27 (58.7)	0.083
		Pozitif	19 (41.3)	
	3. gün	Negatif	32 (78.0)	
		Pozitif	9 (22.0)	
	7. gün	Negatif	22 (81.5)	
		Pozitif	5 (18.5)	
	14. gün	Negatif	24 (96.0)	
		Pozitif	1 (4.0)	
	28. gün	Negatif	17 (100.0)	
		Pozitif	0 (.0)	
	2. ay	Negatif	11 (100.0)	
		Pozitif	0 (.0)	
PCR Balgam	1. gün	Negatif	25 (54.3)	0.080
		Pozitif	21 (45.7)	
	3. gün	Negatif	21 (52.5)	
		Pozitif	19 (47.5)	
	7. gün	Negatif	22 (81.5)	
		Pozitif	5 (18.5)	
	14. gün	Negatif	22 (88.0)	
		Pozitif	3 (12.0)	
	28. gün	Negatif	17 (100.0)	
		Pozitif	0 (.0)	
	2. ay	Negatif	11 (100.0)	
		Pozitif	0 (.0)	

Tablo 4.6. Çeşitli klinik örneklerde SARS CoV-2 RT-PCR bulguları (devam).

		PCR Sonuçları	TCH (n=47) n (%)	p
PCR İdrar	1. gün	Negatif	45 (97.8)	0.255
		Pozitif	1 (2.2)	
	3. gün	Negatif	39 (95.1)	
		Pozitif	2 (4.9)	
	7. gün	Negatif	24 (96.0)	
		Pozitif	1 (4.0)	
	14. gün	Negatif	25 (100.0)	
		Pozitif	0 (.0)	
	28. gün	Negatif	16 (100.0)	
		Pozitif	0 (.0)	
	2. ay	Negatif	11 (100.0)	
		Pozitif	0 (.0)	
PCR Dışkı	1. gün	Negatif	13 (34.2)	0.663
		Pozitif	25 (65.8)	
	3. gün	Negatif	8 (26.7)	
		Pozitif	22 (73.3)	
	7. gün	Negatif	6 (33.3)	
		Pozitif	12 (66.7)	
	14. gün	Negatif	16 (72.7)	
		Pozitif	6 (27.3)	
	28. gün	Negatif	8 (61.5)	
		Pozitif	5 (38.5)	
	2. ay	Negatif	6 (66.7)	
		Pozitif	3 (33.3)	
PCR Kan	1. gün	Negatif	36 (94.7)	0.406
		Pozitif	2 (5.3)	
	3. gün	Negatif	39 (97.5)	
		Pozitif	1 (2.5)	
	7. gün	Negatif	27 (100.0)	
		Pozitif	0 (.0)	
	14. gün	Negatif	25 (100.0)	
		Pozitif	0 (.0)	
	28. gün	Negatif	17 (100.0)	
		Pozitif	0 (.0)	
	2. ay	Negatif	11 (100.0)	
		Pozitif	0 (.0)	

PCR pozitifliğinin hastaların klinik durumlarına göre değerlendirmesinde; 14.gün balgam ve 1.gün kan örnekleri dışında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 4.6.). Ancak ciddi hastaların idrar ve hafif hastaların kan örneklerinde PCR pozitifliği tespit edilmemiştir.

Tablo 4.7. Klinik durumlar ve SARS CoV-2 RT-PCR pozitiflikleri.

PCR Sonuçları			Klinik Durum		p
			Hafif (n=41)	Ciddi (n=6)	
PCR Nazofarenks	1. gün	Negatif	0 (0)	0 (0)	-
		Pozitif	41 (100)	6 (100)	
	3. gün	Negatif	20 (54,1)	1 (25)	0.343
		Pozitif	17 (45,9)	3 (75)	
	7. gün	Negatif	21 (87,5)	2 (50)	0.135
		Pozitif	3 (12,5)	2 (50)	
	14. gün	Negatif	22 (95,7)	2 (100)	1.000
		Pozitif	1 (4,3)	0 (0)	
	28. gün	Negatif	16 (100)	1 (100)	-
		Pozitif	0 (0)	0 (0)	
	2. ay	Negatif	11 (100)	0 (0)	-
		Pozitif	0 (0)	0 (0)	
PCR Orofarenks	1. gün	Negatif	25 (61)	2 (40)	0.635
		Pozitif	16 (39)	3 (60)	
	3. gün	Negatif	30 (81,1)	2 (50)	0.204
		Pozitif	7 (18,9)	2 (50)	
	7. gün	Negatif	20 (83,3)	2 (66,7)	0.474
		Pozitif	4 (16,7)	1 (33,3)	
	14. gün	Negatif	22 (95,7)	2 (100)	1.000
		Pozitif	1 (4,3)	0 (0)	
	28. gün	Negatif	16 (100)	1 (100)	-
		Pozitif	0 (0)	0 (0)	
	2. ay	Negatif	11 (100)	0 (0)	-
		Pozitif	0 (0)	0 (0)	
PCR Balgam	1. gün	Negatif	22 (53,7)	3 (60)	1.000
		Pozitif	19 (46,3)	2 (40)	
	3. gün	Negatif	20 (55,6)	1 (25)	0.331
		Pozitif	16 (44,4)	3 (75)	
	7. gün	Negatif	21 (87,5)	1 (33,3)	0.079
		Pozitif	3 (12,5)	2 (66,7)	
	14. gün	Negatif	22 (95,7)	0 (0)	0.010
		Pozitif	1 (4,3)	2 (100)	
	28. gün	Negatif	16 (100)	1 (100)	-
		Pozitif	0 (0)	0 (0)	
	2. ay	Negatif	11 (100)	0 (0)	-
		Pozitif	0 (0)	0 (0)	

Tablo 4.8. Klinik durumlar ve SARS CoV-2 RT-PCR pozitiflikleri (devam).

PCR Sonuçları			Klinik Durum		p
			Hafif (n=41)	Ciddi (n=6)	
PCR İdrar	1. gün	Negatif	39 (97,5)	6 (100)	1.000
		Pozitif	1 (2,5)	0 (0)	
	3. gün	Negatif	34 (94,4)	5 (100)	1.000
		Pozitif	2 (5,6)	0 (0)	
	7. gün	Negatif	21 (95,5)	3 (100)	1.000
		Pozitif	1 (4,5)	0 (0)	
	14. gün	Negatif	23 (100)	2 (100)	-
		Pozitif	0 (0)	0 (0)	
	28. gün	Negatif	15 (100)	1 (100)	-
		Pozitif	0 (0)	0 (0)	
	2. ay	Negatif	11 (100)	0 (0)	-
		Pozitif	0 (0)	0 (0)	
PCR Dışkı	1. gün	Negatif	12 (34,3)	1 (33,3)	1.000
		Pozitif	23 (65,7)	2 (66,7)	
	3. gün	Negatif	8 (29,6)	0 (0)	0.545
		Pozitif	19 (70,4)	3 (100)	
	7. gün	Negatif	6 (40)	0 (0)	0.515
		Pozitif	9 (60)	3 (100)	
	14. gün	Negatif	14 (70)	2 (100)	1.000
		Pozitif	6 (30)	0 (0)	
	28. gün	Negatif	8 (61,5)	0 (0)	-
		Pozitif	5 (38,5)	0 (0)	
	2. ay	Negatif	6 (66,7)	0 (0)	-
		Pozitif	3 (33,3)	0 (0)	
PCR Kan	1. gün	Negatif	33 (100)	3 (60)	0.014
		Pozitif	0 (0)	2 (40)	
	3. gün	Negatif	35 (100)	4 (80)	0.125
		Pozitif	0 (0)	1 (20)	
	7. gün	Negatif	24 (100)	3 (100)	-
		Pozitif	0 (0)	0 (0)	
	14. gün	Negatif	23 (100)	2 (100)	-
		Pozitif	0 (0)	0 (0)	
	28. gün	Negatif	16 (100)	1 (100)	-
		Pozitif	0 (0)	0 (0)	
	2. ay	Negatif	11 (100)	0 (0)	-
		Pozitif	0 (0)	0 (0)	

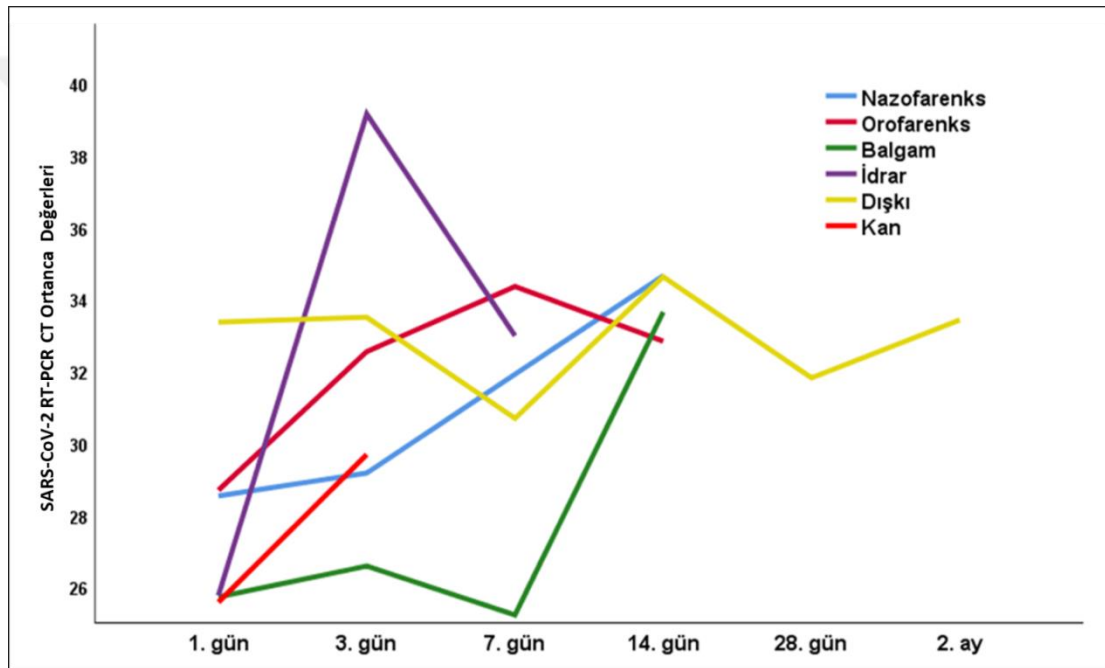
SARS CoV-2 RT-PCR sonucu pozitif bulunan çeşitli klinik örneklerin CT değerlerine bakıldığında; en düşük ortalama CT değeri kan örneklerinde ($25,58 \pm 7,49$) görülmüş, bunu sırası ile idrar ($25,76 \pm$), balgam ($27,27 \pm 5,37$), OF ($28,84 \pm 4,13$), NF ($29,36 \pm 5,59$) ve dışkı ($30,45 \pm 4,49$) örnekleri izlemiştir. Dolayısıyla en yüksek viral yük kan örneklerinde saptanmış, ardından idrar, balgam, OF ve NF görülmüştür. En düşük viral yük idrar örneklerinde saptanmıştır (Tablo 4.7.).

Tablo 4.9. SARS CoV-2 RT-PCR pozitif klinik örneklerin ortalama CT değerleri.

Örnek tipleri ve örnek alma periyotları		TCH Grubu Hastalar (n=47)	
		n	Ortalama $\pm$ SS
PCR Nazofarenks	1. gün	47	$29,36 \pm 5,59$
	3. gün	20	$30,43 \pm 5,25$
	7. gün	5	$30,08 \pm 4,37$
	14. gün	1	$34,65$
PCR Orofarenks	1. gün	19	$28,84 \pm 4,13$
	3. gün	9	$31,51 \pm 3,45$
	7. gün	5	$33,13 \pm 6,36$
	14. gün	1	$32,83$
PCR Balgam	1. gün	21	$27,27 \pm 5,37$
	3. gün	19	$27,64 \pm 5,26$
	7. gün	5	$28,64 \pm 5,82$
	14. gün	3	$34,49 \pm 4,85$
PCR İdrar	1. gün	1	$25,76 \pm$
	3. gün	2	$39,15 \pm 0,09$
	7. gün	1	$32,98$
PCR Dışkı	1. gün	25	$33,13 \pm 2,62$
	3. gün	22	$31,96 \pm 4,79$
	7. gün	12	$30,45 \pm 4,49$
	14. gün	6	$34,31 \pm 1,65$
	28. gün	5	$32,76 \pm 2,78$
	2. ay	3	$32,65 \pm 3,39$
PCR Kan	1. gün	2	$25,58 \pm 7,49$
	3. gün	1	$29,68$

NOT: CT değerleri ile viral yük arasındaki ters ilişki teorik olarak düşük CT'li numunede daha yüksek viral yüke işaret etmektedir.

Viral yükün zamana bağlı değişimi incelendiğinde; dışkı dışındaki tüm örneklerde ilk gün en yüksek düzeyde bulunmuş, hastalığın ilerleyen dönemlerinde OF ve balgam örneklerindeki viral yükün kademeli bir şekilde azaldığı, NF örneklerinde ise önce azaldığı daha sonra arttığı saptanmıştır. Dışkı örneklerinde viral yükün hastalık süresince düzensiz seyir izlediği ve 7. günde zirveye ulaştığı tespit edilmiştir. Kan örneklerindeki viral yük solunum örneklerine benzer şekilde ilk gün en yüksek düzeyde bulunmuş, üçüncü gün alınan örnekte viral yükün düştüğü, sonraki dönemlerde alınan seri örneklerde ise negatif ya da saptama sınırının altında olduğu görülmüştür (Şekil 4.3.).



Şekil 4.3. SARS CoV-2 RT-PCR sonucu pozitif TCH grubu hastaların CT değerlerinin zamana göre değişimi.

4.4. SARS- CoV-2 IgG Antikor Tayini Bulguları

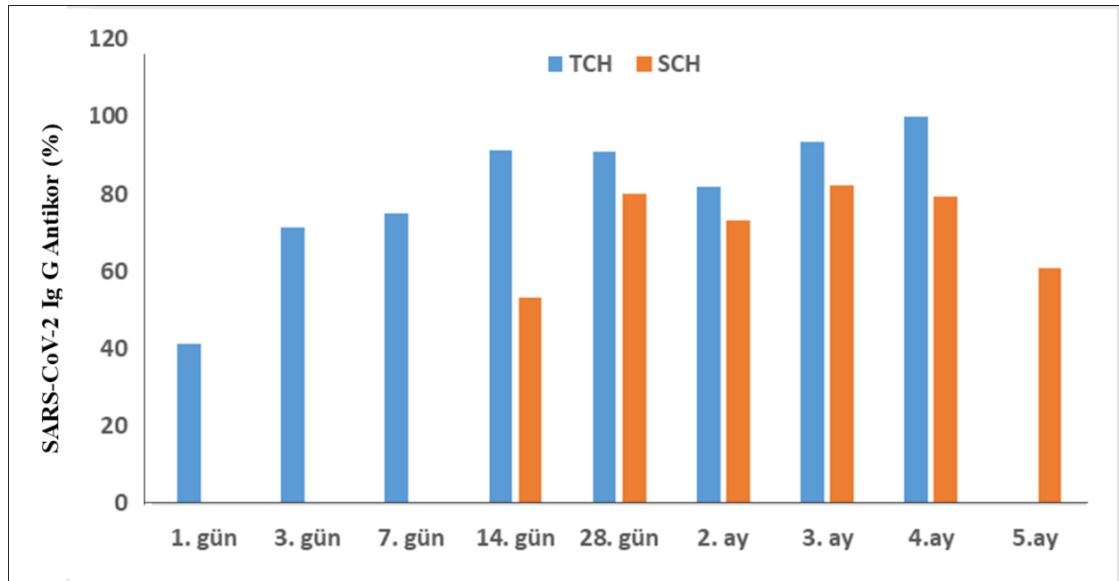
COVID-19 hastalarında anti SARS CoV-2 IgG antikor yanıtının belirlenebilmesi için belirli aralıklar ile TCH (n=47) grubundan 136, SCH (n=30) grubundan 175 olmak üzere toplamda 311 serum örneği alınarak test edilmiştir.

TCH grubu hastaların anti SARS CoV-2 IgG antikor sonuçları değerlendirildiğinde; ilk gün hastaların %41,4'ü (12/29) seropozitif bulunmuştur. Dördüncü ay tüm hastalarda (%100) serokonversiyon gözlenmiştir. SCH grubu hastaların anti SARS CoV-2 IgG antikor sonuçları değerlendirildiğinde; on dördüncü günde %53,3 (16/30) oranında serokonversiyon gözlenmiştir. SCH grubun hastalarda serokonversiyon en

fazla %82,1 oranında üçüncü ayda saptanmıştır. TCH ve SCH grubu hastalara ait serokonveriyon oranları Tablo 4.8. ve Şekil 4.4.'te verilmiştir.

Tablo 4.10. TCH ve SCH grubu hastaların anti SARS CoV-2 IgG antikor pozitifliği dağılımı.

Örnek alma periyotları		TCH		SCH		p
		(n=47)		(n=30)		
		Toplam	Pozitif n (%)	Toplam	Pozitif n (%)	
Anti SARS CoV-2 IgG Antikor Düzeyleri	1. gün	29	12 (41,4)	-	-	-
	3. gün	21	15 (71,4)	-	-	-
	7. gün	12	9 (75,0)	-	-	-
	14. gün	23	21 (91,3)	30	16 (53,3)	0.007
	28. gün	11	10 (90,9)	30	24 (80,0)	0.651
	2. ay	11	9 (81,8)	30	22 (73,3)	0.700
	3. ay	16	14 (93,3)	28	23 (82,1)	0.403
	4. ay	11	11 (100)	29	23 (79,3)	0.162
	5. ay	-	-	28	17 (60,7)	-



Şekil 4.4. TCH ve SCH grubu hastaların anti SARS CoV-2 IgG antikor pozitifliklerinin zamana göre değişim grafiği.

Serokonversiyon oranları hastaların klinik durumlarına göre karşılaştırıldığında TCH grubu hafif hastalar ile ciddi hastalara arasında anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 4.9.). SCH grubu hastalar da aşı olma durumlarına göre karşılaştırılmış ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0,05$).

Tablo 4.11. TCH grubu hastalarda anti SARS CoV-2 IgG antikor pozitifliklerinin klinik durumlara göre dağılımı.

Örnek alma periyotları		Hafif (n=41)		Ciddi (n=6)		P
		Toplam	Pozitif n (%)	Toplam	Pozitif n (%)	
Anti SARS CoV-2 IgG Antikor Düzeyleri	1. gün	24	8 (33,3)	5	4 (80,0)	0.130
	3. gün	18	13 (72,2)	3	2 (66,7)	1.000
	7. gün	9	7 (77,8)	3	2 (66,7)	1.000
	14. gün	21	19 (90,5)	2	2 (100)	1.000
	28. gün	11	10 (90,9)	-	-	-
	2. ay	11	9 (81,8)	-	-	-
	3. ay	15	14 (93,3)	-	-	-
	4. ay	11	11 (100)	-	-	-

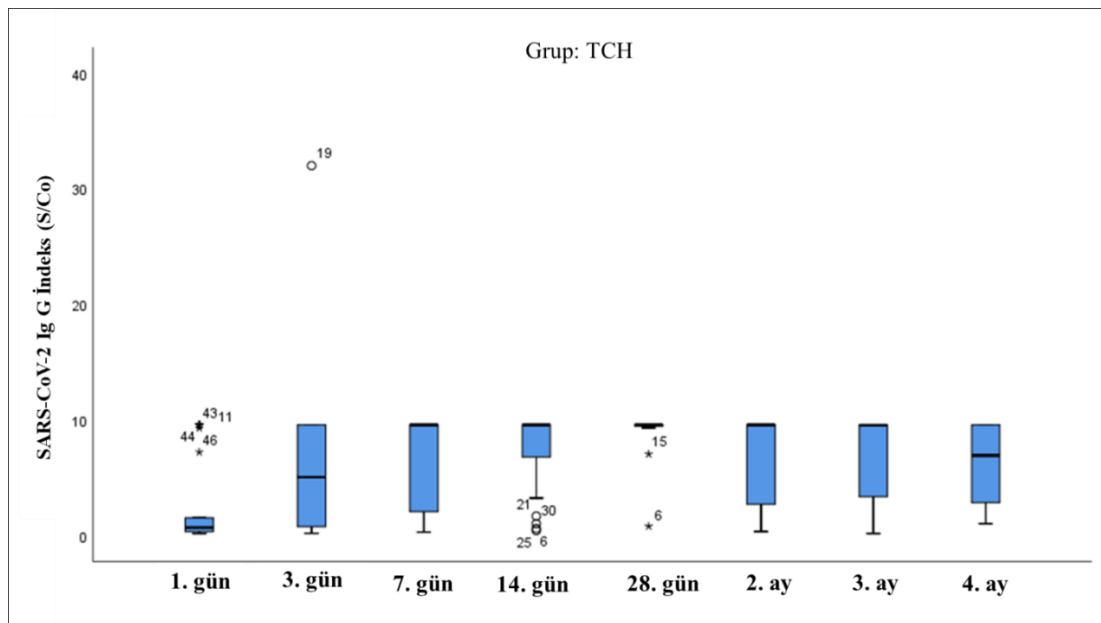
Anti SARS CoV-2 IgG antikor düzeyleri incelendiğinde; TCH grubu hastalarda yedinci günde pik yaptığı, 2 ay boyunca düzeylerini koruduğu ve 3. aydan itibaren düşmeye başladığı görülmüştür (Tablo 4.10 ve Şekil 4.5.).

SCH grubu hastalarda anti SARS CoV-2 IgG antikor ortanca düzeylerinin üçüncü ayda pik yaptığı ve çalışma periyodu süresince düzensiz seyir izlediği görülmüştür (Tablo 4.10 ve Şekil 4.6.).

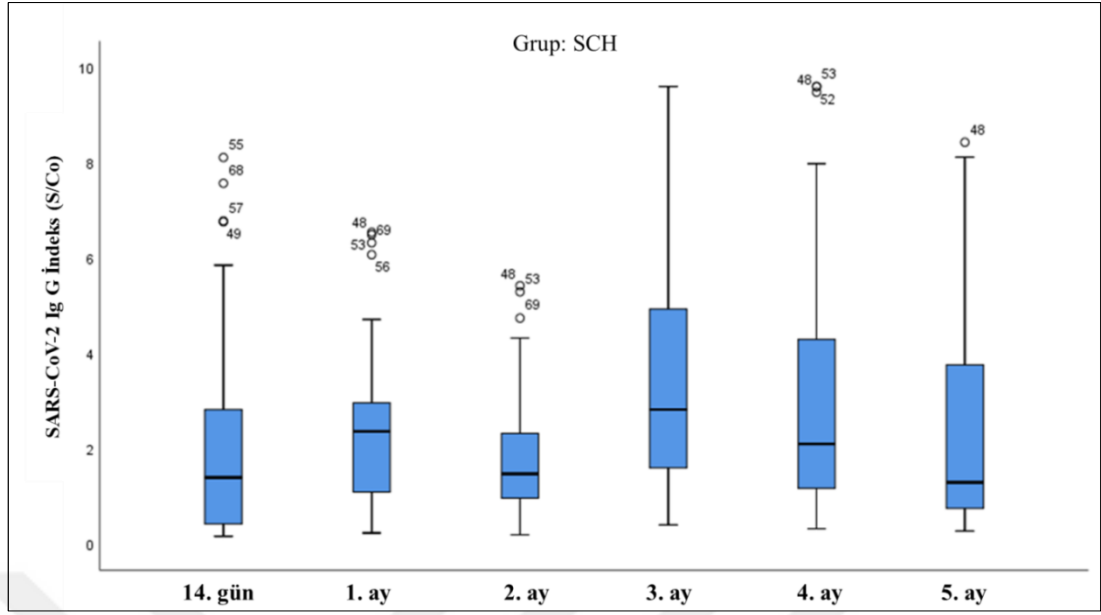
14, 28, 60, 90 ve 120. günlerde TCH grubu hastalardaki antikor düzeyleri SCH grubu hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuştur [sırasıyla; $p<0.001$, $p<0.001$, $p= 0.005$, $p= 0.008$, $p= 0.028$, (Tablo 4.10 ve Şekil 4.7.)]

Tablo 4.12. TCH ve SCH grubu hastalarda SARS CoV-2 antikor düzeylerinin dağılımı.

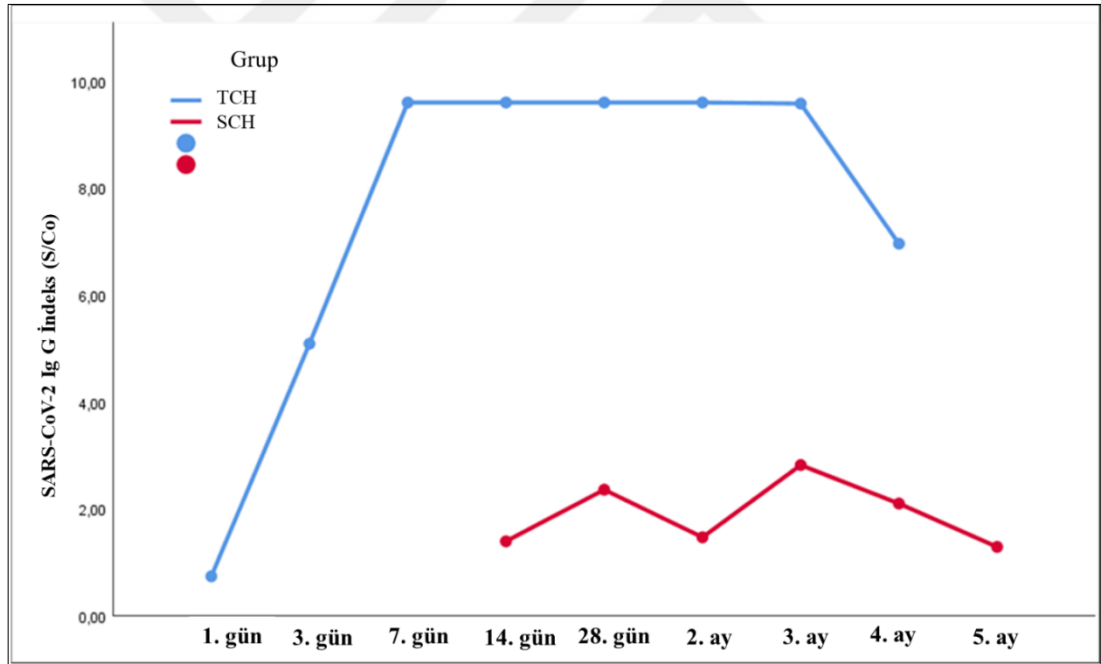
Yöntem, örnek alma periyotları	TCH (n=47)		SCH (n=30)		p
	n	Ortanca (ÇAG)	n	Ortanca (ÇAG)	
Anti SARS CoV-2 IgG (Elisa, cut off indeksi)	1. gün	29	0,74 [0.39-4.41]	-	-
	3. gün	21	5,09 [0.74-9.6]	-	-
	7. gün	12	9,6 [1.53-9.6]	-	-
	14. gün	23	9,6 [6.49-9.6]	30	1,4 [0,41-3,11]
	28. gün	11	9,6 [9.35-9.6]	30	2,36 [1,08-3,01]
	2. ay	11	9,6 [1.11-9.6]	30	1,47 [0,86-2,5]
	3. ay	16	9,58 [3.17-9.6]	28	2,84 [1,57-5,38]
	4. ay	11	6,96 [2.85-9.6]	29	2,1 [1,16-4,46]
	5. ay	-	-	28	1.29 [0.74-3.98]
Hücre kültürü Nötralizan Antikor Düzeyleri (serum dilüsyon oranı)	1. gün	29	1/4 [1/4-1/9]	-	-
	3. gün	21	1/16 [1/4-1/160]	-	-
	7. gün	12	1/29 [1/7-1/154]	-	-
	14. gün	23	1/128 [1/16-1/256]	-	-
	28. gün	11	1/256 [1/32-1/384]	-	-
	2. ay	13	1/48 [1/13-1/208]	-	-
	3. ay	16	1/38 [1/13-1/108]	-	-
	4. ay	11	1/28 [1/12-1/192]	-	-
Temsili Nötralizan Antikor Düzeyleri (serum dilüsyon oranı)	3. ay	-	23	1/8 [1/2-1/32]	-



Şekil 4.5. TCH grubu hastaların zamana göre anti SARS CoV-2 IgG düzeyleri.



Şekil 4.6. SCH grubu hastaların zamana göre anti SARS CoV-2 IgG düzeyleri.



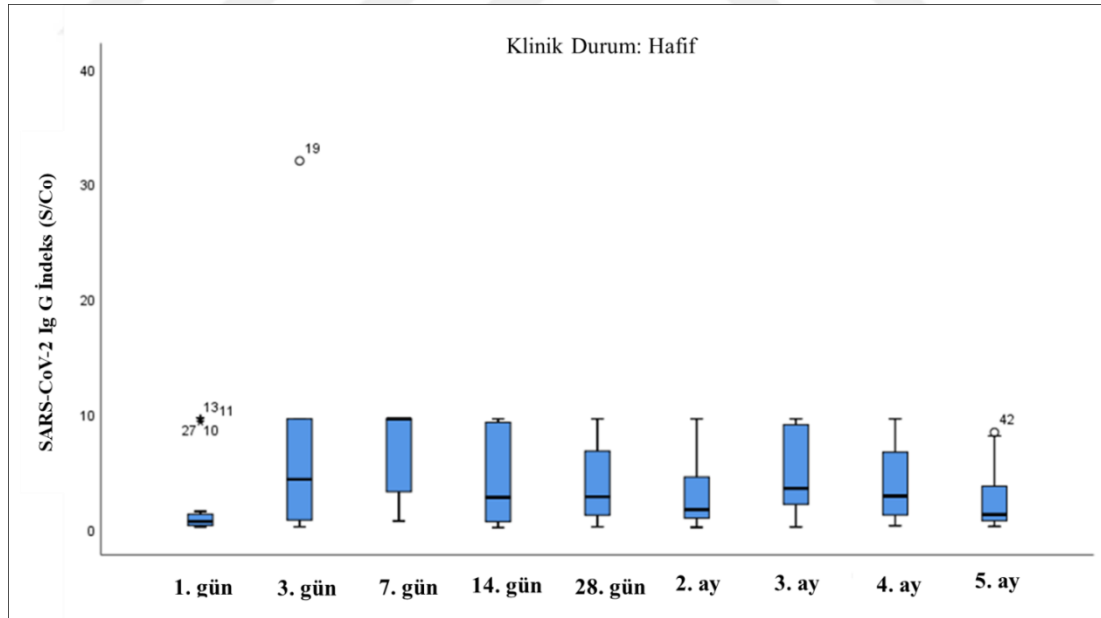
Şekil 4.7. TCH ve SCH grubu hastaların anti SARS CoV-2 IgG antikor düzeylerinin zamana göre değişimi.

TCH grubu hastaların anti SARS CoV-2 IgG antikor düzeylerinin klinik durumlara göre dağılımı Tablo 4.11.'de özetlenmiştir. İlk gün ve üçüncü gün alınan serumlardaki ortalama antikor düzeyleri ciddi grupta daha yüksek bulunmuş ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (sırası ile $p=0.089$, $p=0.740$). İlk ve ikinci haftanın sonunda alınan serumlarda ise ortalama antikor düzeyleri her iki grupta

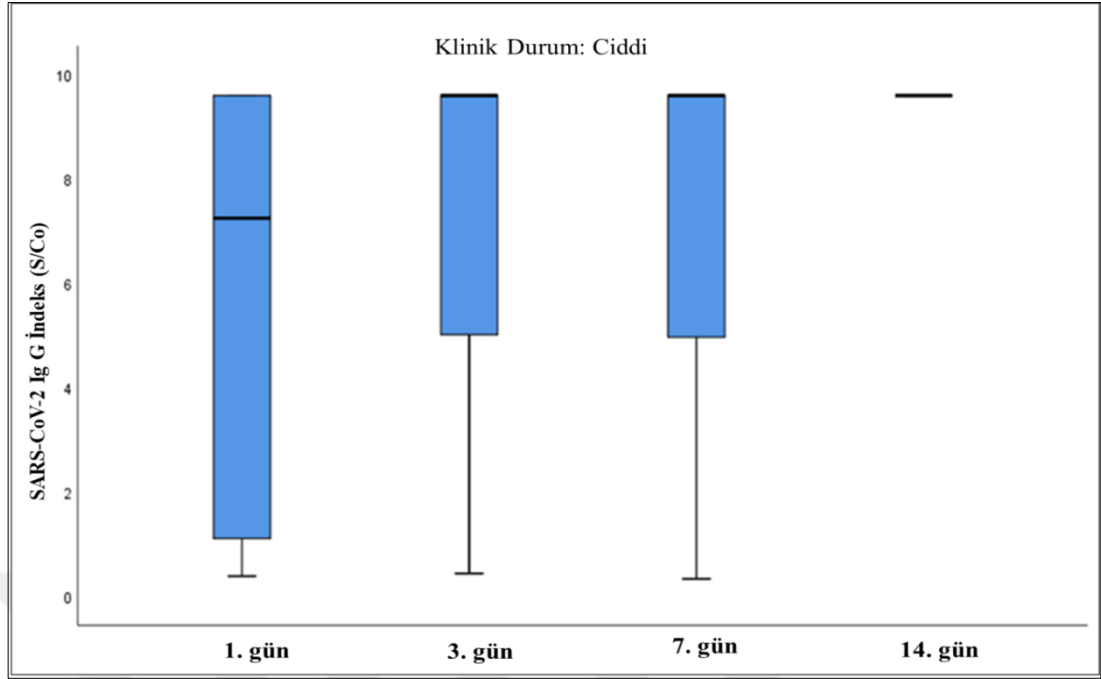
da saptanabilir en üst düzeyde bulunmuştur. İkinci hafta sonrasında ciddi gruptaki hastaların antikor düzeyleri değerlendirilememiş, hafif gruptaki hastalarda ise ortalama anti SARS CoV-2 IgG düzeylerinin ilk 2 ay boyunca en yüksek düzeyde olduğu ve 3. aydan itibaren düşmeye başladığı görülmüştür (Şekil 4.8.-4.10.).

Tablo 4.13. TCH grubu hastaların anti SARS CoV-2 IgG antikor düzeylerinin klinik durumlara göre dağılımı.

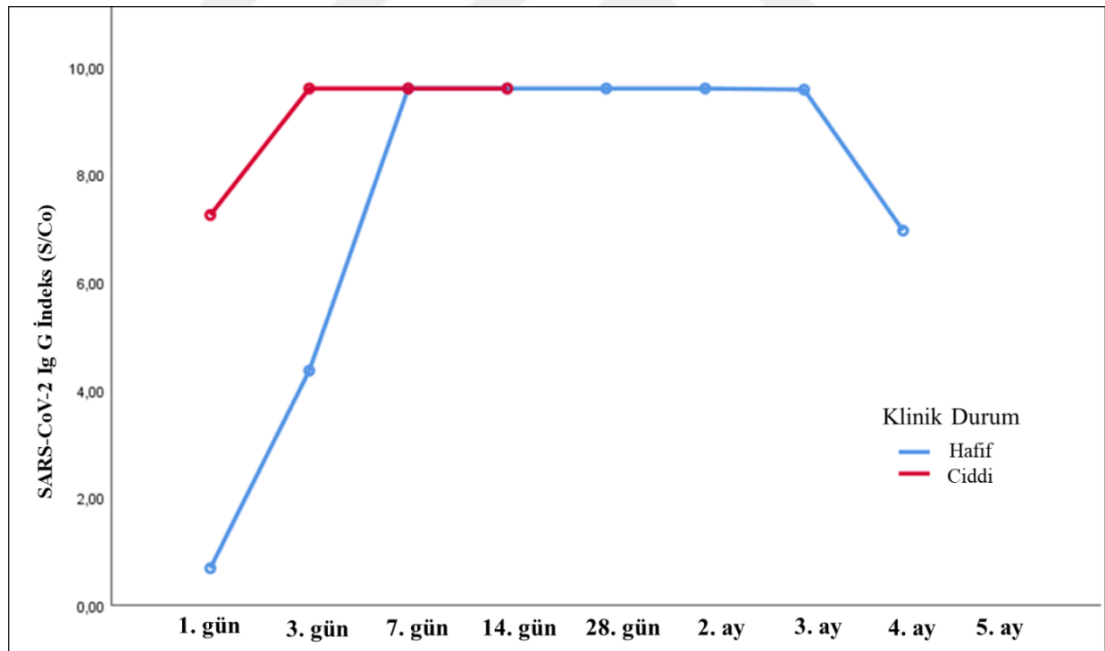
Örnek alma periyotları		Klinik Durum				p
		Hafif (n=41)		Ciddi (n=6)		
		n	Ortanca (ÇAG)	n	Ortanca (ÇAG)	
Anti SARS CoV-2 IgG Antikor Düzeyleri	1. gün	24	0,69 [0,31-1,43]	5	7,25 [0,75-9,6]	0.089
	3. gün	18	4,36 [0,77-9,6]	3	9,6 [0,44-.]	0.740
	7. gün	9	9,6 [2,11-9,6]	3	9,6 [0,34-.]	1.000
	14. gün	21	9,6 [4,89-9,6]	2	9,6 [9,6-9,6]	0.387
	28. gün	11	9,6 [9,35-9,6]	-	-	-
	2. ay	11	9,6 [1,11-9,6]	-	-	-
	3. ay	16	9,58 [3,17-9,6]	-	-	-
	4. ay	11	6,96 [2,85-9,6]	-	-	-



Şekil 4.8. TCH grubu hafif hastaların zamana göre SARS CoV-2 IgG düzeyleri.



Şekil 4.9. TCH grubu ciddi hastaların zamana göre SARS CoV-2 IgG düzeyleri.

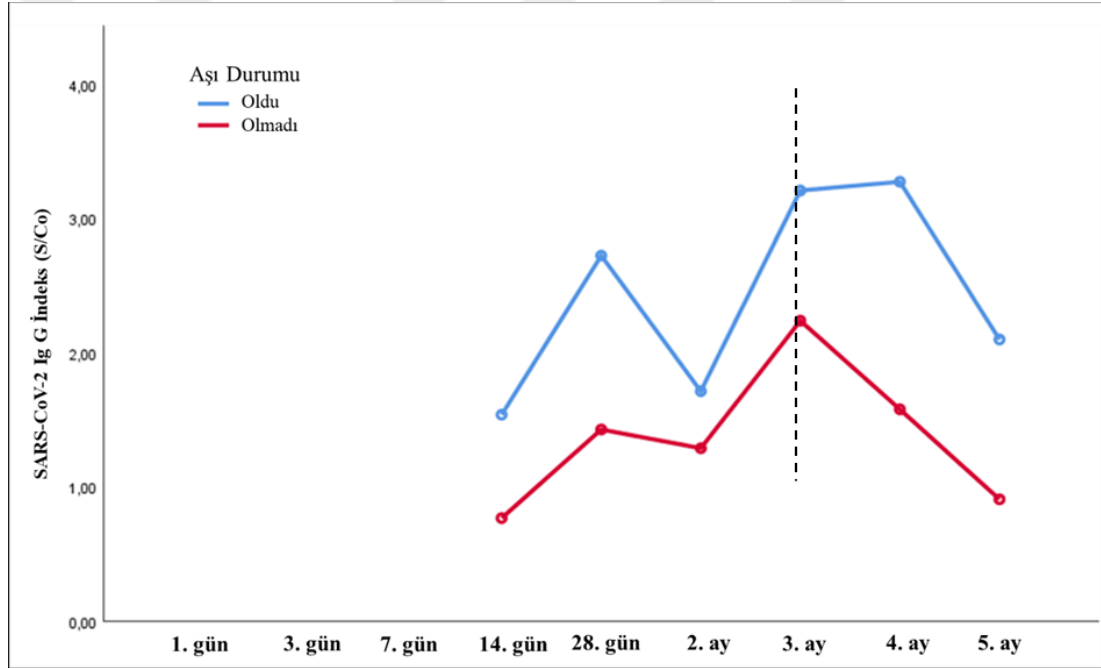


Şekil 4.10. Hafif ve ciddi klinik duruma sahip TCH grubu hastalarda anti SARS CoV-2 IgG antikor düzeylerinin zamana göre değişimi.

Aşılı ve aşısız SCH grubu hastalar arasında anti SARS CoV-2 IgG antikor düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 4.12. ve Şekil 4.11.).

Tablo 4.14. SCH grubu hastalarda anti SARS CoV-2 IgG antikor düzeylerinin aşı olma durumlarına göre dağılımı.

Örnek alma periyotları		Aşı Durumu				p
		Olmadı (n=19)		Oldu (n=11)		
		n	Ortanca (ÇAG)	n	Ortanca (ÇAG)	
Anti SARS CoV-2 IgG Antikor Düzeyleri	3. ay	18	2,7 [1,57-3,76]	10	2,91 [1,38-7,39]	0.654
	4. ay	18	1,93 [1,11-3,53]	11	2,44 [1,15-7,98]	0.674
	5. ay	18	1,29 [0,75-2,9]	10	1,22 [0,61-5,15]	0.944



Şekil 4.11. SCH grubu aşılı ve aşısız hastalarda anti SARS CoV-2 IgG antikor düzeylerinin zamana değişimi.

4.5. Hücre Kültürü ile Nötralizan Antikor Tayini Bulguları

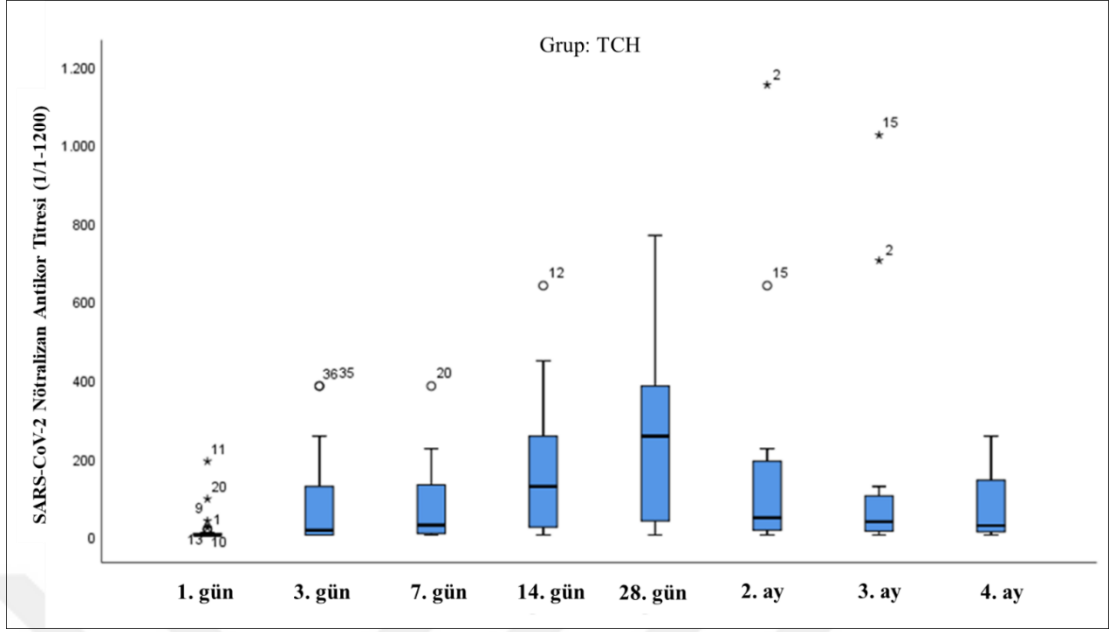
TCH (n=47) grubu hastaların NAb düzeyleri incelendiğinde; tanı anında hastaların %44,8'inde, 28. gün hastaların tümünde (%100), 4. ayda ise %90,9'unda saptanabilir düzeyde NAb varlığı tespit edilmiştir. NAb titrelerinin 28. günde en yüksek düzeye ulaştığı, 2. aydan itibaren düşmeye başladığı görülmüştür (Tablo 4.10.).

Nötralizan antikor titrelerinin klinik durumlara göre dağılımına bakıldığında; ilk gün alınan serum örneklerindeki ortalama nötralizan antikor titreleri her iki grupta da

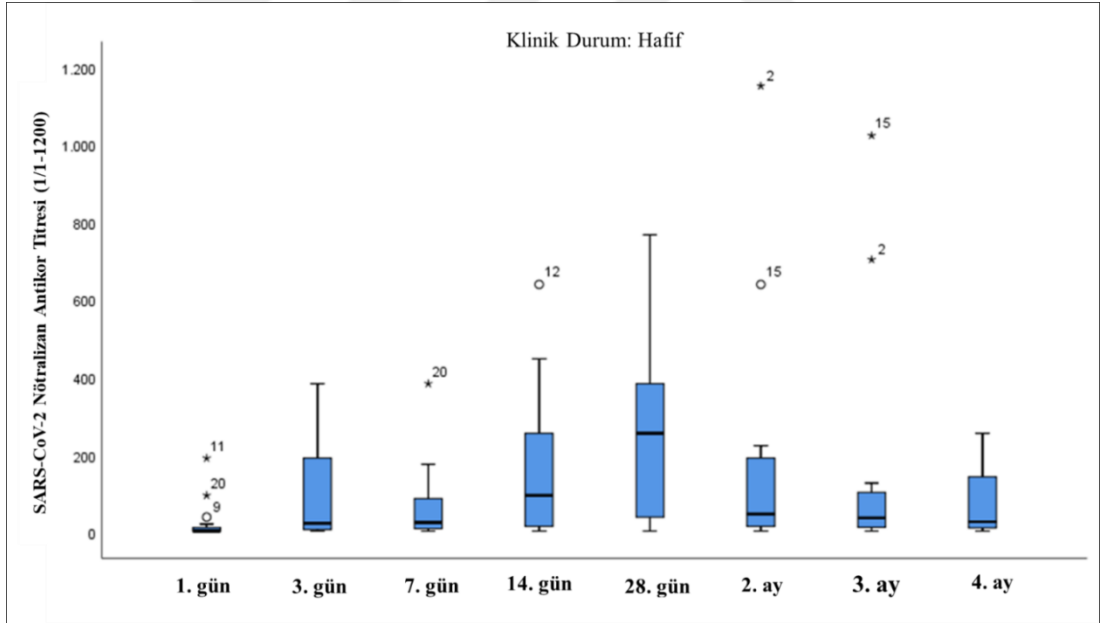
benzer bulunmuştur ($p=0.518$). Üçüncü gün alınan örneklerde ortalıca antikor titreleri hafif grupta daha yüksek bulunmuş ancak, anlamlı bir fark görülmemiştir ($p=0.153$). Ciddi grupta ortalıca antikor düzeyleri yedinci güne gelindiğinde daha fazla artış göstererek hafif gruptan daha yüksek bulunmuştur. Ortanca nötralizan antikor titrelerinin en yüksek düzeye ciddi grupta 14. gün, hafif grupta 28. günde ulaştığı görülmüştür. On dördüncü günden sonra ciddi gruptaki nötralizan antikor titreleri değerlendirilememiş, hafif grupta ise titrelerin zamanla düştüğü görülmüştür. İki grup arasında NAb titreleri arasında anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 4.13. ve Şekil 4.12-4.15). SCH grubunda hücre kültürü ile nötralizan antikor düzeyleri bakılamamıştır.

Tablo 4.15. TCH grubu hastalarda NAb düzeylerinin klinik durumlara göre dağılımı.

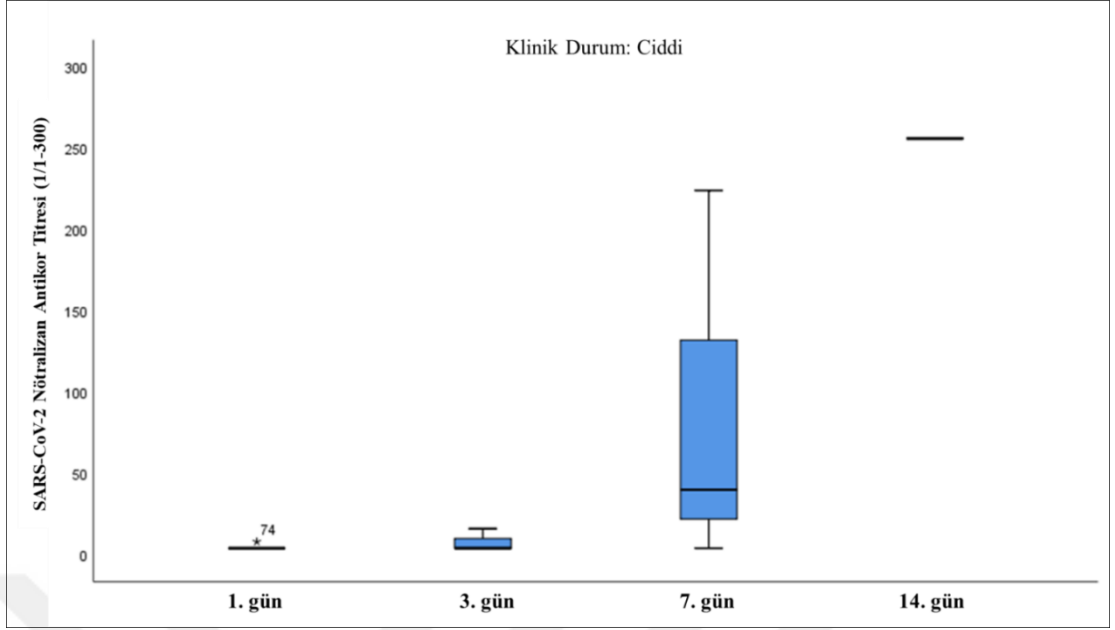
Örnek alma periyotları		Klinik Durum				p
		Hafif (n=41)		Ciddi (n=6)		
		n	Ortanca (ÇAG)	n	Ortanca (ÇAG)	
Nötralizan Antikor Düzeyleri	1. gün	24	1/4 [1/4-1/14,5]	5	1/4 [1/4-1/6]	0.518
	3. gün	18	1/24 [1/7-1/192]	3	1/4 [1/4-.]	0.153
	7. gün	9	1/26 [1/8-1/132]	3	1/40 [1/4-.]	0.864
	14. gün	21	1/96 [1/13-1/320]	2	1/256 [1/256-1/256]	0.332
	28. gün	11	1/256 [1/32-1/384]	-	-	-
	2. ay	13	1/48 [1/13-1/208]	-	-	-
	3. ay	16	1/38 [1/13-1/108]	-	-	-
	4. ay	11	1/28 [1/12-1/192]	-	-	-



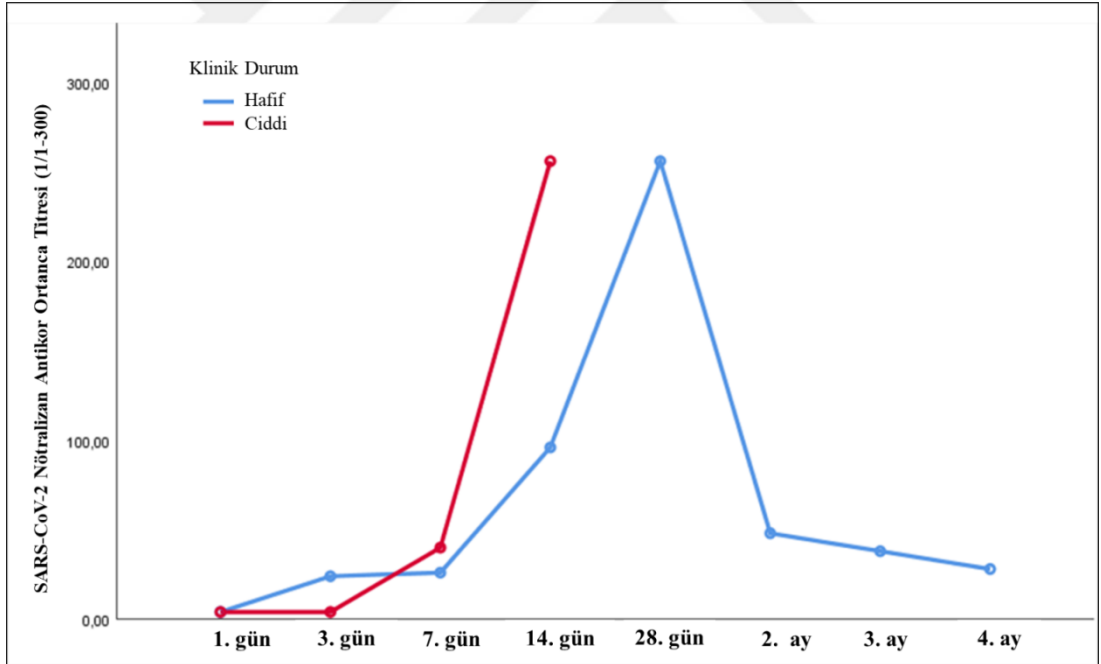
Şekil 4.12. TCH grubu hastaların SARS CoV-2 NAb düzeylerinin zamana göre değişimi.



Şekil 4.13. TCH grubu hafif hastaların SARS CoV-2 NAb düzeylerinin zamana göre değişimi.



Şekil 4.14. TCH grubu ciddi hastaların SARS CoV-2 NAb düzeylerinin zamana göre değişimi.



Şekil 4.15. Hafif ve ciddi klinik duruma sahip TCH grubu hastaların NAb düzeylerinin zamana göre değişimi.

4.6. Mikroelisa Yöntemi ile sNAb Tayini Bulguları

SCH grubu hastalarda anti SARS CoV-2 IgG pozitifliği en yüksek oranda [%82,1 (23/30)] 3. ayda saptanmıştır. Bu dönemde anti SARS CoV-2 IgG pozitif olan 23 hastanın serum örneğinde sNAb düzeyleri belirlenmiştir. Hastaların ortalama sNAb düzeyi 1/8 [1/2-1/32] (orta titre) olarak bulunmuştur. Sonuçlar değerlendirildiğinde;

6 hastanın (%26,1) düşük, 11 hastanın (%47,8) orta, 6 hastanın (%26,1) yüksek titrede sNAb'ye sahip olduğu görülmüştür (Tablo 4.14.). sNAb düzeylerinin yaş, cinsiyet ve aşı durumuna göre dağılımları incelendiğinde bu parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (sırasıyla $p=0.400$, $p=0.077$ ve $p=0.830$) (Tablo 4.15 ve Tablo 4.16.). TCH grubu hastalarda sNAb düzeyleri bakılamamıştır.

Tablo 4.16. SCH grubu hastaların sNAb titrelerinin dağılımı.

	SCH Grubu	n	%
Temsili Nötralizan Antikor Düzeyleri	Düşük Titre (1/2)	6	26,1
	Orta Titre (1/4-1/16)	11	47,8
	Yüksek Titre ($\geq 1/32$)	6	26,1

Tablo 4.17. SCH grubu hastaların sNAb titrelerinin yaş ve cinsiyete göre dağılımı.

Yaş ve cinsiyet		Nötralizan Antikor Düzeyleri			P
		Düşük Titre (n=6)	Orta Titre (n=11)	Yüksek Titre (n=6)	
Yaş		24,50 [21,75-26,75]	25 [24-29]	25,50 [24,75-32,75]	0.400
Cinsiyet	Erkek	3 (50,0)	5 (45,5)	2 (33,3)	0.830
	Kadın	3 (50,0)	6 (54,5)	4 (66,7)	

Tablo 4.18. SCH grubu hastalarda sNAb düzeylerinin aşı olma durumlarına göre dağılımı.

SCH Grubu		Toplam (n=23)	Aşı Durumu		P
			Aşısız (n=15)	Aşılı (n=8)	
Temsili Nötralizan Antikor Düzeyleri		1/8 [1/2-1/32]	1/8 [1/2-1/16]	1/16 [1/8-1/32]	0.077
Temsili Nötralizan Antikor Düzeyleri	Düşük Titre	6 (26,1)	6 (40,0)	0	0.113
	Orta Titre	11 (47,8)	6 (40,0)	5 (62,5)	
	Yüksek Titre	6 (26,1)	3 (20,0)	3 (37,5)	

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

İki yıl önce başlayan COVID-19 pandemisi, virüsün varyantlarının da etkisi ile halen tüm dünyayı etkilemeye devam etmektedir. Pandemi ile mücadelede; COVID-19 hastalığının erken teşhisi, hastaların toplumdan izole edilmesi ve bulaşı önleyici tedbirleri uygulanması oldukça önemlidir. Dünya genelinde COVID-19'un laboratuvar tanısında kullanılan en yaygın yöntem halen SARS CoV-2 RT-PCR yöntemidir. SARS CoV-2 RT-PCR testinin duyarlılığı yaklaşık %70-72 ve özgüllüğü %98-99 düzeyindedir. Örnek tipi, alınma zamanı (hastalığın evresi), kalitesi, saklama ve transfer koşulları bu testin sonucunu önemli oranda etkilemektedir (Brihn ve ark., 2021). SARS CoV-2 RT-PCR testi için en sık ve en yaygın kullanılan örnek NF/OF kombine sürüntü örneğidir. Daha az sıklıkla NF, OF, nazofaringeal aspirat, orta konka/ön burun sürüntüsü örnekleri ile balgam, BAL ve trakeal asprat gibi alt solunum yolu örnekleri kullanılmaktadır (<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/guidelines-clinical-specimens.html> Erişim tarihi: 08.01.2022). Hastalığın seyri esnasında virüsün vücuttaki dinamiği ve saçılımı ile ilgili çok sayıda bilimsel çalışma yapılmıştır. Ancak ortaya çıkan varyantların dinamiğinde farklılıklar görülebildiğinden konu henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Ayrıca hastalığın geçirilmesi ve/veya aşından sonra SARS CoV-2'ye karşı oluşan antikor yanıtı, düzeyi ile kalıcılığının bilinmesi pandemiyi durdurmak ve uygun aşılama stratejilerinin belirlenmesi açısından son derece öneme sahiptir. Çalışmamızda hastalığın geçirildiği dönem ve sonrasındaki süreçte SARS CoV-2 RNA'sının varlığı, virüsün bu örneklerdeki saçılım profili ile COVID-19 enfeksiyonu geçiren hastaların anti SARS CoV-2 IgG ve nötralizan antikor düzeyleri araştırılmıştır.

SARS CoV-2 virüsü için global olarak duyarlı bir popülasyonun bulunması, virüse geniş bir yayılım alanı oluşturmuştur. Yapılan çalışmalar, sağlık çalışanı meslek grubunun etkenle karşılaşma; erkek cinsiyet, yaş ve komorbid hastalıkların ise ciddi hastalığın gelişmesi açısından risk faktörü olduğunu göstermiştir (Lauer ve ark., 2020). COVID-19 şüphesi ile başvuran hastaların %20-51'inin en az bir veya daha

fazla komorbiditesi olduğu; diyabet (%10-20), hipertansiyon (%10-15) ve diğerkardiyovasküler/serebrovasküler hastalıkların (%7-40) daha sık görüldüğü bildirilmiştir (Guan ve ark., 2020). Ng ve ark., (2021), yaptıkları sistematik derleme ve meta-analiz çalışmasında en sık görülen komorbid hastalığı HT olarak belirlemiş ardından obezite ve diyabet olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca, kronik böbrek hastalığı, hipertansiyon ve diyabetin COVID-19 mortalitesi ile de ilişkili olduğu saptanmıştır. HT ve DM, COVID-19 hastalarında en yaygın komorbiditeler arasındadır ve daha yüksek ölüm riski ile ilişkilendirilmiştir. Başka bir çalışmada analiz edilen komorbiditeler arasında aşırı kilo ve obezite, DM, HT/kalp hastalığı, kanser ve KOAH bulunmuştur (Mason ve ark., 2021). Herhangi bir komorbiditesi olan ve hastanede yatış gerektiren hastaları, inceleyen dört çalışmanın üçünde, bu hastaların yoğun bakım ünitesine kabul edilme, invaziv ventilasyon gerektirme veya ölüm olasılıkları daha yüksek bulunmuştur. Literatürde 2 217 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada; "herhangi bir komorbiditenin" mortalite üzerindeki etkisi incelenmiş olup, ölüm riskinin bir veya iki komorbiditesi olan hastalarda, komorbiditesi olmayan hastalara göre %115, üç veya daha fazla komorbiditesi olanlarda %200 arttığı bildirilmiştir (Sapey ve ark. 2020). Benzer şekilde, 1 590 hasta üzerinde yapılan başka bir çalışmada, ölüm riskinin tek bir komorbiditesi olan hastalarda, komorbiditesi olmayan hastalardan %79, çoklu komorbiditesi olanlarda %159 oranında arttığını bildirmişlerdir (Guan ve ark., 2020).

Yaş, cinsiyet ve komorbiditenin COVID-19 ile ilişkisinin araştırıldığı bir sistematik derleme ve meta-analiz çalışmasında; böbrek hastalığı, serebrovasküler hastalık, kardiyovasküler hastalık, solunum yolu hastalığı, DM, HT ve kanserin ciddi hastalık geliştirme ve ölüm açısından önemli ölçüde ilişkili iken karaciğer hastalığının ilişkili olmadığı rapor edilmiştir. Erkek hastalar, kadınlara kıyasla önemli ölçüde artmış mortalite riski ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca 50 yaş ve üstündeki hastalarda, 50 yaşın altındaki hastalara kıyasla mortalite riskinin anlamlı olarak 15.4 kat arttığı belirtilmiştir (Biswas ve ark., 2020). Benzer şekilde Çin ve İtalya'da yapılan çalışmaların ilk verileri ile birlikte çok sayıda çalışmada yaşlı bireylerin COVID-19 ile enfekte olma ve ölüm riskinin daha yüksek olduğu görülmüştür (Lian ve ark., 2020; Lloyd-Sherlock ve ark., 2020; Wang ve ark., 2020). Yirmi binden fazla hastanın incelendiği prospektif bir çalışmada da ortalanca yaş 73 ve erkek hasta oranı %60 olarak saptanmıştır (Docherty ve ark., 2020).

Bu çalışmada hastaların %51,2'sinde komorbid hastalık saptanmış ve 8 hastada birden fazla komorbid hastalık görülmüş, en sık saptanan komorbiditeler sırasıyla DM, HT ve ürolitiasis olarak belirlenmiştir. Ciddi gruptaki hastaların ortalama yaşı hafif gruptan anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Hastalığın şiddeti ile cinsiyet arasında bir anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Ancak bu çalışmada incelenen ve ex olan iki erkek hastanın 65 yaş üstünde olduğu ve HT hastalığının da tabloya eşlik ettiği görülmüştür. (Tablo 4.1, Tablo 4.2. ve Şekil 4.1.)

COVID-19'lu hastaların çoğu ilk günlerde hafif klinik seyir gösterse de, bazı hastalar hızla akut solunum yetmezliği, septik şok, ARDS veya ölüme ilerlemektedir. Kritik hastalar için risk faktörlerinin erken belirlenmesi, uygun destekleyici bakım ve mortalitenin azaltılması yönünde yararlı olabilmektedir. Yapılan çalışmalarda hafif/orta grup ile şiddetli/kritik grup arasında WBC, nötrofil sayısı ve lenfosit sayısının yanı sıra D-dimer, CRP ve PCT, yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol, plazma glukozu, serum düzeyleri potasyum, total bilirubin, albümin, aspartat aminotransferaz, alanin aminotransferaz, laktat dehidrojenaz, eritrosit sedimentasyon hızı, serum amiloid A, dahil olmak üzere çok sayıda laboratuvar bulgusunda farklılıklar olduğu rapor edilmiştir (Wang ve ark., 2020). Genel olarak, birçok çalışmada yükselmiş D-dimer, ferritin, CRP, PCT, ESR, IL-6 düzeyleri ve düşük lenfosit, trombosit, hemoglobin ve albümin sayısının hastalığın şiddeti ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Liu ve ark., 2020; Wang ve ark., 2020). Genel olarak viral enfeksiyonlarda düşük konsantrasyonlarda bulunan PCT'nin ciddi COVID-19 hastalarında yüksek konsantrasyonlarda bulunması bu hastalar için aynı anda birden fazla enfeksiyon olasılığını düşündürmüştür. Bununla birlikte, yapılan bir çalışmada ise D-dimer düzeyi ve trombosit sayısının hastalığın şiddeti ile ilişkisi belirlenememiştir (Bairwa ve ark., 2021). Bu çalışmada; ferritin, CRP ve PCT ciddi hastalarda anlamlı düzeyde yüksek, lenfosit düzeyi ise anlamlı olarak daha düşük bulunmuş, D-dimer düzeylerinin ciddi hastalarda daha yüksek ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür (Tablo 4.3.). D-dimer düzeyleri açısından hafif ve ciddi grup hasta grubunda hastalardan sadece bir defa başvuru anında alınan kan örneklerindeki değerlerin istatistiksel analizlerde kullanılmasından kaynaklanmış olabilir. Nitekim, ciddi hastaların ilerleyen dönemlerinde alınan kan örneklerindeki D-dimer düzeylerinin başvuru anına göre çok daha yüksek düzeylerde olduğu saptanmıştır.

Hastalarda başvuru anında en sık saptanan semptomlar; ateş, öksürük, halsizlik olarak rapor edilmiş, virüsün mutasyonlar geçirmesi ile sık görülen semptomlar arasına tat ve koku alma bozuklukları da eklenmiştir. Balgam, nefes darlığı, boğaz ağrısı, baş ağrısı, ishal, bulantı/kusma ve hemoptizi daha az sıklıkta görülen diğer semptomlardır (Peeri ve ark., 2020). Hastalığın ilk aşamasında en sık görülen semptomlar ateş, yorgunluk, kuru öksürük, anoreksi, göğüste sıkışma, kas ağrısı, hafif nefes darlığı, üşüme ve nefes darlığı, daha az yaygın olarak bulantı veya kusma, ishal ve baş ağrısı saptanmıştır (Wang ve ark., 2020). Bu çalışmada sadece SCH drubunda semptomlarla ilgili veriler alınabilmiş olup, en sık saptanan semptomlar sırasıyla halsizlik ve kas/eklem ağrısı olmuş, hastaların yarısında öksürük şikayeti, %40'nda ateş saptanmıştır (Tablo 4.4.)

Pandeminin başlangıç döneminde hastalığın tanısı için solunum yolu örnekleri kullanılmakla beraber erken dönemlerde virüsün patogenezi, tuttuğu doku/organ sistemleri ve dolayısı ile potansiyel olarak solunum damlacıkları dışında başka yollarla bulaşıp bulaşmayacağı bilinmemekteydi. Bu nedenle üst ve alt sonulun yolu örnekleri dışında; dışkıdan anal sürüntüye semenden vaginal sıvıya, periton diyaliz sıvısından kan ve seruma, tükürükten tere, idrardan beyin omurilik sıvısına, anne sütü kordon kanı, amniyon sıvısı, plesenta ve göbek kordonu biyopsi örneklerinden gözyaşı ve oküler örnekler kadar birçok klinik örnek SARS CoV-2 varlığı açısından araştırılmıştır (Al Saiegh ve ark., 2020; Azghandi M,2020; Defêche ve ark., 2021; Fenizia v ark., 2020; Groß ve ark., 2020; Kaya ve ark., 2020; Li ve ark.,2020; Liu ve ark., 2020; Peng ve ark., 2020; Seeliger ve Pessaux 2021; Scorzolini 2020; Todsens T 2021; Wong MC 2020). Virüsün vücuttaki dinamiğinin tam olarak ortaya konulabilmesi açısından farklı numune türlerinin tanısal duyarlılığının açıklanması, SARS CoV-2'nin viral bulaşması, laboratuvar tanısı ve izlenmesi için önemlidir. Ancak, gelinen noktada COVID-19 tanısında halen genellikle en sık üst solunum yolu örnekleri daha az sıklıkla da alt solunum yolu örnekleri kullanılmaktadır.

SARS CoV-2 enfeksiyonunun patogenezi mekanizması halen tam olarak bilinmemektedir. Ancak mevcut kanıtlar, virüsün solunum sistemi, sindirim sistemi ve hematolojik sistem dahil olmak üzere birçok organ sistemini istila edebileceğini ve geniş bir doku tropizmine sahip olduğunu göstermektedir (Huang ve ark., 2020; Holshue ve ark., 2020). BAL, balgam, bronkoskop fırça biyopsi örnekleri, kan, dışkı,

idrar, nazal ve faringeal sürüntüler dahil olmak üzere çeşitli klinik örnek türlerinde SARS CoV-2'nin araştırıldığı bir çalışmada, SARS CoV-2 ile enfekte olmuş 205 hastadan toplanan 1 070 örnekten, BAL örnekleri en yüksek pozitif oran (%93) göstermiştir. Diğer klinik örneklerin saptama oranları sırasıyla; balgam %72, nazal sürüntüler %63, bronkoskop fırça biyopsi örnekleri, %46, faringeal sürüntüler %32, dışkı %29 ve kan %1 olarak bulunmuştur. Alınan 72 idrar örneğinin hiçbirinde SARS CoV-2 saptanmamıştır (Wang ve ark., 2020). Bwire ve ark., (2021), 7 çalışmayı dahil ettikleri sistematik derleme ve meta-analiz çalışmasında 8136 klinik örneği değerlendirmiş ve sonuçları analiz ettiklerinde; SARS CoV-2'nin en yüksek oranda (%91,8) BAL örneklerinde, ardından rektal sürüntü (%87,8) ve balgam örneklerinde (%68,1) tespit edildiğini bulmuştur. Çalışmada yaygın olarak kullanılan NF ve OF numuneleri sırası ile %45,5 ve %7,6 pozitiflik ile düşük bir tespit oranı göstermiştir. İdrar örneklerinin hiçbirinde virüs saptanmamıştır. Kan örneklerinde düşük (%1,0) düzeyde pozitiflik görülmüş ancak serum (%33,3) ve plazmada (%10,0) orta düzeyde tespit edilmiştir. SARS CoV-2, ayrıca dışkı örneklerinin %32,8'inde saptanmıştır. Mohammed ve ark. (2021), farklı çalışmaların verilerini analiz ettiklerinde; SARS CoV-2 için en yüksek tespit oranını diğer iki çalışmaya benzer şekilde BAL (%98,3) örneklerinde bulmuştur. Bunu; tükürük (%91,7), balgam (%75,8), dışkı (%54), fibrobronkoskop fırça biyopsisi (%46,2), solunum sürüntüleri (%40,3), serum (%39,4), kan (%1) ve idrar (%0,73) numuneleri izlemiştir.

Solunum yolu sürüntü örneklerinin incelendiği bir çalışmada, en yüksek tespit oranı nazal sürüntülerde (%77,9) belirlenmiş bunu boğaz sürüntüleri (%56,8), NF (%39,6), OF (%35,7) ve faringeal sürüntüler (%24,8) izlemiştir. Ayrıca, çeşitli çalışmalarda alt solunum yolu numunelerinin, üst solunum yolu numunelerine kıyasla artan hassasiyet gösterdiği görülmüştür (Muhammed ve ark., 2020; Yang ve ark., 2020; Wang ve ark., 2020). Üst solunum yolu örneklerinde viral RNA saptanamamasına rağmen, BAL örneklerinin pozitif saptanması da viral yük tespiti ve özellikle düşük viral yüke sahip hastalarda COVID-19 tanısında alt solunum yolu örneklerinin kullanımını öne çıkarmıştır. Ancak, COVID-19 hastalarının yalnızca küçük bir bölümünün (%28) balgam üretiyor olması özellikle entübe edilmemiş hastalarda balgam veya BAL örneklerinin toplanmasıyla ilgili teknik zorluklar bu örneklerin kullanımını sınırlandırmaktadır (Huang ve ark., 2020).

G. Kore’de yapılan bir çalışmada; serum, idrar ve dışkı örnekleri değerlendirilmiş ve pozitiflik oranları sırası ile %2,8, %0,8 ve %10,1 bulunmuştur (Kim ve ark., 2020). SARS CoV-2, genel olarak klinik durumu ciddi hastaların kan örneklerinde görülmekle beraber hafif hastalarda da düşük oranlarda saptanabilmektedir. Zheng ve ark. (2020), serum örneklerinde viral RNA tespit oranının ciddi hastalarda (%45) hafif hastalara (%27) göre daha yüksek olduğunu ancak aradaki farkın anlamlı olmadığını bildirmişlerdir. Genel olarak yapılan çalışmalar incelendiğinde kritik hastaların ortalama %10-15’inde plazma veya serumda SARS CoV-2 bulunabildiği bildirilmiştir (Peng ve ark., 2020).

Bu tez çalışmasında virüs en yüksek oranda (%100) NF örneklerinde ardından dışkı (%65,8), balgam (%45,7), OF (%41,3), kan (%5,3) ve idrar (%2,2) örneklerinde saptanmıştır. Virüs sadece ciddi klinik seyir gösteren iki hastanın kan örneğinde saptanmıştır. Hafif klinik seyir gösteren hastaların kan örneklerinde tespit edilmemiştir (Tablo 4.5.). Çeşitli klinik numunelerde SARS CoV-2 virüsünün araştırıldığı farklı çalışmalarda muhtemelen farklı hasta popülasyonu ve klinik örnek spektrumunun analiz edilmesinden dolayı çeşitli sonuçlara sahiptir. Ancak genel olarak; BAL, nazal sürüntüler ve balgam örneklerde yüksek tespit oranlarının bulunduğu, buna karşılık idrar ve kan örneklerinde SARS CoV-2 virüsünün oldukça düşük oranlarda tespit edildiği ya da hiç tespit edilmediği görülmektedir. Hastanın demografik özellikleri (yaş, cinsiyet, komorbid ve immün durumu), örnek tipi, alınma zamanı (hastalığın evresi), kalitesi, saklama ve transfer koşulları ile örneğin işleme yönteminin farklı olmasından dolayı farklı sonuçlar elde edilebildiği unutulmamalıdır.

Klinik örneklerde SARS CoV-2 viral yükünün ve saçılım süresinin araştırıldığı 79 çalışmanın 43’ü ortalama viral saçılım süresini üst solunum yollarında 17 gün; 7’si alt solunum yollarında 14,6 gün; 13’ü dışkı örneklerinde; 17,2 gün, ve 2’si serum örneklerinde 16,6 gün olarak rapor etmiştir (Cevik ve ark., 2021). Zheng ve ark., (2020), ortalama saçılım süresini dışkı örnekleri için 22 gün, solunum örnekleri için 18 gün, serum örnekleri için 16 gün bulmuştur. Rapor edilen en uzun viral saçılım süresi üst solunum yollarında 83 gün (Hu ve ark., 2020), alt solunum yollarında 59 gün (Chen ve ark., 2020) ve serum örneklerinde 60 gün (Wangve ark., 2020) olarak bulunmuştur. Bu çalışmada viral saçılımın solunum yolu örneklerinde 14 gün, dışkı

örneklerinde 60 güne kadar devam ettiği, kan örneklerinde ise 3. günden sonra virüs saptanmadığı bulunmuştur (Tablo 4.5. ve Şekil 4.2.). Dışkı örneklerinde uzun süreli SARS CoV-2 saçılımı virüsün insan bağırsağındaki asidik ortama direnç gösterdiğini ve fekal-oral bulaşın teorik olarak mümkün olduğunu göstermektedir. Herhangi bir klinik örnekte virüs RNA'sının saptanması o örnek için enfeksiyöz virüs taşıdığını göstermemektedir. Virüsün enfeksiyöz olduğunun gösterilmesi için hücre kültür yöntemleri ile izole edilmesi gerekmektedir. Ancak çok az sayıda çalışmada dışkıdan virüs izolasyonu gerçekleştirilebilmiştir (Wang ve ark., 2020).

Viral saçılım süresinin hastalık şiddetine göre değerlendirildiği 20 çalışmanın 13'ü ciddi hastalarda ciddi olmayan hastalara göre daha uzun viral saçılım süresi bildirmiş, çalışmaların beşinde istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür (Cevik ve ark., 2021). Oysa ki üst solunum yolu örneklerinde beş çalışma (Hu ve ark., 2020; Kujawski ve ark., 2020; To ve ark., 2020; Yan ve ark., 2020; Xu ve ark., 2020), dışkı örneklerinde bir çalışma (Wu ve ark., 2020) değişen hastalık şiddetine rağmen saçılım sürelerinin farklılık göstermediğini bildirmiştir. Tian ve ark., (2020), ise 10 (%13) hafif, 45 (%60) orta ve 20 (%27) ciddi hastayı dahil ettikleri çalışmalarında orta şiddetteki hastalarda ortalama viral saçılım süresini 25 gün, ciddi hastalarda 14 bulmuşlardır. Ayrıca, viral klirensin ağır klinik seyir gösteren hastalarda daha hızlı olduğunu, diğer bir deyişle viral saçılım süresinin orta şiddetteki hastalarda daha uzun sürdüğünü rapor etmişlerdir. Başka bir çalışmada, solunum örneklerinde ortalama virüs saçılım süresi ciddi hastalarda (21 gün) hafif hastalardan (14 gün) daha uzun bulunmuş, dışkı ve serum örneklerinde anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Zheng ve ark., 2020). Bu çalışmada, hafif hastalık seyri gösteren bireylerin NF ve OF örneklerinde 14 gün boyunca, ciddi hastalık seyri gösteren bireylerde 7. günde viral RNA saptanmıştır. 14. günde ciddi hastaların tümünde (%100), hafif hastaların %43,5 'inin balgam örneklerinde virüs saptanmaya devam etmiştir. Ciddi hastaların idrar, hafif hastaların kan örneklerinde virüs fsaptanmamıştır

SARS CoV-2'nin viral yük kinetiği ve saçılım süresinin belirlenmesi hastalığın bulaşıcılık süresinin belirlenmesine böylece karantina, izolasyon ve temaslı izleminde halk sağlığına rehberlik eden protokollerin oluşturulmasında ve dolayısıyla pandeminin kontrol edilmesinde kritik öneme sahiptir. Ancak, SARS CoV-2'nin hastalardaki virolojik düzeyleri (tespit, viral yük ve virüs saçılım süresi) ve bunun

enfektivite ve hastalık şiddeti ile ilişkisi hakkında bir kısım belirsizlikler bulunmaktadır. Seri üst solunum yolu örneklerinde SARS CoV-2 viral yükü değerlendiren 13 çalışmanın 8'inde viral yükün semptom başlangıcının ilk haftasında pik yaptığı görülmüştür. En yüksek viral yükler; semptomların başlangıcında, semptomların başlamasından hemen sonra ya da hastalığın 3-5. gününde saptanmıştır (Han ve ark., 2020; He ve ark., 2020; Huang ve ark., 2020; Zheng ve ark., 2020; Young ve ark., 2020; Wölfel ve ark., 2020; Zou ve ark., 2020; ES, 2020). Alt solunum yolu örneklerinde viral yük dinamiklerini değerlendiren çalışmalarda, en yüksek viral yükün hastalığın ikinci haftasında olduğu gözlenmiştir (Huang ve ark., 2020; Kim ve ark., 2020; Tan ve ark., 2020; Wölfel ve ark., 2020; Zheng ve ark., 2020). Farklı yöntemler üzerine kurulmuş çeşitli çalışma ve olgu sunumlarından 50 araştırmanın analiz edildiği bir başka bir çalışmada, genel olarak önceki çalışmalar ile benzer sonuçlar bulunmuş; viral yükün üst solunum yolu örneklerinde semptomların başlangıcında ve sonraki birkaç gün boyunca (genellikle bir hafta içinde) en yüksek düzeyde olduğu ve titrelerin sonraki 1-3 hafta içinde yavaş yavaş azaldığı görülmüştür. Bazı çalışmalarda üst solunum yollarında tespit edilen viral yükler ile dışkı numuneleri arasında da belirgin farklılıklar dikkat çekmiştir. Genel olarak, üst solunum yolu örneklerinden alınan viral yüklerin semptomların başlamasından sonraki bir hafta içinde zirve yaptığı ve nispeten tutarlı bir şekilde azaldığı, dışkı örneklerinden alınan viral yüklerin ise çeşitli çalışmalarda 7. günde (Tan ve ark., 2020), 2-3. haftalarda (Zhang ve ark., 2020; Zheng ve ark., 2020) ya da semptom başlangıcından 5-6 hafta (Huang ve ark., 2020) sonrasında pik yaptığı ve hastalık süresince düzensiz bir seyir izlediği rapor edilmiştir (Walsh ve ark., 2020).

Farklı üst solunum yolu bölgelerinden alınan örnekler arasındaki viral yük dinamikleri numunenin alındığı yere bağlı olarak çeşitli çalışmalarda tutarsız sonuçlara neden olmuştur. Bazı çalışmalarda nazal örneklerde daha yüksek viral yükler rapor edilmişken, diğerleri viral yükün boğaz sürüntü örneklerinde daha yüksek olduğunu bulmuştur (Yu ve ark., 2020; Walsh ve ark., 2020; Zou ve ark., 2020). Ayrıca, iki çalışmada dışkı örneklerinde solunum örneklerine kıyasla önemli ölçüde daha yüksek viral titreler bildirilmiştir (Han ve ark., 2020; Zheng ve ark., 2020). Ancak başka bir çalışma, dışkı örneklerindeki viral yükün hem alt hem de üst

solunum yolu örneklerine kıyasla daha düşük titrelerde olduğunu rapor etmiştir (Huang ve ark., 2020).

COVID-19 hastalarında viral RNA saptanan örneklerin çeşidi ve saptanma oranları, tanısal duyarlılıkları, viral yükleri, saçılım süresi ve bunların hastalık spektrumu ile ilişkisi incelendiğinde, yukarıdaki çalışmalarda olduğu gibi heterojen sonuçlar elde edilmesinin nedenleri; virüsün kendine özgü dinamikleri, çalışmalara dahil edilen hasta özellikleri (yaş, cinsiyet ve çeşitli komorbidite varlığı) durumu (asemptomatik, presemptomatik, semptomatik) hastalığın şiddeti (hafif ve şiddetli COVID-19), test edilen numunenin türlerinin (üst solunum yolu ve alt solunum yolu numuneleri vb.) ve örneklem zamanı farklılıklarının yanı sıra farklı anti-viral ve anti-inflamatuar ilaçlarla tedavi gibi birçok faktör olabilir (Badu ve ark., 2021; Cevik ve ark., 2020).

Bu tez çalışmasında viral yük, hem üst hem de alt solunum yolu örneklerinde tanı anında en yüksek düzeyde bulunmuştur. Tan ve ark. 'nın (2020) yaptıkları çalışmada olduğu gibi dışkı örneklerinde viral yükün 7. günde pik yaptığı ve literatürle uyumlu olarak hastalık süresince düzensiz seyir izlediği görülmüştür (Tablo 4.7. ve Şekil 4.3.). Bu çalışmada, idrar (ilk gün: 1 hasta; üçüncü gün: 2 hasta; yedinci gün: 1 hasta) ve kan (ilk gün: 2 hasta; üçüncü gün: 1 hasta) örneklerinde az sayıda hastada pozitiflik saptandığından saçılım süresi ile ilgili net çıkarımlar yapılamamıştır.

Solunum yolu enfeksiyonlarında süregelen viral yük ve hastalık şiddeti arasındaki tartışmalara COVID-19 ile bir yenisi eklenmiştir. Dokuz klinik çalışmada, ciddi hastalardaki viral yükün hafif hastalara göre daha yüksek olduğu rapor edilmiştir. Çalışmalardan biri, NF numunelerinde viral yük değerlerini karşılaştırmış ve ciddi hastaların ortalama viral yükünün hafif hastalara göre yaklaşık olarak 60 kat daha yüksek olduğunu ayrıca bu ilişkinin enfeksiyonun erken evrelerinden sonraki evrelerine kadar korunduğunu bulmuştur (Liu ve ark., 2020; Walsh ve ark., 2020). Yu ve ark., (2020), hastaneye kabul sırasında 92 hastadan balgam numunesi almış ve başlangıçta yüksek viral yüke sahip hastalarda ilerlemiş hastalık riskini değerlendirmiştir. Viral yükün yüksek olduğu hastalarda COVID-19'un kliniğinin ciddi seyretme olasılığı da daha yüksek bulunmuştur. Bu önemli gözlem, yüksek viral yüke sahip hastalarda antiviral tedavinin erken uygulanmasının hastalığın ilerlemesi ve ölüm riskini azaltabileceğini düşündürmektedir.

Başka bir çalışmada, ciddi hastaların tükürük ve endotrakeal aspirat örneklerindeki viral yükler hafif hastalarla karşılaştırıldığında daha yüksek viral yük (yaklaşık 10 kat daha yüksek) bulunmasına rağmen, bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (To ve ark., 2020). Altı aylık bir vaka raporu ise hastaneye başvuru anında hiçbir semptomu olmayan bir hastanın NF numunesinde yüksek viral yük (CT=13.73) olduğunu bildirmiştir. Bu vaka raporunda, viral yükün sonraki dokuz gün içinde azaldığı ancak yatışının ikinci gününde ateşlenen hastada hafifçe yükseldiği, ateş düzeldiğinde ise tekrar düştüğü rapor edilmiştir (Kam ve ark., 2020). Diğer bir çalışmada, acil servisten direkt taburcu edilen 165 hasta ve hospitalize edilen 40 hastayı değerlendirilmiş ve NF örneklerindeki viral yükün taburcu edilen hastalarda hospitalize edilen hastalara kıyasla daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Hasta grupları arasında taburcu edilenler (ortanca yaş, 45 yıl) hospitalize hastalarla (ortanca yaş, 60 yıl; $p < 0,001$) karşılaştırıldığında genel olarak daha genç bulunmuş, ancak cinsiyet, ırk ve komorbidite açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Argyropoulos ve ark., 2020). Yine solunum örneklerindeki viral yükün karşılaştırıldığı bir çalışmada hafif hastalarda viral yükün hastalığın ilk evrelerinde daha yüksek olduğunu, hastalığın başlangıcından itibaren ikinci haftada zirveye ulaştığını ve bunu daha düşük yüklerin izlediğini bulunmuştur. Ciddi hastalarda ise, solunum örneklerindeki viral yük, hastalık başlangıcından sonraki üçüncü ve dördüncü haftalarda yüksek düzeyde kalmaya devam etmiştir (Zheng ve ark., 2020). Yedi ayrı çalışmada ise presemptomatik, asemptomatik ve semptomatik hastalar arasında viral yüklerde çok az fark olduğunu veya hiç fark olmadığı bildirilmiştir (Walsh ve ark., 2020). Örneğin, Arons ve ark. (2020), asemptomatik ve pre-emptomatik hastalar arasında benzer viral yükler (ortanca CT değerleri sırasıyla 25,5 ve 23,1) bulmuştur. Zheng ve ark. (2020) hafif ve şiddetli hastalar arasında dışkı ve serum örneklerindeki viral yüklerin de istatistiksel olarak anlamlı olmadığını bildirmiştir. Bu nedenle semptoma dayalı strateji kullanımının SARS CoV-2 bulaşını önlemede yetersiz kalacağı düşünülmektedir Zheng ve ark. (2020). Bu tez çalışmasında hafif ve ciddi hastaların sadece solunum yolu örneklerindeki viral yükler değerlendirilmiş olup, iki grup arasında bu örneklerdeki viral yük açısından anlamlı bir fark görülmemiştir.

SARS CoV-2 pandemisinin kontrolü büyük ölçüde popülasyonun enfeksiyon sonrasında doğal bağışıklık oluşturması ya da aşılama ile bağışıklık kazanması

sonucu virüse karşı direnç geliştirmesine dayanmaktadır. Pandemi ile ilgili güncel sorunlar; oluşan bağışıklığın düzeyi, etkinliği, uzun ömürlülüğü ve hergün bir yenisinin eklendiği virüsün varyantlarının bağışık yanıtı etkilenip etkilenmeyeceği ile ilgilidir. COVID-19 da semptomatik enfeksiyonu olan hemen hemen tüm hastaların, diğer sistemik viral enfeksiyonlarda görülen paternlerle uyumlu olarak, semptomların başlamasından sonraki birkaç hafta içinde saptanabilir IgM ve IgG antikorları geliştirdiği görülmüştür (Arkhipova-Jenkins ve ark., 2021). Saptanabilir IgM yanıtının genellikle IgG'den önce geldiği ancak bazı hastalar her iki antikorda da eşzamanlı artışlar görüldüğü ve konak immün yanıtların heterojen yoğunluklar sergilediği belirlenmiştir (Arkhipova-Jenkins ve ark., 2021).

Yapılan çalışmalarda COVID-19 geçiren hastaların semptom başlangıcından ya da ilk PCR pozitif sonuçtan %9-98 anti SARS CoV-2 IgM, %15-100 anti SARS CoV-2 IgG antikorları oluşturduğu görülmüştür (Arkhipova-Jenkins I, 2021; Shang ve ark., 2021; Sun ve ark., 2020; Staines ve ark., 2021). Bir çalışmada hastaların %2-8,5'inin enfeksiyondan sonraki 60 gün içinde SARS CoV-2'ye karşı saptanabilir IgG geliştirmeyebileceği rapor edilmiştir (Staines ve ark., 2021). Çin'de yapılan başka bir çalışmada, semptom başlangıcından sonraki ilk hafta içinde %66,7 ikinci haftada %94,7 ve üçüncü haftada hastaların tamamında (%100) serokonversiyon görülmüştür (Sun ve ark., 2020).

Serokonversiyon oranlarının yaş, cinsiyet veya solunum semptomları ile ilişkisi incelendiği çalışmalarda bu değişkenlerin hiçbirisi serokonversiyon oranları ile fark edilebilir şekilde ilişkili bulunmamıştır (Shang ve ark., 2021; Sun ve ark., 2020; Staines ve ark., 2021). Diğer bir çalışmada, ciddi seyirli hastalar ile hafif seyirli hastalar arasındaki antikorların serokonversiyon oranları karşılaştırılmış ve üç antikor türü (Ig M, Ig G ve Ig A) için önemli bir fark görülmemiştir (Zhao ark., 2020).

Fafi-Kremer ve ark., (2020), hafif hastalığa sahip 160 hastane personeli ile yaptıkları çalışmalarında hastalardan 13–20, 21–27, ≥ 28 gün olmak üzere 3 farklı dönemde serum örneklerini flow sitometri yöntemi ile incelediklerinde anti S IgM/IgG seropozitiflik oranlarını sırası ile %96,5, %100 ve %100 bulmuştur. Türkiye'de yapılan bir çalışmada, SARS CoV-2 RT-PCR ve/veya toraks BT ile COVID-19

tanısı konmuş sağlık çalışanlarında antikor pozitifliği oranı %75.6 iken, tanı almayan bireylerde bu oranın %3.5 olduğu rapor edilmiştir (Özdemir ve ark., 2021).

Bu tez çalışmasında tanı anında TCH grubu hastaların %41,1'inde serokonversiyon gözlenmiş, 4. ayda hastaların tümü seropozitif bulunmuştur. SCH grubu hastalarda tanıdan 14 gün sonra serokonversiyon oranı %53,3 olarak belirlenmiş ve 3. ayda en yüksek seropozitiflik oranı (%82,1) saptanmıştır (Tablo 4.8. ve Şekil 4.4.) Ciddi ve hafif klinik duruma sahip TCH grubu hastaları arasında seropozitiflik açısından anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 4.9.). Ancak, 14 günde TCH grubunda saptanan seropozitiflik oranları SCH grubuna göre anlamlı oranda daha yüksek görülmüştür (Tablo 4.8. ve Şekil 4.4.) SCH grubu hastalarda 3. aydan itibaren seropozitiflik oranları düşme eğilimi göstermeye başlamıştır.

Anti SARS CoV-2 IgG antikor düzeylerinin ve dinamiklerinin araştırıldığı çalışmalarda anti SARS CoV-2 IgG antikoru ilk olarak hastalığın 4. gününde tespit edilmiş ve en yüksek seviyeleri 4. haftada saptanmıştır. IgM ise ilk olarak hastalığın 3. gününde tespit edilmiş ve ikinci haftada en yüksek seviyelere ulaştığı görülmüştür (Zhang ve ark., 2020). Benzer şekilde başka bir çalışmada, IgG antikor düzeylerinin en yüksek konsantrasyona 30. günde ulaşırken, en yüksek IgM antikor konsantrasyonu 18. günde oluşmuş ancak daha sonra düşmeye başladığı rapor edilmiştir (Qu ve ark., 2020). Başka bir çalışmada IgG antikorunun, enfeksiyondan yaklaşık 10-14 gün sonra oluştuğu, 25. günde pik yaptığı ve haftalarca yüksek kaldığı bulunmuştur (Liu ve ark., 2020).

66 farklı çalışmanın analizi ise anti SARS CoV-2 IgM antikorlarının ilk olarak ortalama 7 günde tespit edildiğini, 20 günde pik yaptığını ve 27. günden itibaren azalmaya başladığını göstermiştir. Anti anti SARS CoV-2 IgG antikorunun IgM antikorundan sonra ortalama 12 günde tespit edildiğini, 25 günde zirveye ulaştığını, ardından plato çizdiğini ve 60 gün sonra düşebileceğini rapor etmiştir (Arkhipova-Jenkins ve ark., 2021). COVID-19 geçirmiş sağlık çalışanlarının verileri değerlendirildiğinde ise en yüksek titrelere semptomların başlangıcından 1-3 ay sonraki dönemde ulaşıldığı ve özellikle 6 aydan sonra anlamlı düşüş izlendiği görülmüştür (<https://www.klimud.org>).

Bu çalışmada TCH grubundaki hastaların ortanca anti SARS CoV-2 IgG antikor düzeyleri incelendiğinde; IgG antikor düzeylerinin 7. günde pik yaptığı, 2 ay boyunca düzeylerini koruduğu ve 3. aydan itibaren düşmeye başladığı görülmüştür. SCH grubu hastalarda ise anti SARS CoV-2 IgG antikor ortanca düzeylerinin üçüncü ayda pik yaptığı ve çalışma periyodu süresince düzensiz seyir izlediği görülmüştür. 14, 28, 60, 90 ve 120. günlerde TCH grubu hastalardaki antikor düzeyleri SCH grubu hastalara göre anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur (Tablo 4.10, Şekil 4.7.).

Yapılan çalışmalarda, antikor yanıtlarının hastalık şiddetine göre değiştiğini göstermektedir. Çalışmalarda genel olarak hastalık şiddeti ile antikor düzeylerindeki varyasyon (prevalans yerine) değerlendirilmiştir. Çok sayıda çalışmada hastalık şiddeti ile antikor düzeyleri arasında çelişkili bulgular rapor edilmiştir. Bununla birlikte, daha büyük örneklem boyutlarına (100'den fazla katılımcı) ve düşük yanlışlık riskine sahip beş çalışma analiz edilmiş ve şiddetli hastalığın daha yüksek antikor yanıtı ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Arkhipova-Jenkins ve ark., 2021). Lynch ve ark., (2021) da ciddi hastalardaki IgG antikor yanıtını hafif hastalığı olanlarla karşılaştırmış ve ciddi hastalarda 5. günden sonraki tüm aralıklarda pik ölçümlerini anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Başka bir çalışma, hastaların iyileşme fazı serumlarındaki (35 gün içinde) medyan IgG ve IgM seviyelerini şiddetli ve şiddetli olmayan hastalar arasında karşılaştırılmış ve erken evrede (<14 gün) ciddi hastalığı olanlarda daha yüksek IgM seviyeleri tespit ederken, geç evrede (≥ 21 gün) daha yüksek IgG seviyeleri tespit etmişlerdir (Zhang ve ark., 2020). COVID-19 geçirmiş sağlık çalışanlarında aşı etkinliğini değerlendiren bir çalışmada, pandemi başlangıcından yaklaşık bir yıl sonra uygulanan 2 doz Sinovac aşısı sonrası antikor titrelerinin hastalık başlangıcındaki antikor titresine yakın ancak nispeten daha düşük düzeylere ulaştığı rapor edilmiştir (<https://www.klimud.org>).

TCH grubu hastalarda klinik durumlarına göre hastalar incelenmiş ve ciddi ve hafif klinik duruma sahip hastalar arasında antikor düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 4.11. ve Şekil 4.10.) SCH grubu da aşı olma durumlarına göre incelenmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. Ancak aşı olan grupta antikor titrelerinin başlangıç düzeylerine göre daha yüksek olduğu ve aşısız hastalarda antikor titrelerinin 3. aydan itibaren hızlı bir düşüş gösterdiği bulunmuştur (Tablo 4.12. ve Şekil 4.11.).

Nötralize edici antikorlar (NAb), viral replikasyonun azaltılmasında ve virüs klirensinde önemli rol oynar, viral hastalıklara karşı koruma veya tedavi için önemli bağışıklık ürünü olarak kabul edilirler. Bu fonksiyonlarını, virionun reseptörlere bağlanmasını inhibe ederek, konak hücrelere virüs girşini bloke ederek ve endozomda viral genomların soyulmasını önleyerek veya virüs parçacıklarının birikmesine neden olmak üzere birkaç yolla gerçekleştirmektedir. Bununla birlikte, COVID-19 hastalığındaki rolleri daha az tanımlanmıştır. Ancak, nötralize edici aktivitenin S, N proteinleri ve RBD bölgesine karşı IgG antikorlarının varlığı ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Arkhipova-Jenkins ve ark., 2021).

Yapılan bir çalışmada, semptomların başlamasından sonraki ortalama 7 günde hastaların %55,2'sinde saptanabilir düzeyde NAb olduğu tespit edilmiştir. NAb titrelerinin 6-11. günler arasında pik yaptığı ve semptom başlangıcından sonra 15 ve 22. günler arasında plato yaptığı görülmüştür. Plato titreleri oldukça yüksek (ortalama 1/640) bulunmuştur (Koblischke ve ark., 2020). Psödovirüs nötralizasyon testi ile yapılan başka bir çalışmada, NAb titreleri semptom başlangıcından sonraki ilk 7-10 gün boyunca düşük bulunmuş, 2-3 hafta sonra arttığı gözlenerek ortalama 33 günde (ÇAG: 24-59 gün) pik yaptığı saptanmıştır. NAb düzeyleri hastaların %60'ında plato yaparken, %93,3'ünde 3 aylık çalışma süresi boyunca kademeli olarak azalmıştır. Hastaların yaklaşık olarak %20'sinde, %70'den fazla düşüş görülmüştür. Bununla birlikte, hastanede yatış dönemi ile konvelesan dönemde meydana gelen pik titreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Wang ve ark., 2021).

Crawford ve ark., (2021) yaptıkları çalışmada, NAb titrelerinin şiddetli hastalığı olan bireylerde, semptom başlangıcından 1-2 ay sonrasında pik yaptığı görülmüş, semptom başlangıcından sonra her geçen ayda düşüş göstererek 1.aydan 4 ay kadar geçen sürede yaklaşık olarak 4 kat azaldığı bildirilmiştir. Bununla birlikte, iyileşen bireylerin çoğunda, semptom başlangıcından 3-4 ay sonrasında bile hastaların önemli ölçüde nötralize edici titrelerle sahip olduğu rapor edilmiştir. Bu çalışmada psödovirüs nötralizasyon yöntemi kullanılmış olup, nötralizan antikorlar hastalık başlangıcından sonraki 152. günde dahi pozitif saptanmıştır (Crawford ve ark., 2021).

Çin'de yapılan başka bir çalışmada, hastalık başlangıcından sonraki ilk 15 gün içinde toplanan 77 örneğin 60'ında (%77,92) NAb saptanmış ve titrelerinin ortalama 24,18

gün sonra yüksek düzeye ulaştığı gösterilmiştir. NAb titrelerinin yarılanma ömrünün Ig M antikordan daha yavaş, Ig G antikordan daha hızlı olduğu bildirilmiştir (Yao ve ark., 2021). Sağlık çalışanlarında yapılan bir diğer çalışmada, hastalardan 21. günde alınan serum örneklerinin tümünde (%100) 1/20 titrede 2. aydaki serum örneklerinin %88,2'sinde 1/20 titrede ve 3. aydaki serum örneklerinin %84,6'sında 1/10 titrede nötralize edici aktivite bildirilmiştir (Marot ve ark., 2021).

Sekiz kesitsel ve kohort çalışmasının analizi sonucu hemen hemen tüm bireylerin (%99) NAb geliştirdiği görülmüştür. Çalışmalar, NAb'lerin dayanıklılığı ile ilgili farklı sonuçlar bildirmiştir. Bazıları nötralizan antikor düzeylerinin hastalığın akut fazından sonra düştüğünü tespit etmişken, diğer çalışmalar NAb'lerin sabit kaldığını ve birkaç ay boyunca saptanabilir düzeylerde olduğunu rapor etmişlerdir (Arkhipova-Jenkins ve ark., 2021). Ancak çalışmalarda farklı nötralizasyon testlerinin kullanmış olması ve numunelerin farklı zaman noktalarında alınması analiz sonuçlarının güvenilirliğini etkilediği düşünülmektedir.

Genel olarak çalışmalarda, daha şiddetli hastalığı olan bireylerin erken konvelesan dönemde daha yüksek NAb titrelerine sahip olduğu bildirilmiştir. Crawford ve ark., (2021), semptom başlangıcından yaklaşık 30 ve 60 gün sonra, hastaneye yatış gerektiren hastaların, gerektirmeyenlere göre önemli ölçüde daha yüksek NAb titrelerine sahip olduğunu rapor etmiştir. Semptom başlangıcından sonraki 30 günden 90 güne kadar alınan serumlarda, hospitalize edilmeyen hastalardaki antikor titrelerinin (yaklaşık 18 kat) hospitalize hastalara kıyasla (yaklaşık 3 kat) önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir. Ancak, semptom başlangıcından 90 gün sonrasında önemli ölçüde farklılık göstermediği saptanmıştır. Tüm zaman noktalarında, asemptomatik bireylerin nötralizasyon titreleri, semptomatik hastaneye yatırılmamış bireylerle benzer bulunmuştur.

NAb'lerin mikronötralizasyon testi ile araştırıldığı bir çalışmada, hastalık başlangıcından 3 hafta sonrasında pnömoni saptanan grubun %100'ünde, hafif semptomatik hastaların %93,9'unda ve asemptomatik/anozmi hastalarının %80'inde NAb üretimi gözlenmiştir. Pnömoni grubundaki tüm hastalar yüksek MN titresi ($\geq 1:80$) gösterirken, hafif semptomatik grupların %36,7'si ve asemptomatik/anozmi gruplarının %20'sinin yüksek titreye sahip olduğu rapor edilmiştir (Ko ve ark., 2020).

Benzer olarak, daha şiddetli hastalığı olan bireylerin konvelesan dönemde daha erken ve daha yüksek NAb titrelerine sahip olduğu diğer çalışmalarda da gösterilmiştir. (Seow, 2020; Wang P, 2020; Salazar E,2020). Ancak Koblichke M ve ark., (2020), genel olarak literatürün aksine başvuru sırasındaki seropozitiflik ile hastalığın şiddeti arasında bir ilişki görülmediğini ve dikkat çekici bir şekilde, farklı hastalık şiddetine sahip gruplar arasında nötralize edici antikorların kinetik ve plato seviyelerinde de anlamlı bir fark olmadığı bildirmiştir.

Bu çalışmada tanı anında hastaların %44,8'inde, 28. gün hastaların tümünde (%100), 4. ayda ise %90,9'unda saptanabilir düzeyde NAb varlığı tespit edilmiştir. Literatür verileri ile uyumlu olarak NAb titrelerinin 28. günde pik yaptığı bulunmuştur. NAb titrelerinin 2. aydan itibaren düşüş eğilimi gösterdiği saptanmıştır. Hastalar klinik durumlarına göre incelendiğinde, tanı anında her iki grupta da benzer titreler bulunmuştur. Üçüncü gün alınan örneklerde ortalama antikor titreleri hafif grupta daha yüksek bulunmuş ancak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p=0.153$). Ciddi grupta ortalama antikor düzeyleri yedinci güne gelindiğinde hafif gruptan daha yüksek bulunmuştur. Ortalama NAb titrelerinin literatür verileri ile benzer şekilde ciddi grupta daha erken pik yaptığı görülmüştür (ciddi grupta 14, hafif grupta 28. Günde). On dördüncü günden sonra ciddi gruptaki hastalarda nötralizan antikor titreleri değerlendirilememiştir (Tablo 4.13. ve Şekil 4.15.). SCH grubunda hücre kültürü yöntemi ile nötralizan antikor düzeyleri bakılamamıştır.

Nötralize edici antikorların tespiti ve miktarının belirlenmesi için altın standart test, geleneksel plak azaltma nötralizasyon testidir (PRNT). Ancak bu test, canlı virüs gerektirdiğinden sadece BSL-3 laboratuvarında çalışılabilmektedir. Deneyimli personel ve özel ekipmalar gerektirir. Emek yoğun, zaman alıcı ve ELISA veya lateral akış testleri gibi diğer antikor saptama yöntemlerine kıyasla maliyeti daha yüksek bir yöntemdir. Bu dezavantajların üstesinden gelmek için, SARS CoV-2'ye karşı nötralize edici antikorların tespiti ve miktarının belirlenmesi için, BSL-2 laboratuvarında çalışılabilen psödovirüslerin kullanıldığı nötralizasyon testleri ve ELISA formatında sVNT testleri geliştirilmiştir. sVNT'lerin birkaç gün yerine 2-3 saat içinde sonuç vermesi ve canlı virüs gerektirmemesi bu testin önemli avantajlarıdır (Hofmann ve ark., 2021).

Liteartürde yer alan bir çalışmada, hastalık başlangıcından yaklaşık 1,5-2 ay sonra toplanan 40 numuneden 22'sinin %50'nin üzerinde nötralizasyon aktivitesi gösterdiği saptanmıştır (Sholukh ve ark., 2021). Aşılı ve aşısız hastalarda sVNT performansının değerlendirildiği başka bir çalışmada bağlanma inhibisyonu değerleri aşılı hastalarda önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur (Chan ve ark., 2021). Sağlık çalışanlarının dahil edildiği başka bir çalışmada hastalık başlangıcından sonraki 30-45 gün arası dönemde alınan plazma örneklerinde ölçülen sVNT değerlendirilmiş ve 92 olgunun 90'ında (%97,8) %70 üzerinde aktivite saptanmıştır (Tuyji ve ark., 2021).

Bu çalışmada, 90. gün alınan serum örneklerinde SHC grubu hastaların 6'sının (%26,1) düşük, 11'inin (%47,8) orta, 6'sının (%26,1) yüksek titrede temsili nötralizan antikora sahip olduğu görülmüştür. Temsili nötralizan antikor düzeylerinin yaş, cinsiyet ve aşı durumuna göre dağılımları incelendiğinde bu parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (sırasıyla $p=0.400$, $p=0.077$ ve $p=0.830$) (Tablo 4.14.-4.16.) TCH grubu hastalarda temsili nötralizan antikor düzeyleri bakılamamıştır.

Yapılan çalışmalarda sVNT'nin konvansiyonel hücre kültürü yöntemleri kadar spesifik ve duyarlı olduğu gösterilmiştir (Tan ve ark., 2020). Ancak, farklı epitoplara hedefleyen antikorların sinerjistik etkisinin hesaplanamaması ve yalnızca RBD/ACE-2 etkileşimini bloke eden antikorların saptanarak nötralize eden diğer antikorların belirlenememesi bu yöntemin önemli dezavantajlarıdır (Sholukh ve ark., 2021).

Bu çalışmada TCH grubu hastaların yarısında komorbid hastalık görülmüş ve en sık saptanan komorbid hastalıkların; DM, HT ve ürolitiasis olduğu belirlenmiştir.

TCH grubu hastalardan ciddi seyir gösterenlerin ortalama yaşı hafif seyir gösterenlere göre anlamlı derece yüksek bulunmuş, hastalığın şiddeti ile cinsiyet arasında bir anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Hastaların biyokimyasal ve hematolojik parametrelerinden; ferritin, CRP ve PCT ciddi seyir gösteren hastalarda anlamlı düzeyde yüksek, lenfosit düzeyi ise anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur. D-dimer düzeylerinin ciddi hastalarda daha yüksek iken bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır.

Hastalarda en sık saptanan semptomların sırasıyla; halsizlik ve kas/eklem ağrısı, öksürük ve ateş olduğu tespit edilmiştir.

SARS CoV-2, en yüksek oranda NF örneklerinde, daha sonra sırasıyla; dışkı, balgam ve OF örneklerinde saptanmıştır.

Ciddi klinik seyir gösteren sadece iki hastanın kan örneğinde virüs saptanmış, hafif klinik seyir gösteren hastaların kan örneklerinde tespit edilmemiştir.

Viral saçılım süresinin solunum yolu örneklerinde 14 gün, dışkı örneklerinde 60 güne kadar devam ettiği, kan örneklerinde ise 7. günden itibaren virüs saptanmadığı bulunmuştur.

Hafif hastalık seyri gösteren bireylerin NF ve OF örneklerinde 14. güne, ciddi hastalık seyri gösteren bireylerde ise 7. güne kadar viral RNA saptanmıştır. Ciddi hastaların tümünde (%100), hafif hastaların %43,5'inde 14.günde balgam örneklerinde virüs tespit edilmiştir.

Hem üst hem de alt solunum yolu örneklerinde viral yük, tanı anında en yüksek düzeyde bulunmuştur. Bu nedenle bulaştırıcılık düzeylerinin hastalık başlangıcında daha yüksek olduğu söylenebilir.

Viral yük açısından dışkı örneklerinde viral yükün 7. günde pik yaptığı ve literatürle uyumlu olarak hastalık süresince düzensiz seyir izlediği görülmüştür. Solunum yolu örneklerindeki viral yüklerin hem hafif hem de ciddi seyir izleyen hastalarda benzer olduğu saptanmıştır.

TCH grubu hastaların ilk tanı anında %41,1'inde spesifik IgG antikor pozitifliği gözlenmiş ve 4. ayda hastaların tümü seropozitif bulunmuştur. SCH grubu hastalarda tanıdan 14. gündeki serokonversiyon oranı %53,3 olarak belirlenmiş ve en yüksek seropozitiflik oranı 3. ayda saptanmıştır. Ciddi ve hafif klinik duruma sahip TCH grubu hastalar arasında seropozitiflik açısından anlamlı bir fark görülmemiştir. Ancak, 14. günde TCH grubunda saptanan seropozitiflik oranları SCH grubuna göre anlamlı oranda daha yüksek görülmüştür. SCH grubu hastalarda 3. aydan itibaren seropozitiflik oranları düşme eğilimi göstermiştir.

TCH grubunda anti SARS CoV-2 IgG antikor düzeylerinin 7. günde pik yaptığı, 2 ay boyunca düzeylerini koruduğu ve 3. aydan itibaren düşmeye başladığı görülmüştür. SCH grubu hastalarda ise anti SARS CoV-2 IgG antikor ortanca düzeylerinin 3. ayda pik yaptığı ve sonrasında azalmaya başladığı görülmüştür. Tüm çalışma periyotları boyunca, TCH grubu hastalardaki antikor düzeyleri SCH grubu hastalara göre anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur.

Hem ciddi ve hafif klinik duruma TCH grubu, hem de aşı ve aşısız SCH grubu hastalar arasında antikor düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir.

Aşı olan SCH grubunda antikor titrelerinin başlangıç düzeylerine göre daha yüksek olduğu ve aşısız hastalarda antikor titrelerinin 3. aydan itibaren hızlı bir düşüş gösterdiği bulunmuştur.

TCH grubu hastalarda NAb titrelerinin literatür ile uyumlu olarak 28. günde pik yaptığı ve 2. aydan itibaren düşüş eğilimi gösterdiği bulunmuştur. NAb titrelerinin literatürle benzer şekilde ciddi seyir gösteren hastalarda daha erken pik yaptığı görülmüştür.

SCH grubu hastaların tümünde temsili NAb olduğu ve %26,1'nin yüksek titrede olduğu saptanmıştır. Aşı ve aşısız SCH grubu hastalar arasında temsili NAb yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir.

Bu çalışma için çeşitli kısıtlayıcı unsurlar bulunmaktadır. Çalışmadaki örnek alma periyotlarında tüm hastalardan örnek alınamamış olması, TCH ve SCH grubu hastalarda tüm verilerin ve özelliklerin incelenememiş olması, ekonomik nedenlerle tüm hastalarda hücre kültürü nötralizasyon testlerinin yapılamamış olması, testlerin ve örnek tiplerinin tanıdaki performansı incelenirken negatif hasta grubunun incelenmemiş olması, tedavi gibi viral saçılımı etkileyen unsurların varlığı sayılabilir.

Sonuç olarak, COVID-19 hastalarında yaş ve komorbiditenin varlığı ile yüksek ferritin, D-dimer, CRP ve PCT ile düşük lenfosit düzeyi prognoz açısından önemli olduğundan bu parametrelerin bakılması oldukça önemlidir. Balgam, dışkı ve daha birçok örnekte pozitiflik olduğu saptanmış olsa da tanıda üst solunum yolu örnekleri

en duyarlı ve pratik örnek tipleridir. Dışkı, kan ve idrar örneklerinde virüs saptanmıştır. Ancak bunların klinik yönden önemi belirsizdir. Virüsün dışkıda 2 aya kadar mevcut olduğu görülmüş olup bunun fekal-oral yolla bulaşta önemi olup olmadığı hakkında daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu söylenebilir. Hastalarda, büyük oranda 4. ayda antikor pozitifliği saptanmış ve 3. aydan sonra antikor titrelerinin 3. aydan itibaren hızlı bir düşüş gösterdiği bulunmuştur. Bu çalışmada aşılamanın antikor titrelerinin yüksek olmasına katkı sağladığı bir kez daha ortaya konulmuştur. Ayrıca NAb titrelerinin literatür ile uyumlu olarak 28. günde pik yaptığı, 2. aydan itibaren düşüş eğilimi gösterdiği ve koruyucu antikor düzeylerinin 4. ayda da devam ettiği belirlenmiştir. Bu bulgular, aşılama stratejileri ve pandemi ile mücadelede göz ardı edilmemelidir. Pandeminin devam ettiği günümüz koşullarında virüs yeni mutant formlarının da çıktığı düşünüldüğünde, virüs saçılım ve antikor titre çalışmalarının yeni mutant formlar ile de değerlendirilmesi için daha detaylı ve kapsamlı araştırmalara ihtiyaç vardır.

6. KAYNAKLAR

Agostini ML, Andres EL, Sims AC, et al. Coronavirus Susceptibility to the Antiviral Remdesivir (GS-5734) Is Mediated by the Viral Polymerase and the Proofreading Exoribonuclease. *mBio*. 2018;9(2):e00221-18.

Akin S, Büyük B, Keskin Ö. Overview of Elderly Patients and Comorbidities in COVID-19 Pandemic. *SCIE*. 2020; 31(1): 86-89.

Al Saiegh F, Ghosh R, Leibold A, et al. Status of SARS CoV-2 in cerebrospinal fluid of patients with COVID-19 and stroke. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2020;91(8):846-848.

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

Amanat F, Stadlbauer D, Strohmeier S, et al. A serological assay to detect SARS CoV-2 seroconversion in humans. *Nat Med*. 2020;26(7):1033-1036.

Argyropoulos KV, Serrano A, Hu J, et al. Association of Initial Viral Load in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS CoV-2) Patients with Outcome and Symptoms. *Am J Pathol*. 2020;190(9):1881-1887.

Arkipova-Jenkins I, Helfand M, Armstrong C, et al. Antibody Response After SARS CoV-2 Infection and Implications for Immunity: A Rapid Living Review. *Ann Intern Med*. 2021;174(6):811-821.

Arons MM, Hatfield KM, Reddy SC, et al. Presymptomatic SARS CoV-2 infections and transmission in a skilled nursing facility. *N Engl J Med* 2020; 382: 2081–90.

Assadiasl S, Fatahi Y, Zavvar M, Nicknam MH. COVID-19: signficance of antibodies. *Hum Antibodies*. 2020;28(4):287–97.

Azghandi M, Kerachian MA. Detection of novel coronavirus (SARS CoV-2) RNA in peripheral blood specimens. *J Transl Med*. 2020;18(1):412.

Badu K, Oyebola K, Zahouli JZB, et al. SARS CoV-2 Viral Shedding and Transmission Dynamics: Implications of WHO COVID-19 Discharge Guidelines. *Front Med (Lausanne)*. 2021;8:648660.

Bai HX, Hsieh B, Xiong Z, et al. Performance of Radiologists in Differentiating COVID-19 from Non-COVID-19 Viral Pneumonia at Chest CT. *Radiology*. 2020;296(2):E46-E54.

Bairwa M, Kumar R, Beniwal K, Kalita D, Bahurupi Y. Hematological profile and biochemical markers of COVID-19 non-survivors: A retrospective analysis. *Clin Epidemiol Glob Health*. 2021;11:100770.

Bennasrallah C, Zemni I, Dhouib W, et al. Factors associated with a prolonged negative conversion of viral RNA in patients with COVID-19. *Int J Infect Dis*. 2021;105:463-469.

Bewley, K.R., Coombes, N.S., Gagnon, L. et al. Quantification of SARS CoV-2 neutralizing antibody by wild-type plaque reduction neutralization, microneutralization and pseudotyped virus neutralization assays. *Nat Protoc* 2021;16, 3114–3140.

Biswas M, Rahaman S, Biswas TK, Haque Z, Ibrahim B. Association of Sex, Age, and Comorbidities with Mortality in COVID-19 Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis [published online ahead of print, 2020 Dec 9]. *Intervirology*. 2020;1-12.

Blaising J, Levy PL, Polyak SJ, et al. Arbidol inhibits viral entry by interfering with clathrin-dependent trafficking. *Antiviral Res*. 2013;100(1):215–219

Borges do Nascimento IJ, O'Mathúna DP, von Groote TC, et al. Coronavirus disease (COVID-19) pandemic: an overview of systematic reviews. *BMC Infect Dis*. 2021;21(1):525.

Boriskin Y, Leneva I, Pecheur E-I, et al. Arbidol: a broad-spectrum antiviral compound that blocks viral fusion. *Curr Med Chem*. 2008;15(10):997–1005.

Brihn A, Chang J, OYong K, et al. Diagnostic Performance of an Antigen Test with RT-PCR for the Detection of SARS CoV-2 in a Hospital Setting - Los Angeles County, California, June-August 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2021;70(19):702-706.

Broadbent AJ, Santos CP, Anafu A, Wimmer E, Mueller S, Subbarao K. Evaluation of the attenuation, immunogenicity, and efficacy of a live virus vaccine generated by codon-pair bias de-optimization of the 2009 pandemic H1N1 influenza virus, in ferrets. *Vaccine*. 2016;34(4):563-570.

Bwire GM, Majigo MV, Njiro BJ, Mawazo A. Detection profile of SARS CoV-2 using RT-PCR in different types of clinical specimens: A systematic review and meta-analysis. *J Med Virol*. 2021;93(2):719-725.

Cai J, Sun W, Huang J, Gamber M, Wu J, He G. Indirect Virus Transmission In Cluster Of COVID-19 Cases, Wenzhou, China, 2020. *Emerg Infect Dis.* 2020;26(6):1343-1345.

Cascella M, Rajnik M, Aleem A, Dulebohn SC, Di Napoli R. Features, Evaluation, and Treatment of Coronavirus (COVID-19). In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; September 2, 2021.

Cavalli G, De Luca G, Campochiaro C, et al. Interleukin-1 blockade with high-dose anakinra in patients with COVID-19, acute respiratory distress syndrome, and hyperinflammation: a retrospective cohort study. *Lancet Rheumatol.* 2020;2(6):e325–e331.

Cevik M, Bamford CGG, Ho A. COVID-19 pandemic—a focused review for clinicians. *Clin Microbiol Infect.* 2020;26:842–847.

Cevik M, Kuppalli K, Kindrachuk J, Peiris M. Virology, transmission, and pathogenesis of SARS CoV-2. *BMJ.* 2020;371:m3862.

Cevik M, Tate M, Lloyd O, Maraolo AE, Schafers J, Ho A. SARS CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV viral load dynamics, duration of viral shedding, and infectiousness: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Microbe.* 2021;2(1):e13-e22.

Chan KH, Leung KY, Zhang RR, et al. Performance of a Surrogate SARS CoV-2-Neutralizing Antibody Assay in Natural Infection and Vaccination Samples. *Diagnostics (Basel).* 2021;11(10):1757.

Chang CK, Sue SC, Yu TH, et al. Modular organization of SARS coronavirus nucleocapsid protein. *J Biomed Sci.* 2006;13(1):59-72.

Chen N, Zhou M, Dong X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet.* 2020;395(10223):507– 513.

Chen W, Lan Y, Yuan X, et al. Detectable 2019-nCoV viral RNA in blood is a strong indicator for the further clinical severity. *Emerg Microbes Infect.* 2020;9(1):469-473. Published 2020 Feb 26.

Chen WH, Tao X, Agrawal AS, et al. Yeast-expressed SARS-CoV recombinant receptor-binding domain (RBD219-N1) formulated with aluminum hydroxide induces protective immunity and reduces immune enhancement. *Vaccine.* 2020;38(47):7533-7541.

Chen Y, Chen L, Deng Q, et al. The presence of SARS CoV-2 RNA in the feces of COVID-19 patients. *J Med Virol.* 2020;92(7):833-840.

Chen Y, Liu Q, Guo D. Emerging coronaviruses: genome structure, replication, and pathogenesis. *J Med Virol* 2020;92:418-23.

Cheng VC, Lau SK, Woo PC, Yuen KY. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus As An Agent Of Emerging And Reemerging Infection. *Clin Microbiol Rev.*2007;20:660-94.

Colavita F, Lapa D, Carletti F, et al. SARS CoV-2 Isolation From Ocular Secretions of a Patient With COVID-19 in Italy With Prolonged Viral RNA Detection. *Ann Intern Med.* 2020;173(3):242-243.

Coutard B, Valle C, de Lamballerie X, Canard B, Seidah NG, Decroly E. The spike glycoprotein of the new coronavirus 2019-nCoV contains a furin-like cleavage site absent in CoV of the same clade. *Antiviral Res.* 2020;176:104742.

Crawford KHD, Dingens AS, Eguia R, et al. Dynamics of Neutralizing Antibody Titers in the Months After Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection. *J Infect Dis.* 2021;223(2):197-205.

Crawford KHD, Eguia R, Dingens AS, et al. Protocol and Reagents for Pseudotyping Lentiviral Particles with SARS CoV-2 Spike Protein for Neutralization Assays. *Viruses.* 2020;12(5):513.

da Silva SJR, Silva CTAD, Guarines KM, et al. Clinical and Laboratory Diagnosis of SARS CoV-2, the Virus Causing COVID-19. *ACS Infect Dis.* 2020;6(9):2319-2336.

Day M. Covid-19: four fifths of cases are asymptomatic, China figures indicate. *BMJ.* 2020;369:m1375.

De Clercq E. New nucleoside analogues for the treatment of hemorrhagic fever virus infections. *Chem Asian J.* 2019;14 (22):3962–3968.

Defêche J, Azarzar S, Mesdagh A, et al. In-Depth Longitudinal Comparison of Clinical Specimens to Detect SARS CoV-2. *Pathogens.* 2021;10(11):1362.

Deng W, Bao L, Gao H, et al. Ocular conjunctival inoculation of SARS CoV-2 can cause mild COVID-19 in rhesus macaques. *Nat Commun.* 2020;11(1):4400.

Denison MR, Perlman S. Translation and processing of mouse hepatitis virus virion RNA in a cell-free system. *J Virol.* 1986;60(1):12-18.

Dhama K, Khan S, Tiwari R, et al. Coronavirus Disease 2019-COVID-19. *Clin Microbiol Rev.* 2020;33(4):e00028-20. Published 2020 Jun 24.

Dimopoulos G, de Mast Q, Markou N, et al. Favorable anakinra responses in severe Covid-19 patients with secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Cell Host Microbe.* 2020;28(1):117–123.

Dinç F, Appak Ö, Sayır A. COVID-19 mikrobiyolojik tanı testleri DEU Tıp Derg 2021;35(Özel Sayı 1):S55-S69.

Docherty AB, Harrison EM, Green CA, Hardwick HE, Pius R, Norman L, et al. Features of 20 133 UK patients in hospital with covid-19 using the ISARIC WHO Clinical Characterisation Protocol: prospective observational cohort study. BMJ 2020;369:m1985.

Du RH, Liang LR, Yang CQ, Et Al. Predictors Of Mortality For Patients With COVID-19 Pneumonia Caused By SARS CoV-2: A Prospective Cohort Study. Eur Respir J. 2020 Sep 24;56(3).

Embregts CWE, Verstrepen B, Langermans JAM, et al. Evaluation of a multi-species SARS CoV-2 surrogate virus neutralization test. One Health. 2021;13:100313.

Eren C. Covid-19 Pandemisinde Mikrobiyoloji Laboratuvar Tanı Metodları Sakarya Tıp Dergisi 2020;10(4):700-704.

Erensoy S. COVID-19 pandemisinde SARS-CoV-2 ve mikrobiyolojik tanı dinamikleri. Mikrobiyol Bul 2020;54(3):497-509.

Fafi-Kremer S, Bruel T, Madec Y, et al. Serologic responses to SARS CoV-2 infection among hospital staff with mild disease in eastern France. EBioMedicine. 2020;59:102915.

Fenizia C, Biasin M, Cetin I, et al. Analysis of SARS CoV-2 vertical transmission during pregnancy. Nat Commun. 2020;11(1):5128.

Figueiredo-Campos P, Blankenhaus B, Mota C, Gomes A, Serrano M, Ariotti S, et al. Seroprevalence of anti-SARS CoV-2 antibodies in COVID19 patients and healthy volunteers up to 6 months post disease onset. Eur J Immunol. 2020;50(12):2025–40.

Fischer W, Eron JJ, Holman W, et al. Molnupiravir, an Oral Antiviral Treatment for COVID-19. Preprint. medRxiv. 2021;2021.06.17.21258639.

Gao Q, Bao L, Mao H, et al. Development of an inactivated vaccine candidate for SARS CoV-2. Science. 2020;369(6499):77-81.

Gao Y, Yan L, Huang Y, et al. Structure of the RNA-dependent RNA polymerase from COVID-19 virus. Science. 2020;368(6492):779-782.

Goldman E. Exaggerated Risk Of Transmission Of COVID-19 By Fomites [Published Correction Appears In Lancet Infect Dis. Lancet Infect Dis. 2020;20(8):892-893.

Gralinski LE, Menachery VD. Return of the Coronavirus: 2019-nCoV. *Viruses*. 2020;12(2):135.

Groß R, Conzelmann C, Müller JA, et al. Detection of SARS CoV-2 in human breastmilk. *Lancet*. 2020;395(10239):1757-1758.

Guan WJ, Liang WH, Zhao Y, et al. Comorbidity and its impact on 1590 patients with COVID-19 in China: a nationwide analysis. *Eur Respir J*. 2020;55(5):2000547.

Gudbjartsson DF, Norddahl GL, Melsted P, et al. Humoral Immune Response to SARS CoV-2 in Iceland. *N Engl J Med*. 2020;383(18):1724-1734.

Guo L, Ren L, Yang S, et al. Profiling Early Humoral Response to Diagnose Novel Coronavirus Disease (COVID-19). *Clin Infect Dis*. 2020;71(15):778-785.

Gül F. Akut Solunum Yolu Enfeksiyonlarında Human Coronavirus İnsidansı. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2009, İstanbul (Danışman: Bozkaya E).

Halfmann PJ, Hatta M, Chiba S, et al. Transmission of SARS CoV-2 in Domestic Cats. *N Engl J Med*. 2020;383(6):592-594.

Han MS, Seong M-W, Kim N. Viral RNA load in mildly symptomatic and asymptomatic children with COVID-19, Seoul, South Korea. *Emerg Infect Dis*. 2020;26:2497–2499.

Haque SM, Ashwaq O, Sarief A, Azad John Mohamed AK. A comprehensive review about SARS CoV-2. *Future Virol*. 2020;15(9):625-648.

Harvala H, Robb ML, Watkins N, et al. Convalescent plasma therapy for the treatment of patients with COVID-19: Assessment of methods available for antibody detection and their correlation with neutralising antibody levels. *Transfus Med*. 2021;31(3):167-175.

Hassanipour S, Arab-Zozani M, Amani B, Heidarzad F, Fathalipour M, Martinez-de-Hoyo R. The efficacy and safety of Favipiravir in treatment of COVID-19: a systematic review and meta-analysis of clinical trials. *Sci Rep*. 2021;11(1):11022.

He X, Lau EHY, Wu P. Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat Med*. 2020;26:672–675.

Hoffmann C. Covid Reference, Sixth Edition. SteinHauser Verlag; Amedeo, Germany; 2021.

Hoffmann M, Kleine-Weber H, Pöhlmann S. A Multibasic Cleavage Site in the Spike Protein of SARS CoV-2 Is Essential for Infection of Human Lung Cells. *Mol Cell*. 2020;78(4):779-784.

Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, et al. SARS CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*. 2020;181(2):271-280.

Hofmann N, Grossege M, Neumann M, Schaade L, Nitsche A. Detection of neutralizing antibodies against SARS CoV-2 by using a commercial surrogate virus neutralization ELISA: can it substitute the classical neutralization test? *BMC*. 2021.10.12.21264881

Holshue ML, DeBolt C, Lindquist S, et al. First case of 2019 novel coronavirus in the United States. *N Engl J Med*. 2020;382:929-936.

Hu X, Xing Y, Jia J. Factors associated with negative conversion of viral RNA in patients hospitalized with COVID-19. *Sci Total Environ*. 2020;728

Huang J, Mao T, Li S, et al. Long period dynamics of viral load and antibodies for SARS CoV-2 infection: an observational cohort study. *medRxiv*; 2020

Huang, C., Wang, Y., Li, X., et al. (2020). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 395, 497–506.

Hui KPY, Cheung MC, Perera RAPM, et al. Tropism, replication competence, and innate immune responses of the coronavirus SARS CoV-2 in human respiratory tract and conjunctiva: an analysis in ex-vivo and in-vitro cultures. *Lancet Respir Med*. 2020;8(7):687-695.

Inoue Y, Tanaka N, Tanaka Y, et al. Clathrin-dependent entry of severe acute respiratory syndrome coronavirus into target cells expressing ACE2 with the cytoplasmic tail deleted. *J Virol*. 2007;81(16):8722-8729.

Iyer AS, Jones FK, Nodoushani A, et al. Persistence and decay of human antibody responses to the receptor binding domain of SARS CoV-2 spike protein in COVID-19 patients. *Sci Immunol*. 2020;5(52):eabe0367.

Jones JM, Kracalik I, Rana MM, et al. SARS CoV-2 Infections among Recent Organ Recipients, March-May 2020, United States. *Emerg Infect Dis*. 2021;27(2):552-555.

Jung F, Krieger V, Hufert FT, Küpper JH. Herd immunity or suppression strategy to combat COVID-19. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2020;75(1):13-17.

Kam KQ, Yung CF, Cui L, et al. A Well Infant With Coronavirus Disease 2019 With High Viral Load. *Clin Infect Dis*. 2020;71(15):847-849.

Kaya H, Çalışkan A, Okul M, Sarı T, Akbudak İH. Detection of SARS CoV-2 in the tears and conjunctival secretions of Coronavirus disease 2019 patients. *J Infect Dev Ctries*. 2020;14(9):977-981.

Kim ES, Chin BS, Kang CK. Clinical course and outcomes of patients with severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection: a preliminary report of the first 28 patients from the Korean cohort study on COVID-19. *J Korean Med Sci.* 2020;35:e142.

Kim JM, Kim HM, Lee EJ, et al. Detection and Isolation of SARS CoV-2 in Serum, Urine, and Stool Specimens of COVID-19 Patients from the Republic of Korea. *Osong Public Health Res Perspect.* 2020;11(3):112-117.

KK-W, Tsang OT-Y, Leung W-S, Tam AR, Wu T-C, Lung DC, et al. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS CoV-2: an observational cohort study. *Lancet Infect Dis* 2020.

Klompas M, Baker MA, Rhee C. Airborne Transmission Of SARS CoV-2: Theoretical Considerations And Available Evidence. *JAMA.* 2020;324(5):441–442.

Ko JH, Joo EJ, Park SJ, et al. Neutralizing Antibody Production in Asymptomatic and Mild COVID-19 Patients, in Comparison with Pneumonic COVID-19 Patients. *J Clin Med.* 2020;9(7):2268.

Koblischke M, Traugott MT, Medits I, et al. Dynamics of CD4 T Cell and Antibody Responses in COVID-19 Patients With Different Disease Severity. *Front Med (Lausanne).* 2020;7:592629.

Korley FK, Durkalski-Mauldin V, Yeatts SD, Schulman K, Davenport RD, DumontLJ, Kassar E, Foster LD, Hah JM, Jaiswal S, Kaplan A. Early Convalescent Plasma for High-Risk Outpatients with COVID-19. *N Engl J Med* 2021; 385:1951-1960.

Krammer F. SARS CoV-2 vaccines in development. *Nature.* 2020;586(7830):516-527.

Kujawski SA, Wong KK, Collins JP. Clinical and virologic characteristics of the first 12 patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) in the United States. *Nat Med.* 2020;26:861–868.

Kwan BC, Leung CB, Szeto CC. Severe acute respiratory syndrome in dialysis patients. *J Am Soc Nephrol.* 2004;15:1883–1888.

Lau SK, Woo PC, Li KS, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus-like virus in Chinese horseshoe bats. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102(39):14040-14045.

Lau SK, Woo PC, Yip CC, Et Al. Coronavirus HKU1 And Other Coronavirus Infections In Hong Kong. *J Clin Microbiol.* 2006;44(6):2063-2071.

Lauer SA, Grantz KH, Bi Q, et al. The Incubation Period of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) From Publicly Reported Confirmed Cases: Estimation and Application. *Ann Intern Med*. 2020;172(9):577-582.

Le TT, Andreadakis Z, Kumar A, et al. The COVID-19 vaccine development landscape. *Nat Rev Drug Discov*. 2020;19(5):305–306.

Li D, Jin M, Bao P, Zhao W, Zhang S. Clinical Characteristics and Results of Semen Tests Among Men With Coronavirus Disease 2019. *JAMA Netw Open*. 2020; 1:3(5):e208292.

Li F. Structure, Function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins. *Annu Rev Virol*. 2016;3(1):237-261.

Li R, Pei S, Chen B, et al. Substantial undocumented infection facilitates the rapid dissemination of novel coronavirus (SARS CoV-2). *Science*. 2020;368(6490):489-493.

Li Y, Xie Z, Lin W, et al. Efficacy and Safety of Lopinavir/Ritonavir or Arbidol in Adult Patients with Mild/Moderate COVID-19: An Exploratory Randomized Controlled Trial. *Med*. 2020;1(1):105-113.e4.

Lian J, Jin X, Hao S, Cai H, Zhang S, Zheng L, et al. Analysis of Epidemiological and Clinical Features in Older Patients With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outside Wuhan. *Clin Infect Dis* 2020;71:740–7.

Liang W, Guan W, Chen R, Et Al. Cancer Patients In SARS CoV-2 Infection: A Nationwide Analysis In China. *Lancet Oncol*. 2020;21(3):335-337.

Liu J, Guo J, Xu Q, Cai G, Chen D, Shen Y. Detection of IgG antibody during the follow-up in patients with COVID-19 infection. *Crit Care*. 2020;24(1):448.

Liu J, Li S, Liu J, et al. Longitudinal characteristics of lymphocyte responses and cytokine profiles in the peripheral blood of SARS CoV-2 infected patients. *EBioMedicine*. 2020;55:102763.

Liu J, Li Y, Liu L, et al. Infection of human sweat glands by SARS CoV-2. *Cell Discov*. 2020;6(1):84.

Liu X, Wang J, Xu X, Liao G, Chen Y, Hu CH. Patterns of IgG and IgM antibody response in COVID-19 patients. *Emerg Microbes Infect*. 2020;9(1):1269–74.

Liu X, Zhou H, Zhou Y, et al. Risk factors associated with disease severity and length of hospital stay in COVID-19 patients. *J Infect*. 2020;81(1):e95-e97.

Liu Y, Yan LM, Wan L, et al. Viral dynamics in mild and severe cases of COVID-19. *Lancet Infect Dis*. 2020;20(6):656-657.

Lloyd-Sherlock P, Ebrahim S, Geffen L, McKee M. Bearing the brunt of covid-19: older people in low and middle income countries. *BMJ* 2020;368:m1052.

Long C, Xu H, Shen Q, et al. Diagnosis of the Coronavirus disease (COVID-19): rRT-PCR or CT?. *Eur J Radiol.* 2020;126:108961.

Long QX, Liu BZ, Deng HJ, et al. Antibody responses to SARS CoV-2 in patients with COVID-19. *Nat Med* 2020; 26:845–8. 11. van der Heide V. Neutralizing antibody response in mild COVID-19. *Nat Rev Immunol* 2020; 20:352.

Ludwig S, Zarbock A. Coronaviruses and SARS CoV-2: A Brief Overview. *Anesth Analg.* 2020;131(1):93-96.

Lui G, Lai CKC, Chen Z, Et Al. SARS CoV-2 RNA Detection On Disposable Wooden Chopsticks, Hong Kong. *Emerg Infect Dis.* 2020;26(9):2274-6.

Lynch KL, Whitman JD, Lacanienta NP, et al. Anti-Şiddetli Akut Solunum Sendromu Koronavirüs 2 Antikor Tepkilerinin Büyüklüğü ve Kinetiği ve Bunların Hastalık Şiddetiyle İlişkisi. *Klinik Enfeksiyon Dis .* 2021;72(2):301-308.

Malik YS, Sircar S, Bhat S, et al. Emerging novel coronavirus (2019-nCoV)-current scenario, evolutionary perspective based on genome analysis and recent developments. *Vet Q.* 2020;40(1):68-76.

Mao L, Jin H, Wang M, et al. Neurologic Manifestations of Hospitalized Patients With Coronavirus Disease 2019 in Wuhan, China. *JAMA Neurol.* 2020;77(6):683-690.

Marot, S., Malet, I., Leducq, V. et al. Rapid decline of neutralizing antibodies against SARS CoV-2 among infected healthcare workers. *Nat Commun* 12, 844 (2021).

Mason KE, Maudsley G, McHale P, Pennington A, Day J, Barr B. Age-Adjusted Associations Between Comorbidity and Outcomes of COVID-19: A Review of the Evidence From the Early Stages of the Pandemic. *Front Public Health.* 2021;9:584182.

Mehta P, McAuley DF, Brown M, et al. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet.* 2020;395(10229):1033-1034.

Meyerowitz EA, Richterman A, Gandhi RT, Sax PE. Transmission of SARS CoV-2: A Review of Viral, Host, and Environmental Factors. *Ann Intern Med.* 2021;174(1):69-79.

Mohammadi A, Esmaeilzadeh E, Li Y, Bosch RJ, Li JZ. SARS CoV-2 detection in different respiratory sites: A systematic review and meta-analysis. *EBioMedicine.* 2020;59:102903.

Mohan N, Deswal S. Corona Virus Disease (COVID-19) Fecal-oral transmission: Is it a potential risk for Indians?. *Indian J Gastroenterol*. 2020;39(3):305-306.

Muhammad A, Ameer H, Haider SA, Ali I. Detection of SARS CoV-2 using real-time polymerase chain reaction in different clinical specimens: A critical review. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2021;49(1):159-164.

Murin CD, Wilson IA, Ward AB. Antibody responses to viral infections: a structural perspective across three different enveloped viruses. *Nat Microbiol*. 2019;4(5):734-747.

Neuman BW, Kiss G, Kunding AH, et al. A structural analysis of M protein in coronavirus assembly and morphology. *J Struct Biol*. 2011;174(1):11-22.

Ng DL, Goldgof GM, Shy BR, et al. SARS CoV-2 seroprevalence and neutralizing activity in donor and patient blood from the San Francisco Bay Area. Preprint. medRxiv. 2020;2020.05.19.20107482.

Ng WH, Tipih T, Makoah NA, et al. Comorbidities in SARS CoV-2 Patients: a Systematic Review and Meta-Analysis. *mBio*. 2021;12(1):e03647-20.

Özdemir A, Demir Çuha M, Telli Dizman G, Alp A, Metan G, Şener B. Sağlık çalışanlarında SARS CoV-2 seroprevalansı: Türkiye'deki bir üniversite hastanesi verilerinin retrospektif analizi. *Mikrobiyol Bul*. 2021;55(2):223-232.

Park J-Y, Ko J-A, Kim DW, et al. Chalcones isolated from *Angelica keiskei* inhibit cysteine proteases of SARS-CoV. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2016;31(1):23-30. .

Patri A, Gallo L, Guarino M, Fabbrocini G. Sexual transmission of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS CoV-2): A new possible route of infection?. *J Am Acad Dermatol*. 2020;82(6):e227.

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;49:717-26.

Peng L, Liu J, Xu W, et al. SARS CoV-2 can be detected in urine, blood, anal swabs, and oropharyngeal swabs specimens. *J Med Virol*. 2020;92(9):1676-1680.

Perlman S, Netland J. Coronaviruses post-SARS: update on replication and pathogenesis. *Nat Rev Microbiol*. 2009;7(6):439-450.

Petrilli CM, Jones SA, Yang J, et al. Factors associated with hospital admission and critical illness among 5279 people with coronavirus disease 2019 in New York City: prospective cohort study. *BMJ*. 2020;369:m1966.

Qu J, Wu C, Li X, et al. Profile of Immunoglobulin G and IgM Antibodies Against Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS CoV-2). *Clin Infect Dis*. 2020;71(16):2255-2258.

Raj R. Analysis of non-structural proteins, NSPs of SARS CoV-2 as targets for computational drug designing. *Biochem Biophys Rep*. 2020;25:100847.

Recovery Collaborative Group. Convalescent plasma in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): a randomised controlled, open-label, platform trial. *Lancet*. 2021;397(10289):2049-2059.

Rehman M, Tauseef I, Aalia B, Shah SH, Junaid M, Haleem KS. Therapeutic and vaccine strategies against SARS CoV-2: past, present and future. *Future Virol*. 2020;10.2217

Ren LL, Wang YM, Wu ZQ, et al. Identification of a novel coronavirus causing severe pneumonia in human: a descriptive study. *Chin Med J (Engl)*. 2020;133(9):1015-1024.

Rodriguez-Morales AJ, Cardona-Ospina JA, Gutiérrez-Ocampo E, et al. Clinical, laboratory and imaging features of COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Travel Med Infect Dis*. 2020;34:101623.

Safar P, Grenvik A. Organization and physician education in critical care medicine. *Anesthesiology*. 1977;47(2):82-95.

Salazar E, Kuchipudi SV, Christensen PA, et al. Convalescent plasma anti-SARS CoV-2 spike protein ectodomain and receptor-binding domain IgG correlate with virus neutralization. *J Clin Invest*. 2020;130(12):6728-6738.

Santarpia JL, Rivera DN, Herrera VL, Et Al. Aerosol And Surface Contamination Of SARS CoV-2 Observed In Quarantine And Isolation Care. *Sci Rep*. 2020;29;10(1):12732.

Sapey E, Gallier S, Mainey C, et al. Ethnicity and risk of death in patients hospitalised for COVID-19 infection in the UK: an observational cohort study in an urban catchment area. *BMJ Open Respir Res*. 2020;7(1):e000644.

Sawicki SG, Sawicki DL. Coronaviruses use discontinuous extension for synthesis of subgenome-length negative strands. *Adv Exp Med Biol*. 1995;380:499-506.

Schubert K, Karousis ED, Jomaa A, et al. SARS CoV-2 Nsp1 binds the ribosomal mRNA channel to inhibit translation *Nat Struct Mol Biol*. 2020;27(10):959-966.

Scorzolini L, Corpolongo A, Castilletti C, Lalle E, Mariano A, Nicastri E. Comment on the Potential Risks of Sexual and Vertical Transmission of COVID-19. *Clin Infect Dis*. 2020;71(16):2298.

Seeliger B, Pessaux P. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS CoV-2) RNA in peritoneal fluid of coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients-Prevalence and significance. *Surgery*. 2021;169(6):1559-1560.

Seow J, Graham C, Merrick B, et al. Longitudinal observation and decline of neutralizing antibody responses in the three months following SARS CoV-2 infection in humans. *Nat Microbiol*. 2020;5(12):1598-1607.

Shang Y, Liu T, Li J, Wang X, Zhou F. Factors affecting antibody response to SARS CoV-2 in patients with severe COVID-19. *J Med Virol*. 2021;93(2):612-614.

Shanmugaraj B, Siri wattananon K, Wangkanont K, et al. Perspectives on monoclonal antibody therapy as potential therapeutic intervention for Coronavirus disease-19 (COVID-19). *Asian Pac J Allergy Immunol*. 2020;38(1):10–18.

Shannon A, Le NT, Selisko B, et al. Remdesivir and SARS CoV-2: structural requirements at both nsp12 RdRp and nsp14 Exonuclease active-sites. *Antiviral Res*. 2020;178:104793.

Sheahan TP, Sims AC, Graham RL, et al. Broad-spectrum antiviral GS-5734 inhibits both epidemic and zoonotic coronaviruses. *Sci Transl Med*. 2017;9(396):eaal3653. .

Sholukh AM, Fiore-Gartland A, Ford ES, et al. Evaluation of Cell-Based and Surrogate SARS CoV-2 Neutralization Assays. *J Clin Microbiol*. 2021;59(10):e0052721.

Staines HM, Kirwan DE, Clark DJ, et al. IgG Seroconversion and Pathophysiology in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection. *Emerg Infect Dis*. 2021;27(1):85-91.

Sun B, Feng Y, Mo X, et al. Kinetics of SARS CoV-2 specific IgM and IgG responses in COVID-19 patients. *Emerg Microbes Infect*. 2020;9(1):940-948.

Sun J, Zhu A, Li H, et al. Isolation of infectious SARS CoV-2 from urine of a COVID-19 patient. *Emerg Microbes Infect*. 2020;9(1):991-993.

Synowiec A, Szczepański A, Barreto-Duran E, Lie LK, Pyrc K. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS CoV-2): a Systemic Infection. *Clin Microbiol Rev*. 2021;34(2):e00133-20.

Şimşek S, Ünal S. Antiviral treatment of COVID-19. *Turk J Med Sci*. 2020;50:611-619.

Şirin MC, Sesli Çetin E, Cicioğlu Arıdoğan B. Microbiological Diagnosis of SARS CoV-2 Infection. *Med J SDU* 2021; (ozelsayi-1):137-145.

Tan W, Lu Y, Zhang J. Viral kinetics and antibody responses in patients with COVID-19. medRxiv. 2020 published online March 26. (preprint)

Tan, C.W., Chia, W.N., Qin, X. et al. A SARS CoV-2 surrogate virus neutralization test based on antibody-mediated blockage of ACE2–spike protein–protein interaction. Nat Biotechnol 2020;38, 1073–1078.

Tang YW, Schmitz JE, Persing DH, Stratton CW. Laboratory Diagnosis of COVID-19: Current Issues and Challenges. J Clin Microbiol. 2020;58(6):e00512-20. Published 2020 May 26.

Thomas RJ. Particle Size And Pathogenicity In The Respiratory Tract. Virulence. 2013;4(8):847-858.

Tian D, Wang L, Wang X. Clinical research and factors associated with prolonged duration of viral shedding in patients with COVID-19. Res Sq. 2020 (preprint)

To KK-W, Tsang OT-Y, Leung W-S. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS CoV-2: an observational cohort study. Lancet Infect Dis. 2020;20:565–574.

Todsen T, Tolsgaard M, Folke F, et al. SARS CoV-2 in saliva, oropharyngeal and nasopharyngeal specimens. Dan Med J. 2021;68(5):A01210087.

Tuyji Tok Y, Kuşkucu MA, Sarıbal D, Salman Yılmaz S, Nohut OK, Aygün G ve ark. COVID-19 geçiren sağlık çalışanlarında anti-SARS CoV-2 antikor düzeylerinin periyodik değerlendirilmesi ve temsili virüs nötralizasyonu ölçümü. Mikrobiyol Bul 2021;55(4):507-518.

Tyrrell DA, Almeida JD, Cunningham CH, et al. Coronaviridae. Intervirology. 1975;5:76-82.

Ucciferri C, Auricchio A, Di Nicola M, et al. Canakinumab in a subgroup of patients with COVID-19. Lancet Rheumatol. 2020;2(8):e457–e458.

van der Heide V. Neutralizing antibody response in mild COVID-19. Nat Rev Immunol. 2020;20(6):352.

V'kovski P, Kratzel A, Steiner S, Stalder H, Thiel V. Coronavirus biology and replication: implications for SARS CoV-2. Nat Rev Microbiol. 2021;19(3):155-170.

Walsh KA, Jordan K, Clyne B, et al. SARS CoV-2 detection, viral load and infectivity over the course of an infection. J Infect. 2020;81(3):357-371.

Wang D, Li R, Wang J, et al. Correlation analysis between disease severity and clinical and biochemical characteristics of 143 cases of COVID-19 in Wuhan,

China: a descriptive study. *BMC Infect Dis.* 2020;20(1):519. Published 2020 Jul 16.

Wang F, Nie J, Wang H, et al. Characteristics of Peripheral Lymphocyte Subset Alteration in COVID-19 Pneumonia. *J Infect Dis.* 2020;221(11):1762-1769.

Wang H, Zhang Y, Huang B, et al. Development of an Inactivated Vaccine Candidate, BBIBP-CorV, with Potent Protection against SARS CoV-2. *Cell.* 2020;182(3):713-721.e9.

Wang LF, Eaton BT. Bats, civets and the emergence of SARS. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2007;315:325-344.

Wang P, Liu L, Nair MS, et al. . SARS CoV-2 neutralizing antibody responses are more robust in patients with severe disease. *Emerg Microbes Infect* 2020; 9:2091–3.

Wang W, Xu Y, Gao R, et al. Detection of SARS CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. *JAMA.* 2020;323(18):1843-1844.

Wang Y, Lu X, Li Y, et al. Clinical Course and Outcomes of 344 Intensive Care Patients with COVID-19. *Am J Respir Crit Care Med.* 2020;201(11):1430-1434.

Wang Z, Yang B, Li Q, et al. Clinical features of 69 cases with coronavirus disease 2019 in Wuhan, China. *Clin Infect Dis.* 2020;71(15):769–777.

Wang, X.; Tan, L.; Wang, X.; Liu, W.; Lu, Y.; Cheng, L.; Sun, Z. Comparison of Nasopharyngeal and Oropharyngeal Swabs for SARS CoV-2 Detection in 353 Patients Received Tests with Both Specimens Simultaneously. *Int. J. Infect. Dis.* 2020, 94, 107–109.

Wen W, Chen C, Tang J, et al. Efficacy and safety of three new oral antiviral treatment (molnupiravir, fluvoxamine and Paxlovid) for COVID-19 : a meta-analysis. *Ann Med.* 2022;54(1):516-523.

Wonderlich ER, Swan ZD, Bissel SJ, et al. Widespread Virus Replication in Alveoli Drives Acute Respiratory Distress Syndrome in Aerosolized H5N1 Influenza Infection of Macaques. *J Immunol.* 2017;198(4):1616-1626.

Wong MC, Huang J, Lai C, Ng R, Chan FKL, Chan PKS. Detection of SARS CoV-2 RNA in fecal specimens of patients with confirmed COVID-19: A meta-analysis. *J Infect.* 2020;81(2):e31-e38.

Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. 2020;581(7809):465-469.

Wrapp D, Wang N, Corbett KS, et al. Cryo-EM Structure of the 2019-nCoV Spike in the Prefusion Conformation. *bioRxiv.* 2020;367(6483):1260–1263

Wu D, Yang XO. TH17 responses in cytokine storm of COVID-19: An emerging target of JAK2 inhibitor Fedratinib. *J Microbiol Immunol Infect.* 2020;53(3):368-370.

Wu Y, Guo C, Tang L, et al. Prolonged presence of SARS CoV-2 viral RNA in faecal samples. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2020;5(5):434-435.

Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA.* 2020;323(13):1239-1242.

Xiao AT, Tong YX, Zhang S. Profile of RT-PCR for SARS CoV-2: A Preliminary Study From 56 COVID-19 Patients. *Clin Infect Dis.* 2020;71(16):2249-2251.

Xiao K, Zhai J, Feng Y, et al. Isolation of SARS CoV-2-related coronavirus from Malayan pangolins [published correction appears in *Nature.* 2021 Dec;600(7887):E8-E10]. *Nature.* 2020;583(7815):286-289.

Xie C, Jiang L, Huang G, et al. Comparison of different samples for 2019 novel coronavirus detection by nucleic acid amplification tests. *Int J Infect Dis.* 2020;93:264-267.

Xing YH, Ni W, Wu Q, et al. Prolonged viral shedding in feces of pediatric patients with coronavirus disease 2019. *J Microbiol Immunol Infect.* 2020;53(3):473-480.

Xu K, Chen Y, Yuan J. Factors associated with prolonged viral RNA shedding in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) *Clin Infect Dis.* 2020;71:799–806.

Xu X, Chen P, Wang J, et al. Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission. *Sci China Life Sci.* 2020;63(3):457–460.

Yan D, Liu XY, Zhu YN, et al. Factors associated with prolonged viral shedding and impact of lopinavir/ritonavir treatment in hospitalised non-critically ill patients with SARS CoV-2 infection. *Eur Respir J.* 2020;56(1):2000799. Published 2020 Jul 16.

Yang X, Liu Y, Liu Y, et al. Medication therapy strategies for the coronavirus disease 2019 (COVID-19): recent progress and challenges. *Clin Pharmacol.* 2020;13(9):957-975.

Yang Y, Yang M, Yuan J, et al. Laboratory Diagnosis and Monitoring the Viral Shedding of SARS CoV-2 Infection. *Innovation (N Y).* 2020;1(3):100061.

- Yao XY, Liu W, Li ZY, et al. Neutralizing and binding antibody kinetics of COVID-19 patients during hospital and convalescent phases. *Mart* 2021.
- Ye ZW, Yuan S, Yuen KS, Fung SY, Chan CP, Jin DY. Zoonotic origins of human coronaviruses. *Int J Biol Sci.* 2020;16(10):1686-1697.
- Young BE, Ong SWX, Kalimuddin S. Epidemiologic features and clinical course of patients infected with SARS CoV-2 in Singapore. *JAMA.* 2020;323:1488–1494.
- Yu F, Yan L, Wang N, et al. Quantitative Detection and Viral Load Analysis of SARS CoV-2 in Infected Patients. *Clin Infect Dis.* 2020;71(15):793-798.
- Yu X, Sun S, Shi Y, Wang H, Zhao R, Sheng J. SARS CoV-2 viral load in sputum correlates with risk of COVID-19 progression. *Crit Care* 2020;24(1):170.
- Zaffina S, Piano Mortari E, et al. Different Innate and Adaptive Immune Responses to SARS CoV-2 Infection of Asymptomatic, Mild, and Severe Cases. *Front Immunol.* 2020;11:610300.
- Zang R, Gomez Castro MF, McCune BT, et al. TMPRSS2 and TMPRSS4 promote SARS CoV-2 infection of human small intestinal enterocytes. *Sci Immunol.* 2020;5(47):eabc3582.
- Zhang B, Zhou X, Zhu C, et al. Immune Phenotyping Based on the Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio and IgG Level Predicts Disease Severity and Outcome for Patients With COVID-19. *Front Mol Biosci.* 2020;7:157.
- Zhang C, Wu Z, Li JW, Zhao H, Wang GQ. Cytokine release syndrome in severe COVID-19: interleukin-6 receptor antagonist tocilizumab may be the key to reduce mortality. *Int J Antimicrob Agents.* 2020;55(5):105954.
- Zhang J, Wang S, Xue Y. Fecal specimen diagnosis 2019 novel coronavirus-infected pneumonia. *J Med Virol.* 2020;92(6):680-682.
- Zhang JJ, Dong X, Cao YY, et al. Clinical characteristics of 140 patients infected with SARS CoV-2 in Wuhan, China. *Allergy.* 2020;75(7):1730-1741.
- Zhang N, Gong Y, Meng F, et al. Comparative study on virus shedding patterns in nasopharyngeal and fecal specimens of COVID-19 patients. *Sci China Life Sci.* 2021;64(3):486-488.
- Zhao J, Yuan Q, Wang H, et al. Antibody Responses to SARS CoV-2 in Patients With Novel Coronavirus Disease 2019. *Clin Infect Dis.* 2020;71(16):2027-2034.
- Zhao W, Zhong Z, Xie X, Yu Q, Liu J. Relation Between Chest CT Findings and Clinical Conditions of Coronavirus Disease (COVID-19) Pneumonia: A Multicenter Study. *AJR Am J Roentgenol.* 2020;214(5):1072-1077.

Zheng M, Song L. Novel antibody epitopes dominate the antigenicity of spike glycoprotein in SARS CoV-2 compared to SARS-CoV. *Cell Mol Immunol*. 2020;17(5):536-538.

Zheng S, Fan J, Yu F, et al. Viral load dynamics and disease severity in patients infected with SARS CoV-2 in Zhejiang province, China, January-March 2020: retrospective cohort study. *BMJ*. 2020;369:m1443.

Zheng Y, Yan M, Wang L, et al. Analysis of the application value of serum antibody detection for staging of COVID-19 infection. *J Med Virol*. 2021;93(2):899-906.

Zhou F, Yu T, Du R, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study *Lancet*. 2020;395(10229):1054-1062.

Zhou P, Yang XL, Wang XG, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020;579(7798):270-273.

Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*. 2020;382(8):727-733.

Zhu W, Xie K, Lu H, Xu L, Zhou S, Fang S. Initial clinical features of suspected coronavirus disease 2019 in two emergency departments outside of Hubei, China. *J Med Virol*. 2020;92(9):1525-1532.

Zou L, Ruan F, Huang M, et al. SARS CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients. *N Engl J Med*. 2020;382(12):1177-1179.

7. EKLER

7.1. Etik Kurul Kararı



ÖZGEÇMİŞ

