



**T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**COVID-19 PATOGENEZİ İLE ANTİKOR YANITI ARASINDAKİ
İLİŞKİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Hilal DURMUŞ

**Danışman
Prof. Dr. Zihni Açar YAZICI**

**RİZE
2023**

KABUL VE ONAY

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında, Prof. Dr. Zihni Açar YAZICI danışmanlığında, Hilal DURMUŞ tarafından hazırlanan *COVID-19 Patogenezi ile Antikor Yanıtı Arasındaki İlişki* adlı bu tez çalışması, 29/08/2023 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda oy birliği/oy çokluğuyla başarılı bulunarak jürimiz tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Unvanı, Adı SOYADI

İmza

Başkan

:

Prof. Dr. Zihni Açar YAZICI

Üye

:

Prof. Dr. Osman Birol ÖZGÜMÜŞ

Üye

:

Prof. Dr. Remziye NALÇACIOĞLU

ETİK BEYAN

Tıbbi Mikrobiyoloji Tezli Yüksek Lisans Programından mezun olmak üzere teslim ettiğim “COVID-19 Patogenezi ile Antikor Yanıtı Arasındaki İlişki” adlı tezim, bilim ve araştırma etiği prensiplerine riayet edilerek tarafımdan yazılmıştır.

Tez çalışmamda, başka kaynaklardan aktarılan bütün bilgi ve alıntılar, Enstitünüz Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak açıkça gösterilmiştir. Kaynağı gösterilenler dışında kalan bütün bilgiler uygun araştırma yöntemi kullanılarak tarafımdan edinilmiş ve esere bu şekilde yansıtılmıştır. Şahsıma ait olmayan hiçbir bilgi, kasıt veya kusurlar, şahsıma aitmiş gibi gösterilmemiştir. İnternet kaynakları dâhil, sahibine/kaynağına atıf yapılmaksızın hiçbir bilgi kullanılmamıştır. Aksinin ortaya çıkması halinde doğacak bütün hukuki, idari, akademik ve etik sorumluluk tarafıma ait olacaktır. Eserin tesliminden sonra herhangi bir zamanda, bilim etiğine aykırılık tespit edilmesi ve / veya eserimle ilgili intihal veya intihal şeklinde anlaşılabilecek bir durumun ortaya çıkması halinde; Üniversiteniz ve eğitim kadronuzun hiçbir şekilde sorumlu tutulmayacağını hür irademle kabul, beyan ve taahhüt ederim.

05/07/2023

(İmza)

Hilal DURMUŞ

ÖN SÖZ

Bu bitirme çalışmasında, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü'nde yapmış olduğum yüksek lisans tezimde elde ettiğim bilgileri dikkatinize sunmaktayım.

Tez çalışmam sırasında kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösterici ve destek olan değerli danışmanım sayın Prof. Dr. Zihni Açar Yazıcı'ya, yüksek lisans eğitimim boyunca ailem gibi yanımda olan Prof. Dr. Osman Birol ÖZGÜMÜŞ ve Öğr. Grv. Merve HÜNER YİĞİT'e, dostum Eda AÇIKEL'e ve maddi manevi her konuda desteğini esirgemeyen başta babam Recep Ali DURMUŞ olmak üzere aileme teşekkür ederim.

“Bu çalışma Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü birimince desteklenmiştir. Proje Numarası: TOA-2022-1351” (“This work was supported by the Research Fund of Recep Tayyip Erdogan University. Project Number: TOA-2022-1351”).

Hilal DURMUŞ

2023 / RİZE

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	I
ETİK BEYAN.....	II
ÖN SÖZ	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÖZET	VII
ABSTRACT.....	VIII
KISALTMALAR.....	IX
TABLolar LİSTESİ.....	XI
ŞEKİLLER LİSTESİ	XII
GİRİŞ	1
1. GENEL BİLGİLER	2
1.1. Virüsler	2
1.2. Koronavirüsler	4
1.2.1. Soğuk Algınlığı Yapan Koronavirüsler.....	7
1.2.2. Ağır Enfeksiyon ve Pandemi Yapan Koronavirüsler.....	8
1.3. SARS-CoV-2'nin Çoğalması	9
1.4. SARS-CoV-2'nin Patogenezi	11
1.5. SARS-CoV-2'nin İmmünolojisi	13
1.6. SARS-CoV-2'nin İmmünopatolojisi	16
1.7. Mutasyona Dayalı Varyantlar.....	20
1.7.1. Alfa (B.1.1.7)	20
1.7.2. Beta (B.1.351)	20
1.7.3. Gamma (P.1)	20
1.7.4. Delta (B.1.617.2).....	20
1.7.5. Omicron (B.1.1.529)	21
1.8. Epidemiyoloji	21
1.9. Bulaşma	22
1.10. Tanı	22
1.10.1. Nükleik Asit Bazlı Testler.....	23
1.10.1.1. Gerçek Zamanlı Ters Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu (rRT-PCR).....	23

1.10.1.2. Döngü Aracılı İzotermal Amplifikasyon (Loop-Mediated Isothermal Amplification-LAMP)	24
1.10.1.3. Kümelenmiş Düzenli Aralıklı Kısa Palindromik Tekrarlar (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats - CRISPR) Teknolojisi	24
1.10.1.4. Mikroarray Tabanlı Teknoloji	25
1.10.1.5. Hızlı Tanı Testleri (Rapid Diagnostic Tests - RDT'ler).....	26
1.10.2. Antijen Bazlı Serolojik Testler.....	26
1.10.3. Antikor Bazlı Serolojik Testler	26
1.10.4. Biyosensör Bazlı Testler	27
1.10.5. Radyolojik Görüntüleme	27
1.11. Tedavi.....	27
1.11.1. Antiviral ve İmmünomodülatör İlaçlar	28
1.11.2. Aşı	30
1.11.2.1. Tam Virüs Yaklaşımı Teknolojisi	31
1.11.2.2. Nükleik Asit Yaklaşımı Teknolojisi.....	31
1.11.2.3. Alt Birim Yaklaşımı Teknolojisi	31
1.11.3. İyileşen Plazma Tedavisi (Convalescent Plasma Therapy).....	31
1.11.4. Monoklonal Antikor.....	32
1.12. Hastalarda Klinik Seyir	32
1.12.1. Asemptomatik Hasta Grubu	32
1.12.2. Hafif-Orta Seyirli Pnömonili Hasta Grubu	33
1.12.3. Ağır Pnömonili Hasta Grubu.....	33
1.12.4. Mortal Hastalar.....	34
2. MATERYAL VE METOT	35
2.1. Hematolojik ve Biyokimyasal Parametrelerin Ölçülmesi	35
2.2. Hastalar	36
2.2.1. Hastaların Özellikleri	36
2.3. SARS-CoV-2 Saptama	36
2.4. Örneklem Detayları.....	37
2.4.1. Örneklerin Alınması ve Stoklanması	37
2.5. Antikor ve Anti-RBD Antikorlarının Ölçümü.....	39
2.5.1. IgG- IgM Antikor Ölçümü	39
2.5.2. Anti-RBD Antikor Ölçümü.....	40

2.6. Çalışma İstatistiği	41
3. SONUÇLAR.....	42
4. TARTIŞMA	44
KAYNAKÇA.....	47
ETİK KURUL KARARI	64



Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Ana Bilim Dalı : Tıbbi Mikrobiyoloji
Tez Türü : Yüksek Lisans Tezi
Danışman : Prof. Dr. Zihni Açar YAZICI
Hazırlayan : Hilal DURMUŞ
Yıl : 2023
Sayfa Sayısı : 64

ÖZET

COVID-19 PATOGENEZİ İLE ANTİKOR YANITI ARASINDAKİ İLİŞKİ

Yeni koronavirüs hastalığı ilk olarak Aralık 2019'da ortaya çıktı ve oluşturduğu pandemi halen (Temmuz 2023) devam etmektedir. Pandemi ile birlikte araştırmacılar tarafından bu hastalığı önlemek, anlamak, kontrol etmek ve tedavi stratejileri geliştirmek için gerek sahada gerek laboratuvarında çalışmalar yürütüldü. SARS-CoV-2 enfeksiyon patogenezinin yanında oluşan immün ve antikor yanıtı etkileşimlerinin anlaşılması bu noktada önem arz etmektedir. SARS-CoV-2'nin çoğalması, patogenez, immünolojisi, immünopatolojisi, bulaşma, klinik seyir, tanı ve tedavisi ile ilgili temel bilgilerin işlenmesinin yanında tezimin amacı kapsamında COVID-19 ile enfekte olan hastalarda, hastalığın akut ve beklenen iyileşme fazından alınan serumlarındaki antikorların hastalık patogenezine ile ilişkisi olup olmadığının ortaya konulması amaçlandı. RT-PCR ile COVID-19 pozitif olarak tanısı konulan hastalar asemptomatik, hafif, orta, ağır ve mortal olarak gruplandırıldı. Komorbiditesi olan hastalar da verilendirildi. Örnekler uygun hacimlerde -80 °C'de depolandı. IgG ve IgM antikor saptama işlemi için Rapid Test, anti-RBD antikor ölçümü için ELISA metotlarından yararlanıldı. 84 hastanın verileri işlendi. Asemptomatik ve hafif seyirli hastalarda anti-RBD bulunurken bazılarında saptanmadı, klinikte yatan hastaların hemen hepsinde anti-RBD titreleri yükseldi. Mortal ve yoğun bakım hastalarında da anti-RBD antikor titreleri yükseldi. Sonuç olarak antikor titreleri hastalığın patogenezine ile orantılı olarak artış gösterdi. Ancak anti-RBD antikor varlığı/ titreleri ile iyileşme veya hastalıktan korunma arasında korelasyon yoktu.

Anahtar Kelimeler: SARS-CoV-2, COVID-19, Patogenez, Nötralizasyon, Antikor

Recep Tayyip Erdogan University Institute of Graduate Studies

Department : Medical Microbiology
Thesis Type : Master Thesis
Supervisor : Prof. Zihni Acar YAZICI
Author : Hilal DURMUŞ
Year : 2023
Pages : 64

ABSTRACT

RELATIONSHIP BETWEEN COVID-19 PATHOGENESIS AND ANTIBODY RESPONSE

The new coronavirus disease first appeared in December 2019 and the pandemic it created still continues (July 2023). Along with the pandemic, researchers conducted studies both in the field and in the laboratory to prevent, understand, control and develop treatment strategies for this disease. It is important at this point to understand the immune and antibody response interactions that occur as well as the pathogenesis of SARS-CoV-2 infection. In addition to processing basic information about the proliferation, pathogenesis, immunology, immunopathology, transmission, clinical course, diagnosis and treatment of SARS-CoV-2, within the scope of my thesis, the antibodies in the serum of the patients infected with COVID-19, taken from the acute and expected recovery phase of the disease, It was aimed to reveal whether there is a relationship with the pathogenesis of the disease. Patients diagnosed as COVID-19 positive by RT-PCR were grouped as asymptomatic, mild, moderate, severe and mortal. Patients with comorbidities were also given. Samples were stored in appropriate volumes at -80 °C. Rapid Test was used for IgG and IgM antibody detection and ELISA methods were used for anti-RBD antibody measurement. Data of 84 patients were processed. While anti-RBD was found in asymptomatic and mild patients, it was not detected in some, and anti-RBD titers were elevated in almost all hospitalized patients. Anti-RBD antibody titers were also increased in mortal and intensive care patients. As a result, antibody titers increased in proportion to the pathogenesis of the disease. However, there was no correlation between the presence/titers of anti-RBD antibodies and recovery or disease prevention.

Keywords: SARS-CoV-2, COVID-19, Pathogenesis, Neutralisation, Antibody

KISALTMALAR

ACE-2	: Angiotensin Converting Enzyme-2
ADCC	: Antibody Dependent Cell Cytotoxicity
APC	: Antigen Presenting Cell/ Antijen Sunucu Hücre
ARDS	: Acute Respiratory Distress Syndrome (Akut solunum yetmezliği)
Bio-SCAN	: Biyotin Bağlantılı Spesifik CRISPR Bazlı Tahlil
BT	: Bilgisayar Tomografisi
CCL2	: Chemokine Ligand 2 (Kemokin Ligand 2)
CD	: Cluster of differentiation (Yüzey Farklılaşma Antijenleri)
CDCC	: Complement Dependent Cell Cytotoxicity
cDNA	: Complementary DNA (Tamamlayıcı DNA)
CH	: Central helix (Merkezi Sarmal)
COVID-19	: Corona virus disease-19 (Yeni Koronavirüs Hastalığı)
CRISPR	: Clustered Regularly Interspaced Palindromic Repeats
CRP	: C-Reactive Protein
CT	: Cytoplasmic Tail/ Sitoplazmik Kuyruk
CTD	: C-Terminal Domain/ C-Terminal Alan
DAMP	: Damage Associated Molecular Patterns (Hasara şablonları)
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
ECM	: Extracellular Matrix/ Hücre Dışı Matris
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assays
ERGIC	: Endoplasmic Reticulum - Golgi Intermediate Compartment
FP	: Furin Peptidi
hACE-2	: İnsan ACE-2'si
HR1 ve HR2	: Heptad tekrarları
IFN	: İnterferon
IgA	: İmmünoglobulin A
IgG	: İmmünoglobulin G
IgM	: İmmünoglobulin M
IL	: İnterlökin

LAMP	: Loop Mediated Isothermal Amplification
mAb	: Monoclonal Antibody/ Özgöl Antikor
MERS-CoV	: Middle East Respiratory Syndrome-Coronavirus
MHC	: Major Histocompatibility Complex
MODS	: Multiple Organ Dysfunction/ Çoklu Organ İşlev Bozukluğu
mRNA	: Messenger RNA/ Mesajcı RNA
NAAT	: Nucleic Acid Amplification Test/ Nökleik Asit Amplifikasyon Testi
NETs	: Neutrophil Extracellular Traps/ Nötrofil Hücre Dışı Tuzakları
NK Cells	: Natural Killer Cells/ Doğal Öldürücü Hücreler
Nsp	: Nonstructural protein/ Yapısal olmayan protein
NTD	: N-Terminal Domain/ N-Terminal Alan
ORF	: Open Reading Frame/ Açık Okuma Kalıbı
PAMP	: Pathogen-Associated Molecules Patterns (Patojen şablonları)
PRR	: Pathogen Recognition Receptor/ Patojen Tanıma Reseptörü
RBD	: Receptor Binding Domain/ Reseptör Bağlama Alanı
RBM	: Reseptör Bağlama Motifi
RdRp	: RNA dependent RNA polymerase/ RNA'ya bağımlı RNA polimeraz
RDT	: Rapid Diagnostic Tests/ Hızlı Tanı Testleri
RDW	: Red Cell Distribution Width/ Kırmızı Hücre Dağılım Genişliği
RIG	: Retinoic Acid Inducible Gene/ Retinoik Asit ile İndüklenebilir Gen
RNA	: Ribonökleik Asit
rRT-PCR	: Real-Time Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction
SARS-CoV	: Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus
SARS-CoV-2	: Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2
TLR	: Toll-Like Receptors/ Toll Benzeri Reseptörler
TM	: Transmembran Alan
TMPRSS2	: Transmembrane Protease Serine 2/ Transmembran Proteaz Serin 2
TNF	: Tumor Necrosis Factor/ Tümör Nekroz Faktörü
VOCs	: Variants of Concern/ Endişe Edici Varyantlar

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Çalışmadaki hastaların komorbiditeleri	42
Tablo 2. Hastaların laboratuvar değerleri.....	43
Tablo 3. Hastaların COVID-19 IgM ve IgG değerleri	43



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Zarfsız ve zarflı virüslerin karşılaştırılması.....	4
Şekil 2. Koronavirüslerin taksonomisi	5
Şekil 3. Koronavirüs yapısal proteinlerinin şematize gösterimi	6
Şekil 4. Hafif soğuk algınlığı yapan insan koronavirüslerin dünyadaki küresel dağılımı karşılaştırılması	8
Şekil 5. SARS-CoV-2'nin çoğalmasının biyolojisi	10
Şekil 6. Spike protein alan yapısının ve SARS-CoV-2'nin şematik gösterimi	12
Şekil 7. RBD ve ACE2 arasındaki etkileşim	13
Şekil 8. SARS-CoV-2'nin immünolojisi ve (ağır seyirlerde) immünopatogenezi	16
Şekil 9. Hafif ve şiddetli bağışıklık tepkisi	17
Şekil 10. SARS-CoV-2'nin doğal hücre aracılı immünopatolojisi	18
Şekil 11. COVID-19 immünopatolojisinde aşağı ve yukarı regülasyon	19
Şekil 12. COVID-19 pnömonisi ile ilişkili pulmoner opasitelerin klasik kırık cam morfolojisini gösteren hastanın göğüs radyografisi ve eksenel BT'si	28
Şekil 13. Aşı teknolojileri yaklaşımları	30
Şekil 14. Sarı kapaklı tüp protokolüne uygun olarak işlenmiş COVID-19 hastasına ait numune	35
Şekil 15. Numunelerin alikotlama işlemi	38
Şekil 16. Numunelerin -80 °C'de dondurulma işlemi	39
Şekil 17. IgG ve IgM antikorları ölçümünde, Meril COVID-19 IgG/IgM Rapid Test sonuçlarının pozitif ve negatif değere göre okunması	40

GİRİŞ

“COVID-19 Patogenezi ile Antikor Yanıtı Arasındaki İlişki” adlı bu tez çalışmasındaki genel bilgiler kısmında virüsler, koronavirüsler, soğuk algınlığı yapan koronavirüsler, ağır enfeksiyon yapan pandemi etkeni koronavirüsler, SARS-CoV-2’nin çoğalması, patogenezi, immünolojisi, immünopatolojisi, bulaşma, klinik seyir, tanı ve tedavisi ile ilgili tezin amacına uygun açıklamalara ve araştırmalara yer verildi.

Tezin amacı kapsamında COVID-19 ile enfekte olan hastalarda, hastalığın akut ve beklenen iyileşme fazından alınan serumlarındaki anti spike antikorların hastalığın patogenezi ile ilişkisi olup olmadığı araştırıldı.



1. GENEL BİLGİLER

SARS-CoV-2 virüsü ile temas eden sağlıklı bireylerin çoğunun herhangi bir enfeksiyon belirtisi göstermediği (asemptomatik) tespit edilmiştir (Bai vd., 2020). Klinik semptom gösterenlerin çoğu, soğuk algınlığı gibi hafif üst solunum yolu semptomları gösterir. Semptom gösteren insanların küçük bir yüzdesi (.03-1) yoğun bakım gerektirebilir ve bunların bir kısmı mortalite ile sonuçlanabilir. Önleme için küresel yaklaşım, sağlık durumlarına bakılmaksızın tüm yetişkinleri aşılayarak kitlesel bağışıklığı oluşturmak olmuştur. Gerçekte, virüs yalnızca komorbiditeleri olan kişileri hedef aldığından, yalnızca komorbiditeleri olanlar aşılama ile viral saldırıdan korunmalıdır. Nüfusun geri kalanının virüsü yakalamasına izin verilmeli ve aşı müdahalesi olmadan kitlesel bağışıklık sağlanmalıdır. Bu, viral enfeksiyonun yanı sıra aşılanmanın yeniden enfeksiyona karşı çok kısa süreli koruma sağladığı göz önüne alındığında özellikle geçerlidir. Ek olarak, mRNA ve diğer vektör aşıları, komorbiditeleri olanlar için ciddi yan etkiler gösterdiği araştırmalarla ortaya konulmuştur (Uyanıkgil vd., 2021).

1.1. Virüsler

Enfektif olan virüsler hücresel bir yapıya sahip olmadıklarından zorunlu hücre içi parazitlerdir. Bu zorunluluğun nedenleri arasında virüslerin kendilerine ait protein sentezi, çoğalma, sindirim, boşaltım gibi metabolizmalarının olmaması yer alır (Ustaçelebi, 1999). Latince “zehir” anlamı olan virüsler canlılar aleminde yer almadığı gibi cansız varlık olmadıkları da kabul edilir. Virüsler yüksek derecede konak özgüllüğü göstermektedir. Konak özgüllüğünü belirleyen bazı esaslar bulunmaktadır (Skurnik, 2022). Bunlar; virüsün konak hücreye tutunup (uygun reseptör varlığı ile) hücre içerisinde çoğalması için gerekli olan genetik materyalini enjekte etme ve konak hücre içerisinde çoğalan virüslerin hücre dışına çıkması yeteneği gibi mekanizmaları barındırmaktadır. Virüslerin konak özgüllüğü yüksek seviyede olmasına rağmen konak çeşitliliği fazladır. Konak çeşitliliği virüslerde değişiklik göstermektedir. Geniş konak çeşitliliğine sahip virüsler farklı türdeki canlıları enfekte edebilirken, sınırlı konak çeşitliliğine sahip virüsler aynı türdeki canlıları veya birbirlerine yakın akraba olan canlıları enfekte edebilmektedir. Bir virüsün konak çeşitliliği yelpazesi ne kadar

geniş olursa olsun hem ökaryot hücreyi hem de prokaryot hücreyi enfekte edemez (Silva vd., 2020).

Konak hücreden farklı olarak kendilerine ait genetik materyal (DNA veya RNA) barındırırlar. Virüsler konak hücreye genetik materyalini transfer ettikten sonra genomlarını replike ettirirler ve proteinlerini kodlattırırlar (Moss, 2013). Kodlanan proteinler virüse ait olan “Yapısal Proteinler” veya “Yapısal Olmayan Proteinler”dir. Yapısal olan proteinler bir virüsü oluşturacak olan proteinlerin (kor proteinleri, kapsid proteinleri ve/ya zarf proteinleri) tümüdür. Yapısal olmayan proteinlerin içerisine virüse göre RNA-bağımlı RNA polimeraz, RNA-bağımlı DNA polimeraz, DNA-bağımlı DNA polimeraz, nükleazlar, proteaz, integras, protein kinaz, lizozim gibi enzim yapısındaki proteinler girmektedir (Yadav vd., 2021).

Virüslerin genomu kapsit denilen protein bir kılıfın içerisinde bulunmaktadır. Şekil 1’de gösterildiği gibi bu nükleokapsit (nükleik asit ve protein) bazı virüslerde zarfsız (çıplak) olarak bulunurken, protein ve lipitten oluşan zarf şeklinde bir yapının içerisinde bulunabilir. Zarfsız virüslerin çoğu bakteriyal virüsler iken zarflı virüslerin çoğu hayvan virüsleridir (Vankadari vd., 2022). Zarflı virüslerin zarfı konak hücresinin membranından gelmektedir. Virüs, konak hücre içerisine girdiği zaman litik ve/veya lizojenik enfeksiyon olmak üzere iki yol izlemektedir. Litik enfeksiyonda virüs, kendini konak hücreye çoğalttırıp hücreyi parçalayarak hücre dışına yayılırken lizojenik enfeksiyonda virüs sayısını çoğalttıktan sonra hücre tahribatı gözlenmeden virüsler hücre dışına çıkar (Erez vd., 2017).

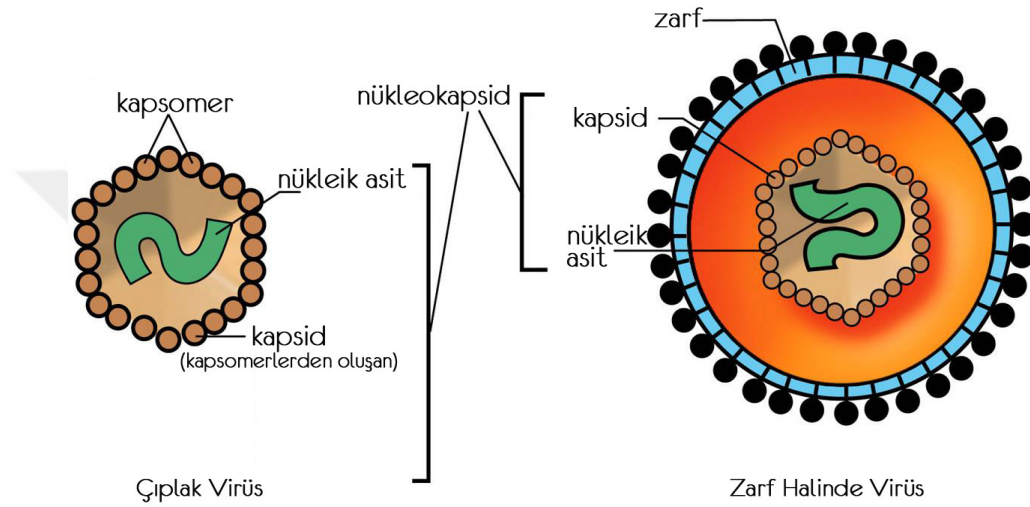
Virüslerin çoğalması ile enfeksiyonların patolojisinin bağlı olduğu bazı sınırlılıklar bulunmaktadır. Bunlardan bir tanesi özgül konak hücre tipleridir. Bu hücre tiplerine örnek olarak hematopoetik sistem, merkezi sinir sistemi, karaciğer, solunum yolu, gastrointestinal sistem verilebilir. Virüsleri sınıflandırırken geleneksel yöntem ile yapısal özelliklerine göre yapılabilmektedir. Bunlar; DNA ve RNA varlığı, tek veya çift iplikli nükleik asit varlığı, protein kılıfın (kapsid) şekli (ikozahedral, heliksel, kompleks), zarfın varlığı veya yokluğu ve toplam boyutlarıdır (Murray, 2018).

Viral genom çeşitlilik göstermektedir. Çift iplikli veya tek iplikli, çembersel veya lineer, bütün veya parçacıklı (RNA virüsleri) olabilir. RNA virüsleri pozitif veya negatif polariteli olabilmektedir (Yadav vd., 2021). Pozitif veya negatif polariteli RNA virüslerin replikasyonlarında farklılıklar görülmektedir. Pozitif polariteli RNA virüsleri RNA’larını direkt olarak mRNA olarak kullanabilmektedir. Ancak negatif

polariteli RNA virüsleri RNA'larını mRNA olarak kullanamazlar ve kullanılabilimleri için komplementer diziye çevirmek zorundadırlar.

Virüslerin boyutu çok ufak çaplarda olduğu için (<400 nanometre) ışık mikroskopuyla görülememektedirler. Virüsleri görüntülemek ve fotoğraflamak için elektron mikroskobu kullanılmalıdır.

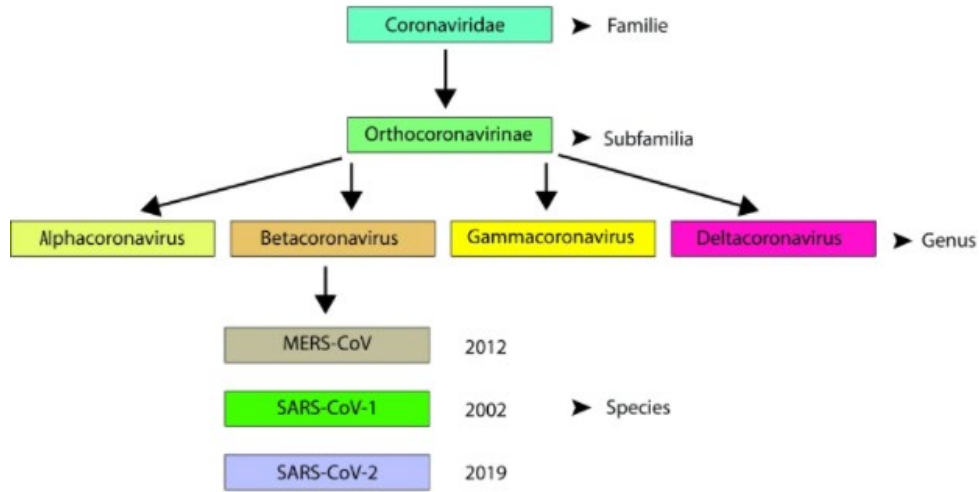
Virüs kültürü özelleşmiş metot ve olanakları gerektirir.



Şekil 1. Zarfsız ve zarflı virüslerin karşılaştırılması (Madigan vd., 2017).

1.2. Koronavirüsler

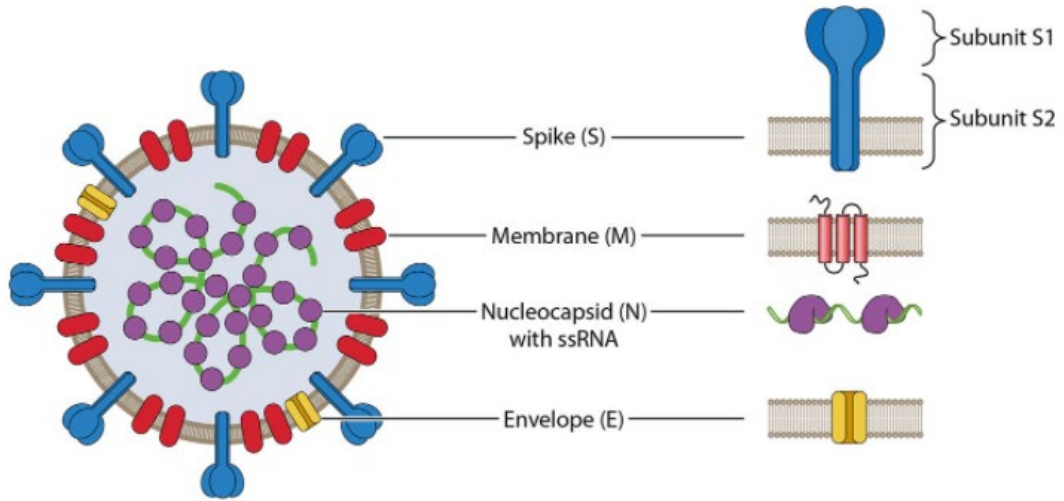
Koronavirüsler 1960'larda keşfedilmiştir (Aygün ve Ünal, 2020). Şekil 2'de olduğu gibi sistematikte, *Nidovirales* ("nido" Latince yuva anlamındadır.) takımı altında, *Coronaviridae* ailesinin alt grubunda yer almaktadır (Wertheim vd., 2013). Pozitif polariteli, helikal kapsidli, segmentsiz, tek zincirli, zarflı RNA virüslerinden olan koronavirüslerin yüzeylerinde sivri çıkıntılar bulunmaktadır. Bu çıkıntılardan dolayı Latince'deki "corona" (taç) anlamına gelen kelimedenden türetilerek Coronavirus olarak tanımlanmıştır. Pozitif polariteli virüsler olduğu için RNA'ya bağımlı RNA polimeraz enzimini bünyesinde barındırmazlar ancak genomlarında bu enzimi kodlayacak geni bulundurlar ve böylelikle konakçı hücreye giriş yaptığında viral RNA polimerazı sentezlemesine ön ayak olacaktır (Machitani vd., 2020).



Şekil 2. Koronavirüslerin taksonomisi (Saltuerk, 16 Haziran 2023).

Koronavirüslerle enfekte hücrelerde virüse ait yapısal ve yapısal olmayan iki çeşit protein grubu vardır. Yapısal protein içeriklerinin hepsi viral genomun 3' ucuna yerleşiktir. Bunlar spike veya başak (S), zar veya membran (M), zarf (E) ve nükleokapsit (N) proteinleridir. Zarflı virüslerde nükleokapsit zarf içerisindedir ve Şekil 3'te gösterilmiştir (Fehr vd., 2015).

Virüs yüzeyindeki belirgin çıkıntıları oluşturan trimerik S glikoproteininin işlevi konakçı reseptörüne bağlanmaktır. M proteini en çok bulunan yapısal proteini olduğu için genel anlamda virüse şeklini verdiği düşünülmektedir. M proteinine karşı E proteini virüs içerisinde az miktarda bulunmaktadır ve aynı türden virüslerin bir araya gelmesi ile ortamdan salınmasına fayda sağlamaktadır. Patogeneizde rol aldığı halde virüs replikasyonunda işlevinin olmadığı bilinmektedir. N proteini nükleokapsit yapısını oluşturur ve böylelikle RNA'yı bağlama yetisi gösteren N-Terminal Alanı (NTD) ve C-Terminal Alanı (CTD) olmak üzere iki alan barındırmaktadır. Bu iki alanı barındırmasına rağmen RNA'yı bağlamak için farklı mekanizmalar kullanmaktadır (Fehr vd., 2015).



Şekil 3. Koronavirüs yapısal proteinlerinin şematize gösterimi (Synowiech vd., 2021).

Koronavirüslerin enfekte ettiği hücrelerde virüse ait olup da yapısal olmayan çok çeşitli proteinler (Non-structural protein/ nsp) bulunmaktadır. NSP'ler gösterdikleri enzimatik aktiviteleri ve replikasyondaki fonksiyonlarından dolayı koronavirüs türleri arasında korunur. NSPler sırasıyla nsp1, nsp2, nsp3, nsp4, nsp5, nsp6, nsp7, nsp8, nsp7- nsp8 kompleksi, nsp9, nsp10, nsp11, nsp12, nsp13, nsp14, nsp15 (endoribonükleaz) ve nsp16 (2'-O-metil transferaz) olmak üzere toplam 16 adet saptanmış çeşitleri bulunmaktadır (Rohaim vd., 2021).

Coronaviridae türleri, insanların da içinde bulunduğu yarasaları, kuşları ve memelileri enfekte edebilen genotipik ve serotipik olarak dört farklı cinsten (*Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* ve *Deltacoronavirus*) gruplanmıştır. Alfa ve betakoronavirüs cinsleri insanları enfekte ederken, gama ve deltakoronavirüslerin enfekte önceliği kuşlardır (Hartenian vd., 2020). Koronavirüsler birçok biyolojik sistemi etkilemektedir. Hafif hastalıktan ölüme kadar değişen solunum, mide-bağırsak, karaciğer ve nörolojik hastalıklar gibi potansiyel olarak ölümcül hastalıklara yol açabilir (Shehu vd., 2021).

Bu virüslerde fazlaca yeni tip oluşumu görülmektedir. Bunun sebepleri arasında doğada farklı türler arasında bulaşmasıdır. Diğer küçük genomlu virüslere nispeten büyük olan genomlarında nokta mutasyonların birikmesi ve "coinfection"lerde rastgele rekombinasyonlarla yeni tiplerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Erensoy, 2020).

1.2.1. Soğuk Algınlığı Yapan Koronavirüsler

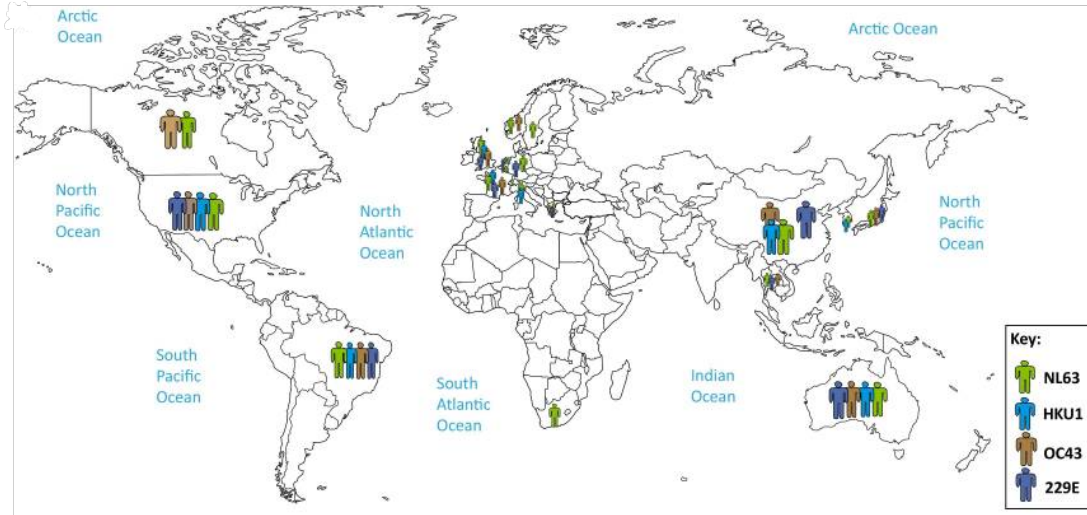
İnsanlarda hafif olarak atlatılabilen nezle veya soğuk algınlığı benzeri enfeksiyon yaparlar. İnsanlar arasında temas veya damlacık yolu ile bulaşma gösterebilir.

İnsanlarda soğuk algınlığı yapan koronavirüsler; HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-OC43 ve HCoV-HKU1 olarak bilinmektedir. Bu koronavirüsler insanlarda genellikle hafif üst solunum yolu hastalıklarına yol açar ve toplumdaki soğuk algınlığı vakalarının %10-30'unu kapsar (Hartenian vd., 2020).

Ilıman iklime sahip ülkelerde ağırlıklı olarak soğuk kış mevsiminde bulaşma eğilimi gösterirken buna karşılık NL63, ilkbahar-yaz mevsimlerinde bulaşma aktivitesi zirvesi göstermiştir (Hendley vd., 1972; Vabret vd., 2006).

HCoV-229E suşu (Hamre ve Procknow, 1966), HCoV-OC43 (McIntosh vd., 1967), ve HCoV-HKU1 (Woo vd., 2005) de soğuk algınlığına yol açar. Semptomlar ile kuluçka süresinin benzerliği açısından klinik olarak rinovirüs ve influenza A gibi diğer patojenlerin etkin olduğu hastalıklarla ayırım yapmak oldukça zor olmaktadır (Tyrrell vd., 1993; Monto, 1974; McIntosh vd., 1967; Van Der Hoek vd., 2006; Abdul Rasool ve Fielding, 2010). Mortalite çok nadirdir ve altta yatan başka hastalıklardan kaynaklandığı bilinmektedir (Shimada vd., 2011).

Hafif seyirli soğuk algınlığına sebep olan bu koronavirüs suşlarının Şekil 4.'te belirtildiği gibi küresel boyutta olduğu görülmektedir. Bu suşlara karşı seroprevalans %90 civarındadır (Sariol ve Perlman, 2020). Oluşan enfeksiyonlarda antikor titresi ile semptomatik enfeksiyon olasılığı arasında ters bir korelasyon görülmektedir. Ancak buna rağmen, enfeksiyona maruz kalmadan önce serumda nötrleştirici antikorların ölçülebilir titreleri mevcut olduğunda bile aynı koronavirüsle tekrardan enfeksiyonun oluşabileceği bilinmektedir (Bradburne vd., 1967). Aynı suşla re-enfeksiyon süresi kişiden kişiye değişir. Ancak semptomatoloji daha hafif seyredebilir (Callow vd., 1990).



Şekil 4. Hafif soğuk algınlığı yapan insan koronavirüslerin dünyadaki küresel dağılımı (Sheahan vd., 2020).

1.2.2. Ağır Enfeksiyon ve Pandemi Yapan Koronavirüsler

Yakın zamanlarda insanlarda şiddetli solunum yolu enfeksiyonlarına yol açan, mortalitesi yüksek ve pandemi yapan koronavirüsleri ortaya çıkmıştır. Ağır enfeksiyon yapan koronavirüsler sırasıyla 2003'te ortaya çıkan SARS-CoV (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus/ Şiddetli Akut Solunum Yolu Sendromu Koronavirüsü), 2012'de ortaya çıkan MERS-CoV (Middle East Respiratory Syndrome Related Coronavirus/ Koronavirüs ile İlişkili Orta Doğu Solunum Sendromu) ve 2019'da ortaya çıkan SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 / Şiddetli Akut Solunum Yolu Sendromu Koronavirüsü-2)'dir.

SARS-CoV ilk olarak Çin'in Guangdong eyaletinde bulaşıcı hastalık olarak çıkmıştır (Peiris vd., 2003). Çin Sağlık Bakanlığı tarafından 11 Şubat 2003'te Dünya Sağlık Örgütü'ne (DSÖ/ WHO) açıklanamayan bir pnömoni olarak bildirilmiştir (Stadler vd., 2003). SARS koronavirüsü insanlarda ciddi alt solunum yolu enfeksiyonunu gösteren ilk varyanttır. Bu ağır enfeksiyon yapan koronavirüsün tipik semptomları arasında kuru öksürük ve yüksek ateş ile seyreden pnömoni yer almaktadır (Sims vd., 2008). Genel ölüm oranı yaklaşık olarak %10 olarak belirtilmiş olsa da yaş skalasına göre değişiklik göstermektedir. Dolayısıyla küçük yaş grubunu çok fazla etkilemese de yaşlılardaki ölüm oranı yüzdesi yaklaşık olarak %50 kadar yüksektir (Hon vd., 2003).

MERS-CoV da SARS-CoV gibi ağır hastalık yapabilir. Zoonotik kökenli olan bu virüs insanlarda mortalitesi yüksek enfeksiyon yapar (Li ve Du, 2019; Zhang vd., 2020). MERS virüsü alt solunum yolunu da enfekte edebilir ve böylelikle ciddi akut solunum yetmezliğine ve ilerleyici pulmoner fibrozise neden olur (Kim vd., 2020). Gastrointestinal semptomatoloji de görülebilir (Assiri, 2013; Yeo vd., 2020).

SARS-CoV-2 salgını ilk olarak Aralık 2019 da Çin'in Wuhan kentinde atipik pnömoni semptomlarıyla ortaya çıktı. Hayvandan insana ve insandan insana bulaşır. SARS-CoV ile bulaşma ve patojenite açısından birçok benzerlik göstermektedir (Wu vd., 2020; Bassetti vd., 2020; Jombart vd., 2020). Semptom yelpazesi asemptomatik ile ölüme kadar değişkenlik gösterir. Semptomları arasında ateş, öksürük, nefes darlığı, kas ağrısı, yorgunluk, baş ağrısı, eklem ağrısı, boğaz ağrısı, burun akıntısı görülmektedir (Guan vd., 2020).

1.3. SARS-CoV-2'nin Çoğalması

Viral spike glikoproteininde bulunan RBD (Receptor Binding Domain/ Reseptör Bağlanma Alanı) ile konakçı hücredeki ACE-2 (Angiotensin Converting Enzyme-2/ Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim-2) etkileşimi vasıtasıyla konakçıya bağlanma gerçekleşir (Hoffmann vd., 2020).

Bir enfeksiyonu başarılı bir şekilde başlatmak için virüslerin hücre zarı bariyerini aşması gerekir. Zarflı virüsler bunu, özel viral füzyon proteinlerinin aracılık ettiği membran füzyonu ile başarır. Çoğu viral füzyon proteini, hücresel proteazlar tarafından endoproteolitik olarak bölünen ve bir reseptör bağlama alt birimi ve bir zar füzyon alt biriminin yarı kararlı bir kompleksine yol açan öncü proteinler olarak ifade edilir. Hücre zarında reseptör bağlanması veya endositozdan sonra protonasyonun bir sonucu olarak, füzyon proteinleri dramatik bir konformasyonel geçişe uğrar. Bir hidrofobik füzyon peptidi açığa çıkar ve hedef zara girer (Jan vd., 2003).

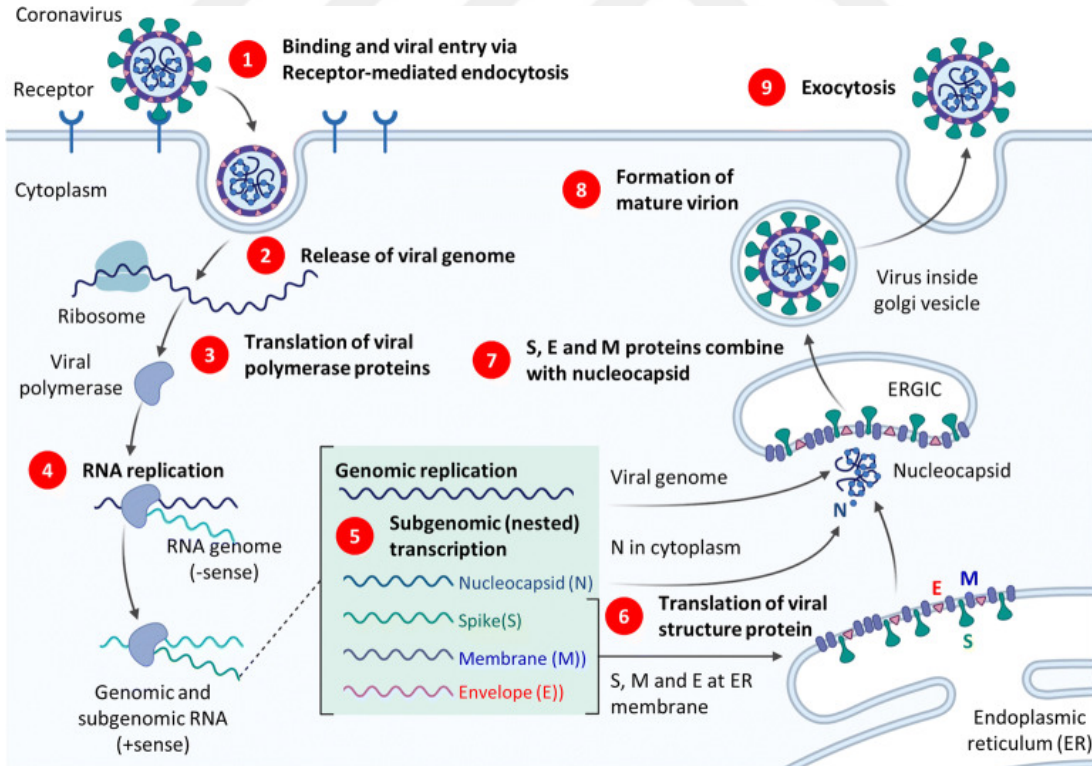
Her ne kadar koronavirüslerin replikasyonu karmaşık olarak kabul edilse de replikasyonun başlaması için virüsün hedef reseptörü vasıtasıyla konak hücreye bağlanmasıyla başlangıç verilmektedir.

Spike proteinin alt birimlerinden olan S1'in reseptör bağlama alanı, anjiyotensin dönüştürücü enzim ACE-2'ye bağlanmaktadır. Bu bağlanma ACE-2'nin peptidaz alanında gerçekleşir. S2 alt birimi ise viral hücre zarı füzyonuna aracılık eder

ve bunu bünyesinde bulundurduğu iki heptat tekrar alanı vasıtasıyla altı helisel demet oluşturarak yapmaktadır (Huang vd., 1982).

Viral genomik RNA'nın açılmasıyla virüs replikasyonu gerçekleşir. RNA polimerazı oluşturmak amacıyla genomik şablon çevrilerek devamında aynı uzunlukta negatif iplikli şablon sentezlenir. Tam uzunluktaki bir genomik mRNA'lardan ve ortak 5' lider ile 3' terminal dizilerinden oluşan set, süreksiz bir transkripsiyon mekanizması tarafından negatif iplik şablonu kullanılarak sentezlenir.

Yapısal olan ve yapısal olmayan proteinler, mRNA'ların 5' ucundaki dizilerden üretilir. Böylece yeni sentezlenmiş genomik RNA molekülleri bir araya gelmesiyle birçok yapı meydana gelmektedir. Sarmal nükleokapsitler, sitoplazma içindeki nükleoproteinler, viral glikoproteinleri içeren endoplazmik retikulumun zarları boyunca tomurcuklu bir yapı meydana getirmektedir. Şekil 5'te de şematize edildiği gibi devamında artık olgunlaşmış olarak kabul edilen virionların veziküller tarafından taşınmasıyla birlikte plazma zarı ile füzyon yoluyla salınmaktadır (Cevik vd.,2020; Yadav vd., 2021; Goldman Israelow, 2020; İnal vd., 2020).



Şekil 5. SARS-CoV-2'nin çoğalmasının biyolojisi (Goldman Israelow, 2020).

1.4. SARS-CoV-2 Patogenezi

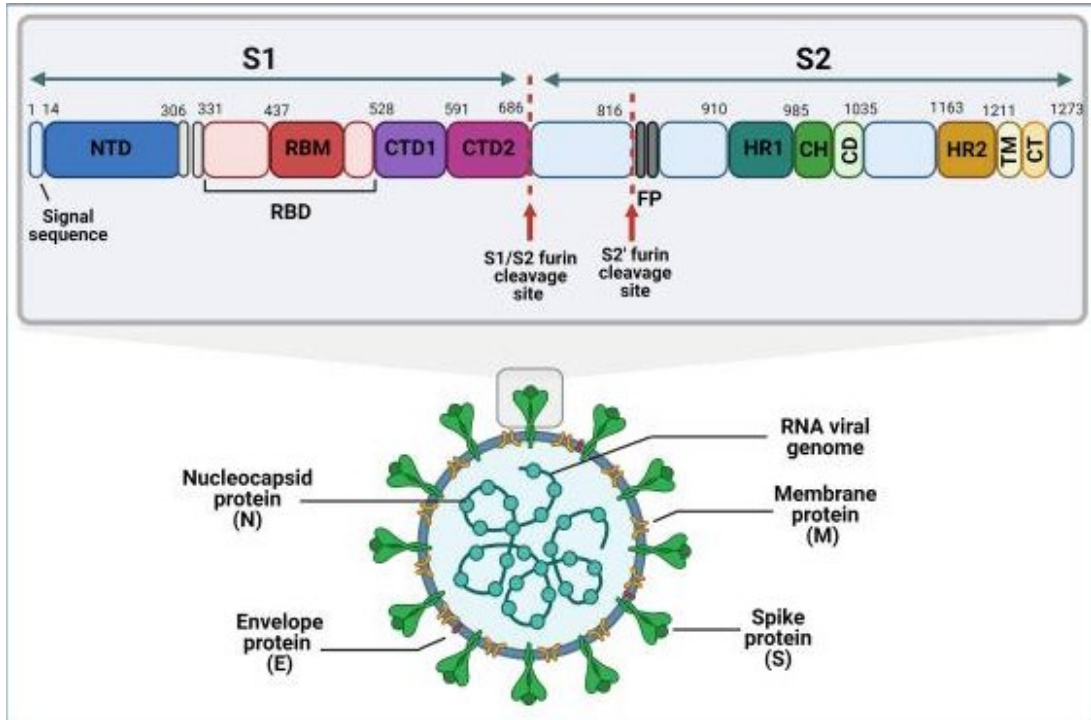
SARS-CoV-2 patogenezi etkileyen genel olarak konakla ilgili üç durum söz konusu olabilir. Bunlardan ilki, yaşlılık ve metabolik işlev bozuklukları ile ilişkili birçok kronik hastalığın varlığıdır. İkincisi, doğal ve adaptif bağışıklığın klasik inflamasyonundaki hem lokal hem de sistemik fenomenlerinin tümünü kapsamaktadır. Üçüncü ise klinik olarak sistemik mikro dolaşım bozuklukları, yaygın damar içi pıhtılaşma, çoklu organ işlev bozukluğu sendromu (MODS), sistemik inflamasyon (SI), ve akut solunum sıkıntısı sendromu (ARDS)'dur (Zotova vd., 2016).

SARS-CoV-2'nin patogenezi konak ve virüse özgü çoklu faktörler katkıda bulunur. Virüse özgü seçici virülans ve patojenite faktörlerin önemi hastalığın özgüllüğünü belirlemesinden gelmektedir. Geleneksel olarak incelendiğinde SARS-CoV-2'nin kullandığı üç farklı viral patojenik stratejisi vardır. Birincisi, fonksiyonel olarak içerisinde gruplanabilen hücresel reseptörler (Virüsün hedef hücreye nüfuz etmesini sağlayan reseptörler, virüsün lehine olan bilgileri hedef hücreye ileten reseptörler ve antiviral tepki başlatan hücresel reseptörler) tarafından virüsün tanınmasıdır. İkinci stratejide (bazı konaklarda) antiviral yanıtın baskılanmasından bahsedilmektedir. Bu baskılanma hem konakçı organizmanın bağışıklık sisteminden gelen hem de enfekte hedef hücrelerden gelmektedir. Ayrıca bu strateji kendi içerisinde bazı interferonların (IFN-1 ve IFN-3) başlangıç antiviral etkilerinin inhibisyonu, spesifik immünite yollarının işlevselleştirilmesi/ işlevsellişsizliği ve doğrudan antiviral yanıt etkisinden virüsün korunması olarak başlıklara ayrılabilir. Son olarak üçüncü strateji, konakçının vücutta viral yaşamının devamlılığı için hayatta kalmasını belirtir. Bu durumda hızlı iyileşme ile sonuçlanan sağlıklı bireylerde doğal ve edinsel bağışıklığın tetiklenmesi ön planda durmaktadır (Rai vd., 2021; Gusev vd., 2022).

SARS-CoV-2'nin konakçı hücrelerle etkileşimi, virüs spike (S) proteininin, Transmembran Proteaz Serin 2 (Transmembrane Protease Serine 2/ TMPRSS2) tarafından işlenen konakçı anjiyotensin dönüştürücü enzim 2 (ACE2) reseptörüne eklenmesi yoluyla gerçekleşir. TMPRSS2, virüsü konakçı hücrelere kaynaştırmak için kritik bir füzyon peptididir (Pal vd., 2020).

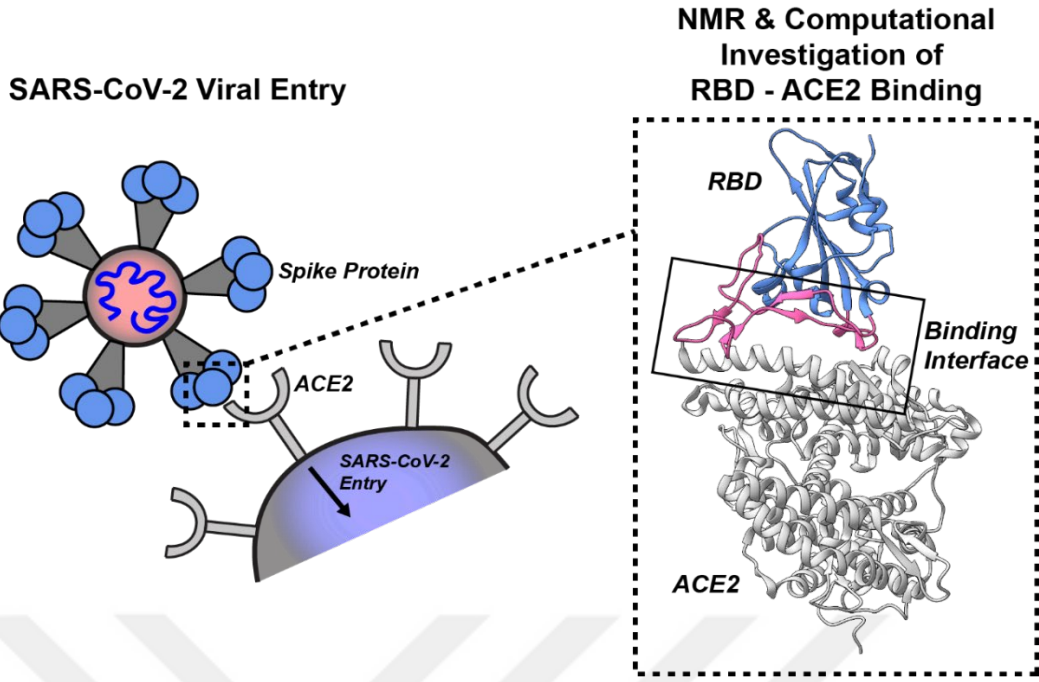
Spike proteini üzerinde ACE2 spesifik olarak tanıyan bir reseptör bağlama alanı (RBD) bulunmaktadır. Spike protein alan yapısının ve SARS-CoV-2'nin birlikte

şematik gösterimi Şekil 6’da ve RBD ve ACE2 arasındaki etkileşim Şekil 7’de verilmiştir.



Şekil 6. Spike protein alan yapısının ve SARS-CoV-2’nin şematik gösterimi. Rakamlar amino asitleri göstermektedir. (S1 ve S2, Spike proteini alt birim 1 ve 2; NTD, N-terminal alanı; RBM, Reseptör Bağlama Motifi; RBD, Reseptör Bağlama Alanı; CTD1 ve CTD2, C-Terminal Alanı; FP, Furin Peptidi; HR1 ve HR2, Heptad tekrarları; CH, Merkezi Sarmal; CD, Bağlayıcı Alan; TM, Transmembran Alan; CT, Sitoplazmik Kuyruk). (Mistry vd., 2022).

İnsan ACE2 (hACE2)’nin yüzeyinde iki kritik virüs bağlama bölgesi içermektedir. Dolayısıyla koronavirüsün enfektivitesi, patogenezi ve bulaşı bu çerçevede şekillenir (Li vd., 2005; Li vd., 2003; Wu vd., 2012).



Şekil 7. RBD ve ACE2 arasındaki etkileşim (Rutgers, 16 Haziran 2023).

SARS-CoV-2 patogenezi (ağır seyirlerde) her ne kadar karmaşık olarak nitelendirilse de; sistemik ve bölgesel seviyede proinflamatuvar sitokin üretiminin düzenleyiciliğini kaybeder. Böylelikle hastalığın hızla seyri görülür ve ölümü tetikler (Channappanavar vd., 2016).

Enfeksiyon bölgelerini ve hasta semptomlarını açıklayan esas durum ACE2 reseptörlerinin farklı dokulardaki dağılımıdır. Virüsün akciğer hücrelerinde aktif çoğalmasıyla ateş, miyalji, bağ ağrısı ve solunum semptomları gibi spesifik olmayan semptomlar meydana gelmektedir (Cevik vd., 2020). Çoğu COVID-19 pozitif hastalarında ve hastalık sonrasında geçici tat ve koku alma disfonksiyonunun çok sık görülmesinin asıl sebebi koku alma epitelindeki veya nöronal geçici hasardır (Cevik vd., 2020).

1.5. SARS-CoV-2 İmmünolojisi

Doğal bağışıklık yanıtları PAMP'lar (Pathogen-associated molecular patterns/ patojen ile ilişkili moleküller şablonlar) ve DAMP'lar (Damage-associated molecular patterns/ hasar ile ilişkili moleküller şablonlar) tarafından enfeksiyonun tanınması, nötrofiller, monositler, makrofajlar ve diğer doğal bağışıklık hücreleri ile başlayan olaylar dizisidir.

PAMP'lar patojenler arasında genetik olarak korunmuş evrensel benzerlik gösteren yapılardır. DAMP'lar ise fonksiyonu tamamen yitirilmiş ve stresli hücreler orijinininden gelmektedir. Bu iki tip şablon PRR (Patojen Tanıma Reseptörü) denilen reseptörler tarafından saptanmaktadır. SARS-CoV-2 virüsünün yapıları ve enfeksiyonu sonucu oluşan hücre hasarı sonucu önemli sayılarda PAMP oluştururlar (Roh vd., 2018; Naqvi vd., 2022).

Vücut bariyerlerinin ve bağışıklık sisteminin oluşturduğu kompleks sistem ilk başta virüse karşı doğal bir engel oluşturur. Doğal bağışıklık tepkileri Tip I interferon, tamamlayıcı proteinler ve sitokinler tarafından indüklenir. Hücreye girişini ve çoğalmasını baskılayan bu sistemin de etkisiyle adaptif bağışıklık etkinleşir (Kikkert, 2020).

Bazı bireylerde doğal savunma her zaman başarılı olmamaktadır. Virüsün bu gibi durumlarda kendini kamufle edici proteinlerle bağışıklık ajanlarından kaçışıyla kendi replikasyonunu başlatabilir (Richt vd., 2012).

Vücut patojenik non-self ile karşılaştığında innate immün yanıt her durumda devrededir. Anti-viral direnç de buna dahildir. Bu bağışıklık tepkilerinin koordineli olması gerekir. Doğal immün yanıt öğeleri antijen sunumu ve sitokin salımı ile edinsel bağışıklık unsurlarını yeterince ve düzenli uyaramazsa aşırı bağışıklık (imunodeviasyon) tepkisi (sistemik sitokin fırtınası) insan vücudunda immün hasara neden olabilmektedir (Channappanavar vd., 2016; Davidson vd., 2015; Shaw vd., 2013).

Öncelikle doğal bağışıklık tepkisini başlatmak için ACE2 reseptörü, Toll benzeri reseptörler (TLR) ve retinoik asit ile indüklenebilir gen I (RIG-I) benzeri reseptörler gibi model tanıma reseptörlerini aktive eder (Moreau vd., 2020). Sırasıyla TLR2 ve TLR4 tarafından, SARS-CoV-2'nin zarf proteini ve başak proteini gibi yapısal proteinler tanınır. Bu noktada aynı anda gerçekleşen iki ayrı durum söz konusudur: Tek sarmallı viral genomik RNA, TLR7/8'i aktive ederken, virüsün çift sarmallı RNA ara ürünleri TLR3'ü bağlar. Böylelikle RIG-I benzeri reseptörler tarafından, sitozoldeki RNA algılanır (Anaeigoudari vd., 2021). TLR'ler ile RIG-I'nin aktivasyonları sayesinde interferon tepkisi indüklenmiş olur. İndüklenme devam ettikçe kontrol altında tutmak için interferon indüksiyonuna karşı inhibisyon mekanizması oluşur. Bu düzenleme mekanizmasında konakçı interferon yanıtı; SARS-

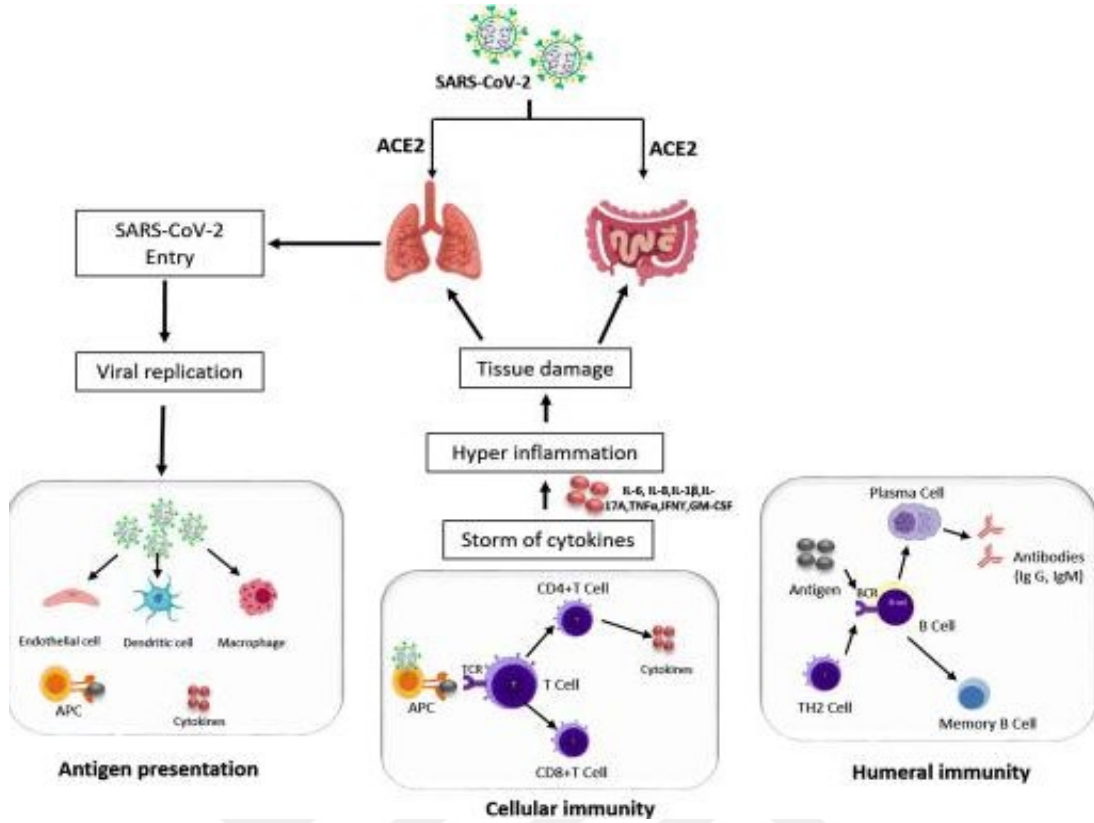
CoV-2 proteinleri, yapısal olmayan proteinler ve nükleokapsid proteini tarafından interferon indüklenmesi inhibe edilir (Anaigoudari vd., 2021; Xia ve Shi, 2020).

SARS-CoV-2 hem doğal hem de edinilmiş bağışıklık tepkilerini uyarmaktadır. Interferon (IFN) sentezi ve salımıyla birlikte antijen sunucu hücrelerin uyarımı ve proinflatuar sitokin salımı gerçekleşir (Sousa ve Brites, 2020).

Viremi bazı hastalarda transiyent lymphopeni yapabilir ($CD4^+$ T ve $CD8^+$ T hücreleri doğrudan öldürebilir.). Virüse özgü IgM ve IgG yanında IgA antikor salımı yapan B lenfositleri uyarılır. Anti-viral antikorlar nötralizan etki gösterebileceği gibi ADCC (Antibody Dependent Cell Cytotoxicity) ve CDCC (Complement Dependent Cell Cytotoxicity)'de de rol alabilir. Öte yandan SARS-CoV-2 bazı durumlarda apoptozu indükleyerek T hücrelerini baskılayabilir ve konakçının edinsel bağışıklık tepkisini bloke edebilir (Pal vd., 2020; Jan vd., 2003).

SARS-CoV-2 enfeksiyonuna karşı oluşan immün yanıtın özelliğinin konağın genel sağlık durumuyla yakından ilişkili olduğunu gösterilmiştir. Virüsün bulaştığı vakaların yaklaşık %80'inde herhangi bir semptom görülmezken %20'sinde hafif üst solunum yolu enfeksiyonundan mortaliteye varabilen yelpaze semptomları görülür. Bu da hastanın sağlık durumu ve immün yanıtıyla direkt ilişkilidir (Bates vd., 2022; Chen vd., 2020). Ağır seyrinde ilerleyen SARS-CoV-2'nin immünopatogenezi Şekil 8'de gösterildiği gibidir. İnvazyonun doğrudan gerçekleşmesiyle bazı bağışıklık hücrelerinde (B-lenfositler, T-lenfositler, doğal öldürücü (NK) hücreler) dikkate değer bir azalma olabilir. Öte yandan $CD8^+$ T-hücrelerindeki artış olabilir. Bu hastalarda fibrinojen üretimi ve pıhtılaşmadaki artışın yanı sıra pro-inflatuar sitokinler ($TNF\alpha$, IL-1 β , IL-6) ve C-reaktif protein (CRP) gibi enflatuar indikatörler de artar (Qin vd., 2020).

Koronavirüs enfeksiyonunun hafif ve orta olduğu durumlarda hastalar normal immün yanıt vererek iyileşir. Normal immün yanıtın ölçülerinden birisi virüse özgü IgM, IgG ve IgA antikorlarının enfeksiyonun başlamasından sonraki 1-2 hafta içerisinde görülebilmesidir. Koronavirüs enfeksiyonun ağır seyretmesi komorbidite olan olgularda söz konusudur. Bu hastalarda virüs, solunum yolu epitelinde çoğalır ve (daha sonra ona karşı koruyucu bağışıklığın oluşması gerekirken) yayılır. Hastalardaki hematolojik parametreler yukarıda bahsedildiği şekildedir.

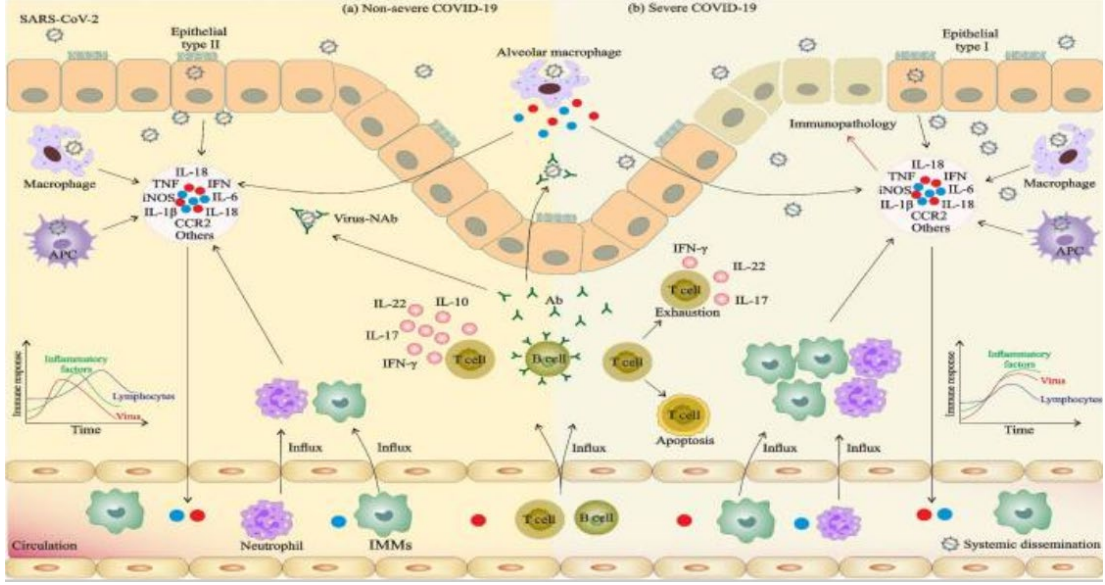


Şekil 8. SARS-CoV-2'nin immünolojisi ve (ağır seyirlerde) immünopatogenezi (Attia vd., 2021).

1.6. SARS-CoV-2'nin İmmünopatolojisi

SARS-CoV-2 ile enfekte olan hastalarda ağır seyirlerde ciddi hasarların gözlemlendiği bilinmektedir. Bu hasarın yegane sebebi; bağışıklığın düzensiz tepkisi, bağışıklık hücrelerinin doğrudan enfeksiyonu ya da otoimmün reaksiyonlarının oluşturduğu inflamatuvarların sonuçları olabilme ihtimalleri vardır (Dandekar ve Perlman, 2005).

Aynı hastalarda görülen semptomlar gibi COVID-19 enfeksiyonlarının bağışıklık tepkileri Şekil 9'da görüldüğü üzere hem hafif hem de şiddetli evrelerde indüklenebilmektedir (Shi vd., 2020).



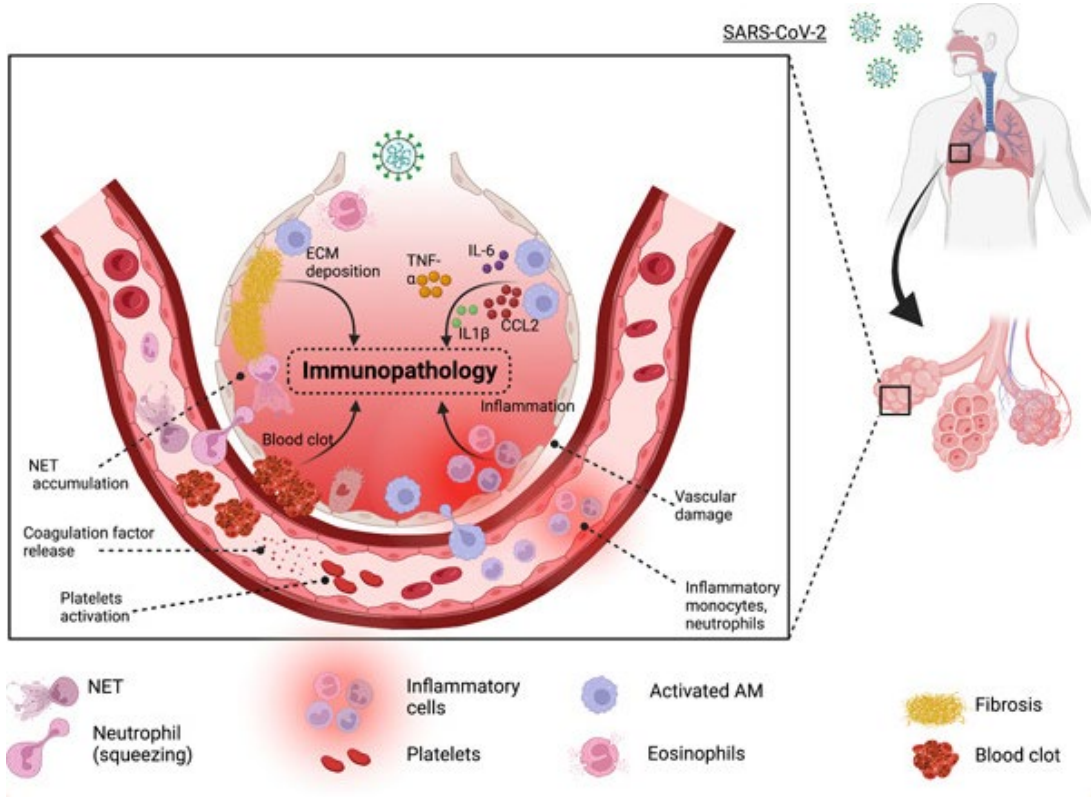
Şekil 9. Hafif ve şiddetli bağışıklık tepkisi. a) Hafif Bağışıklık Tepkisi: Doğal ve adaptif bağışıklık vasıtasıyla virüsün enfeksiyonu engellenebilir ya da hastalığın şiddetlenmesine duvar örebilir. b) Şiddetli Bağışıklık Tepkisi: Eğer viral yük fazlaysa ve devamında düzenli seyretmeyen bağışıklıkla birlikte etkilenen doku hasarının ilerlemesiyle şiddetli akciğer uzak organ tahribatına sebep olmaktadır (Shahgolzari vd., 2021).

Genel patoloji açısından bakıldığında, insan hastalıklarının çoğu, iltihaplanma, tümör büyümesi, tromboz, nekroz, fibroz, atrofi, patolojik hipertrofi, displazi ve metaplazi gibi patojenik süreç görülebilmektedir (Gusev ve Zotova, 2019).

Her hastada görülme de immünopatolojide önemli rol sahiplerinden bir tanesi viral enfeksiyon sırasındaki (sistemik) sitokin fırtınasıdır (Ye vd., 2020). Sitokin fırtınasına bağımlı şiddetli inflamasyon, immün sistem hücrelerinden olan lenfositlerin farklılaşmasıyla aktivitesinde fark oluşturmaktadır. Dolayısıyla total T hücrelerinin ve NK hücre sayısında azalma olmaktadır (Bell vd., 2019; Zheng vd., 2020). Bu azalışın direk virolizle mi yoksa hücrelerin sağlıklı oluşumundan dolayı $TNF\alpha$ 'nin indüklediği apoptoz sonucu mu olduğu belirtilmemiştir. Virüs vasıtasıyla oluşan inflamatuvar bazlı fırtınaların sonucunda ciddi patolojik değişimler olmaktadır (Bell vd., 2019).

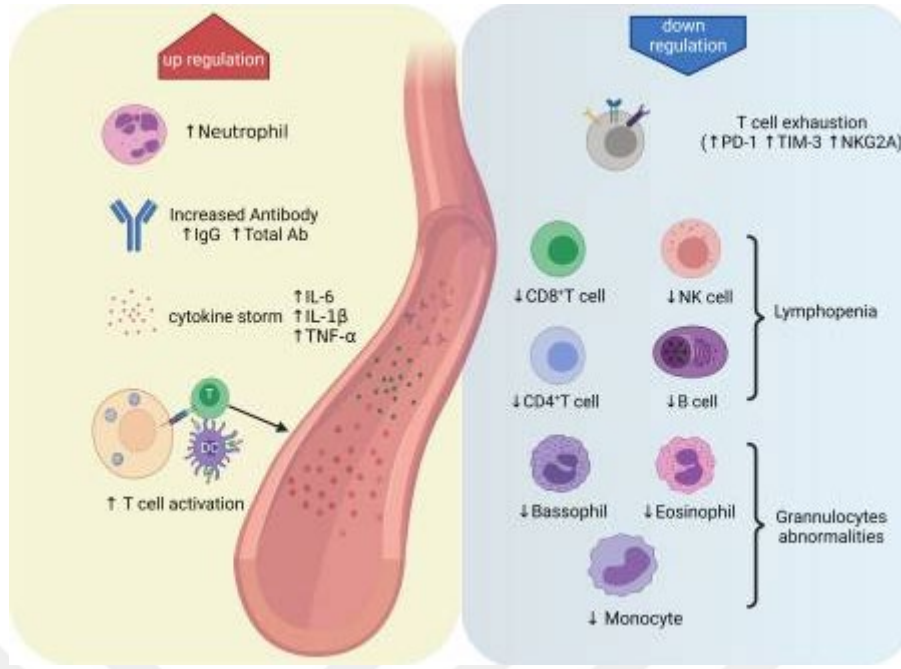
SARS-CoV-2'nin doğal hücre aracılı immünopatolojisinde bir dizi olay gerçekleşir. Bu olaylar dizisi viral girişle başlar, iltihaplanma, vasküler hasar ve

yayılmayla devam eder (Arish vd., 2023). Birçok sitokinin (TNF, IL-6, IL-1 β , CCL2) etkin olduğu bu olaylar dizisi Şekil 10’da gösterilmiştir.



Şekil 10. SARS-CoV-2’nin doğal hücre aracılı immünopatolojisi (Arish vd., 2023): Koronavirüsün bulaştığı insanların %80inde herhangi bir klinik belirti görülmez. Geri kalan %20’sinde hafif üst solunum yolu enfeksiyonu ile mortaliteye varan klinik bulgular ya da klinik seyirler gösterir.

Tüm bu olaylar olurken asıl önemli olan virüsün nötralizasyonudur ve hücre sayılarındaki bazı artış ve azalışlar virüsü nötralize etmede etkin rol oynamaktadırlar. Hafif seyirli vakalardan ziyade şiddetli vakalarda eozinofil, bazofil ve monosit hücre sayısı azalırken nötrofil hücre sayısında ciddi bir artış olmaktadır. Virüsün vücut içerisine girmesiyle uyarılan ve artık aktif hale gelen B ve T hücreleri fazla sayıda antijene özgü antikor üretir ve salgılanır. Şekil 11’de görüldüğü üzere IL-6, IL-1 β ve TNF- α gibi sitokinlerin salgılanmasıyla (ağır seyirlerde) sitokin fırtınası ortaya çıkabilmektedir.



Şekil 11. COVID-19 immünopatolojisinde aşağı ve yukarı regülasyon (Liu vd., 2021).

Adaptif bağışıklığın hücresel unsurları ile sıvısal öğeleri birbirleriyle direkt bağlantılıdır. MHC-II ile antijen sunumu $CD4^+$ T lenfositleri uyarır. T lenfositleri de sitokinleriyle B lenfositlerin farklılaşarak antikor sınıfı değiştirmelerini sağlar. MHC-I ile enfekte hücrelerin antijen sunumu ise $CD8^+$ T lenfositlerini uyatarak viral spesifik sitoliz sağlar. $CD4^+$ T lenfosit sitokinleri $CD8^+$ lenfositler için de etkindir. NK hücreleri MHC-I ekspresyonunun baskılanması ile sitotoksik olarak etkinleşir. Ayrıca $Fc\gamma R^+$ olduklarından (virüsle enfekte hücrelerin) ADCC’de rol alır. Bu hücre aktivasyonları (B, T ve antijen sunucu hücreler) sonucu virüsün enfeksiyonuna engel teşkil eden nötralize edici antikorlar salınır. Normalde enfeksiyon etkenlerine karşı olgunlaşmış acemi B lenfositleri özgül antijen uyarısıyla önce IgM ve sonra IgG ve/ya IgA salgılar (Zhao vd., 2020). Enfeksiyona karşı oluşan saptanabilir nötralize edici antikorlar, virüs tarafından hasta edilen bireylerin %90-99’unda görülebilmektedir (WHO, 15 Haziran 2023). Nötralize edici antikorların hedefi, SARS-CoV-2 S proteininin RBD alanıdır (Ju vd., 2020). Bu nötralizan etki re-enfeksiyonu engelleyebilir ancak bununla birlikte yetersiz serum antikor seviyelerinin sonucu daha önce enfekte olmuş bireylerde re-enfeksiyon görülebilmektedir (Zhou vd., 2020).

Koronavirüsler geniş bir konakçı yelpazesine sahip olmasına karşın yüksek oranda türe özgüllük gösterir. Bağışıklığı sağlam olan konakçılarda virüsü nötralize

edici antikorlar yanında enfekte olan hücreleri öldüren hücre aracılı immün tepkileri gösterirler (Shehu vd., 2021).

1.7. Mutasyona Dayalı Varyantlar

SARS-CoV-2'nin oluşturduğu pandemi incelenirken genomik analizler, süreçle beraber ilerlemektedir. Ve bu süreçte genomik analizler ışığında mutasyona dayalı birçok varyantla karşılaşmıştır. Tanımlanan bu varyantlar halk sağlığı üzerindeki etkisi göz önünde bulundurularak Endişe Edici Varyantlar (Variants of Concern - VOCs) olarak adlandırılmıştır. DSÖ, pandemi başlangıcından bu yana (ve 2022 yılının sonuna kadar) beş SARS-CoV-2 VOC tanımlanmıştır (Aleem vd., 2021).

1.7.1. Alfa (B.1.1.7)

Aralık 2020'nin sonlarında Birleşik Krallık'ta tanımlanan ilk VOCdur. Alfa varyantının oluşumunda başak proteinin RBD'sindeki N50Y mutasyonu, S proteininin NTD'sinde iki delesyon mutasyonu ve buna ek birkaç mutasyon yer alır (Aleem vd., 2021; Eyre vd., 2021).

1.7.2. Beta (B.1.351)

Aralık 2020'de Güney Afrika'da ilk kez bildirilmiştir. Beta varyantının Spike bölgesinde bilinen önemli üç mutasyona sahiptir (Moores vd., 2020). Spike proteinin RBD bölgesinde insan ACE2 reseptörüne bağlanan N501Y, K417N ve E484K'yi bulundurur ve bu bölgeler afinitesini artırır (Yadav vd., 2022).

1.7.3. Gamma (P.1)

Ocak 2021'nin başlarında Brezilya'da bildirilmiştir. Gama varyantının adı, gama değişkeni denilen Lineage P.1'den gelmektedir (Dejnirattisai vd., 2021). Bu varyantların ORF (Open Reading Frame/ Açık Okuma Kalıbı)'lerinde sekiz mutasyon, Spike proteininde on tanımlayıcı mutasyon ve buna ek olarak ORF8 geninde iki mutasyon daha bulundurur (Brant vd., 2021).

1.7.4. Delta (B.1.617.2)

Aralık 2020'de Hindistan'da bildirilmiştir. Delta varyantı COVID-19 pandemisindeki ikinci dalganın nedeni olan SARS-CoV-2'nin B.1.617 soyunun bir

çeşidinden gelmektedir (Lauring ve Malani, 2021). Spike proteininde bulundurduğu mutasyonlar 19R, (G142D), 156del, 157del, R158G, L452R, T478K, D614G, P681R ve D950N'dir (Alkhatib vd., 2021).

1.7.5. Omicron (B.1.1.529)

Kasım 2021'de Güney Afrika'da bildirilmiştir. Omicron varyantında en az 32 olmak üzere çok sayıda ani mutasyon bulundurduğu için bilim insanlarınca kaygı oluşturmıştır. Omicron varyantında bulunan en yaygın Spike proteini mutasyonları K417N, N440K, G446S, S477N, T478K, E484A, Q493K, G496S, Q498R, N501Y, Y505H ve P681H'dir (Chavda vd., 2022).

VOC'ların RBD'lerindeki mutasyonlardan dolayı suşlar arasında hem hücresel ve hem de sıvısal çapraz bağışıklığı düşürür.

1.8. Epidemiyoloji

SARS-CoV-2'nin epidemiyolojisinin anlaşılması için genomik veriler kilit öneme sahiptir. Detaylı analizler ışığında ve bazı hesaplamalara dayalı sonuçlar epidemiyolojiyi açıklamaya araç olarak gösterilebilmektedir (Merhi vd., 2022).

Epidemiyolojiye başka bir pencereden bakmak için temas takibini yapmak mühimdir. Temas takibi, pandeminin zamana ve bireylerdeki enfeksiyon oranlarına erişimini sağlamaktadır. Birçok ülkede sıkı temas takibi, verilerin işlenmesi açısından yardımcı olmuştur.

Pandeminin panzehiri zamandır ve geçen zamana oranla popülasyonlarda enfeksiyona karşı sürü bağışıklığı oluşmaktadır. SARS-CoV-2'yi ele aldığımızda bu bağışıklığın uzun süreli olmadığı ve bağışıklığın geçici olduğu görülmüştür. Sürü bağışıklığı ile SARS-CoV-2 pandemisinin kalıcı ve hızlı sonlanışına dair düşünceyi bozmuştur. (Fine, 1993; Xiao vd., 2016; Koelle vd., 2022).

Pandeminin önlenmesi için birincil öncelik pandemiye neden olan sebeplerin ve koşulların araştırılması ve bilinmesi gerekir. Genomik çeşitliliği fazla olan bu koronavirüs türü için pandemiye yol açan koşulların araştırmacılar tarafından saptanması kolay olmamakla birlikte henüz soru işaretleri de bulunmaktadır (Pekar vd., 2022).

1.9. Bulaşma

SARS-CoV-2'nin insandan insana bulaşma yolları; doğrudan ve dolaylı yakın temas, damlacık ve hava yoluyla bulaşıdır. Bulaşının gerçekleşmesi için virüs ile enfekte solunum partiküllerinin solunması veya mukozal bölgelere (burun, konjunktival veya oral mukozadaki hücreler) yerleşmesi gerekmektedir. Virüsün ilk hedefi mukozal bölgelerdeki epitel hücreleri enfekte etmektir.

SARS-CoV-2 reseptörleri, virüsün solunum yolu epiteline girişine yardımcı olur. Devamında virüsün transkripsiyonunu arttırmasıyla farklı organlara yayılması gözlemlenebilmektedir.

Konakçı, enfekte olduğu andan itibaren değil, güncel verilere göre yaklaşık 4 ile 5 gün sonra bulaşıcılık göstermektedir. Potansiyel olarak bulaştırmak için en kolay yol ekshalasyon yolu olarak söylenebilir (Gu ve Korteweg, 2007; Muralidar vd., 2020).

1.10. Tanı

SARS-CoV-2'nin oluşturduğu hastalığın tanısında çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Küresel olarak klinik laboratuvarlarda bu tanı testleri yapılmıştır (Drain, 2022).

Enfeksiyonun seyrinde genelleme yapıldığında, asemptomatikten şiddetli klinik seyire kadar, uzun vadede nekahat dönemi bulunmaktadır. Bu dönemlerin belli ve farklı zamanlarında enfeksiyona spesifik virolojik ve/veya immünolojik belirteçlere göre tanısı yapılır.

SARS-CoV-2'nin saptanmasında kullanılan prosedürler nükleik asit bazlı moleküler testleri, serolojik testleri, biyosensör bazlı testleri ve radyolojik görüntülemeleri içermektedir (Sharma vd., 2021).

Saptama sürecinde ilk hedef kullanılan teste göre değişmektedir. Esasında spesifik viral nükleik asitleri (moleküler test), proteinler (antijen testi) veya anti-SARS-CoV-2 antikorları (serolojik test) ilk hedef olarak belirlenebilmektedir. Hangi testin ne zaman doğru cevap vereceği birkaç parametreye göre değişmektedir. Enfeksiyon sırasında nükleik asit, antijen ve antikor parametreleri farklı zaman dilimlerinde değişkenlik gösterdiğinden; numunenin doğruluğu, doğru zaman seçimi ve o duruma uygun doğru testin seçimi dikkate alınmalıdır (Alpdagtas vd., 2020; Falzone vd., 2021).

1.10.1. Nükleik Asit Bazlı Testler

COVID-19 pandemisinde klinik açıdan en yaygın olarak kullanılan moleküler testlerdir. Nazofaringeal sürüntü (tükürük, burun ve/veya boğaz sürüntüsü) örnekleri, moleküler bazlı testler için duyarlılığı %97 olarak kabul edildiğinden en güvenilir yöntem olarak tercih edilmektedir (Tsang vd., 2021). Viral yükün yoğunluğu, testin doğruluğunu direkt etkiler. Bu nedenle enfeksiyonda semptomların başlamasından sonra 0. ve 4. günleri arasında %89 oranla en yüksek viral yoğunluğu verir ve devamındaki 10. ve 14. günlerde ise bu viral RNA yük oranı %54'e kadar azalma gösterir (Tahan vd., 2021).

1.10.1.1. Gerçek Zamanlı Ters Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu (rRT-PCR)

Enfekte bireylerde tanımlanan ilk viral belirteç SARS-CoV-2 RNA'sıdır. Solunum yollarından izole edilebilen viral RNA, hastalığın semptom gösterdiği ilk zamandan kısa süre önce veya bu zaman dilimine yakın bir sürede saptanabilir (Van den Borst vd., 2021). RNA konsantrasyonunun en yüksek olduğu zaman dilimi, enfeksiyonun ilk haftasıdır ve ikinci-üçüncü haftalar boyunca düşüşe gider (Wang vd., 2020).

RT-PCR yöntemi, en yaygın kullanılan nükleik asit amplifikasyon testi (NAAT) yöntemidir. Enfekte olan birey ve/veya bireylerden alınan numunelerden SARS-CoV-2 nükleik asiti (RNA) ekstrakte edilir. Enzim olarak ters transkriptaz kullanılır ve cDNA'ya (Complementer DNA / Tamamlayıcı DNA) ters kopyalanır. Çift sarmallı yapıyı, iki parça tek sarmal haline getirmek için ısı denatürasyon sağlanır. DNA polimerazın kullandığı orijinal şablon, cDNA'yı sentezleyerek orijinal DNA'yı kopyalar. Bu kopyalama döngüsü, viral RNA'nın saptanabileceği miktara gelene kadar denatürasyon ve sentezleme devam eder (Gitman vd., 2021; Jayamohan vd., 2021).

Gerçek zamanlı ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (rRT-PCR) testinde, spesifik viral yükün tanısı yapılır. Dolayısıyla SARS-CoV-2'de meydana gelen mutasyonlar testin doğruluğunu değiştirebilmektedir. Buna önlem olarak mutasyona özgü spesifik primerler ya da probler kullanılarak aşılabilmektedir (Tahan vd., 2021).

1.10.1.2. Döngü Aracılı İzotermal Amplifikasyon (Loop-Mediated Isothermal Amplification - LAMP)

LAMP, teşhis aşamasında rRT-PCR'a alternatif olarak hızlı, sağlam ve ucuz olduğundan geliştirilmiştir (Kashir ve Yaqinuddin, 2020). Bu teknikle hedefin sekiz farklı gen bölgesini tanımlamak için karşılık gelen 6-8 spesifik primer kullanılır (Alpdagtas vd., 2020). PCR tekniğinde yalnızca iki tane spesifik yeri tespit ederken, LAMP'da ise DNA şablonunda sekize kadar spesifik yeri ayırt edebilen primerler kullanıldığı için özgüllüğü yüksektir. LAMP testi COVID-19 için yapılırken tüpün içine alınan örnek, kullanılan kite göre bazı kimyasalların eklenmesi ve ardından ısıtma işlemi yapıldıktan sonra 30 dakika içinde virüsün varlığını teyit edebilmektedir (Dhama vd., 2014).

Reaksiyon için LAMP karışımı hazırlanır. Bu karışım tüplere paylaştırılır. Isıtma işleminden önce numuneler eklenir ve inkübasyondan sonra boya eklenir. Son olarak UV altında ışıma yapan tüplerde pozitiflik saptanabilmektedir (Gültekin vd., 2022).

1.10.1.3. Kümelenmiş Düzenli Aralıklı Kısa Palindromik Tekrarlar (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats - CRISPR) Teknolojisi:

CRISPR, kümelenmiş ve düzenli aralıklı kısa palindromik tekrarların kısaltılmış halidir (Jansen vd., 2002). Kısaca savunma sistemi, yabancı genoma dahil edilir ve bu sekansları istilacıya karşı saldırmak için kullanması şeklinde çalışır (Strich ve Chertow, 2019). Genom mühendisliğinde, gen düzenleme araçları kullanılarak viral tespit yapılan bu platformun en yeni şekilleri CRISPR-Cas sistemine ait bazı nükleazlar (Cas12a, Cas13a gibi) ile sağlanmaktadır (Rotondo vd., 2022).

Antikor testlerinin akut enfeksiyon döneminde düşük miktardaki antikoru saptayamama, hızlı antijen testlerinin özgüllüğünün az olması, RT-PCR'ın uygulanması ve değerlendirilmesi sürecinde gerekli olan ekipman ve eğitimli personel gerekliliği CRISPR teknolojisinin tercih edilmesine neden olmuştur (Temel vd., 2021).

CRISPR-Cas sistemleri iki sınıfa ayrılmaktadır. Sınıf 1, girişim adımı için birden fazla Cas proteini içerir. Belirteçli imza genleri, DNA'yı ve RNA'yı kesen Cas3 ve Cas10'dur. Sınıf 2, birçok alanlı proteine bağlıdır. Sınıf 2'de Cas 9 ve Cas12

proteinleri hedef DNA'da kesim yaparken eş zamanlı olarak Cas13 de RNA'yı ayırmaktadır (Bourassa vd., 2021; Makarova vd., 2015; Shmakov vd., 2017).

Nükleik asit tespiti için Bio-SCAN (Biyotin Bağlantılı Spesifik CRISPR Bazlı Tahlil), CRISPR-Cas9 tabanlı yanal akış sistemi de günümüzde sıkça kullanılmaktadır. İleri düzey ekip ve malzeme gerektirmeyen bu testte, nazofaringeal sürüntü örneğindeki patojen tespiti bir saatten kısa bir süre içinde sonuç vermektedir. Bio-SCAN, yanal akış şeritlerinde bulunan biyotin etiketli moleküller, hedef nükleik asit dizisini Cas9 tarafından tespit etmesiyle gözle görülebilir bir sonuç verir (Ali vd., 2021).

Yanal akış şeritlerin kullanılarak nükleik asit tespiti yapılan CRISPR-Cas13 testi, diğer CRISPR sistemlerine benzer şekilde çalışmaktadır. CRISPR-Cas13 ile yapılan testler; hızlı (< 2 saat), ucuz ve taşınabilir olmakla birlikte gebelik testlerine benzer yanal akış şeritleri kullanılarak teşhis gerçekleştirilir. Duyarlılığı %95'ten ve özgüllüğü %99'dan büyüktür (Shillito vd., 2021).

1.10.1.4. Mikroarray Tabanlı Teknoloji

Bu teknoloji ile viral RNA saptaması bir mikrodizi plaka okuyucusu yardımıyla gerçekleştirilir. Ölçüm, plakanın yüzeyi üzerinde katı fazlı oligonükleotitlerle hibridize edilmiş viral RNA'dan sentezlenen cDNA molekülleriyle yapılmaktadır (Chen vd., 2010).

Antijen tabanlı mikrodizi testlerde katı fazı, epoksi kaplı plastik yüzeyden oluşmaktadır ve viral antijenlerin kovalent olarak doğrudan bağlanmasıyla gerçekleştirilebilmektedir. Mikrodizi üzerindeki önceden belirlenmiş lokasyonlardaki antijenlerin varlığı hesaplanabilmekte ve sinyal okuma işlemi yazılım programlarıyla gri değer sinyalleri olarak adlandırılan sinyaller komut dosyası tarafından okunabilmektedir. Mikrodizi tabanlı bu teknoloji, önceden optimize edilmiş protokollere göre yapıldığında sonuçların tutarlı olması elzemdir (BurgoldVoigt vd., 2022).

Bu tekniği diğer tekniklerden ayıran en belirgin özelliği hızlı ve aynı zamanda yüksek verimlilik vermesidir. Floresan olmayan ve yoğunluğu az olan oligonükleotit dizisi kullanılarak daha hassas tespit için kullanılmaktadır (Sharma vd., 2021).

1.10.1.5. Hızlı Tanı Testleri (Rapid Diagnostic Tests – RDT’ler)

RDT’ler, antijen bazlı immünoanalizlerdir. SARS-CoV-2’ye ait olan genleri (NAAT) ve proteinleri tespit ederek, o tespite tekabül eden pozitif veya negatif bir değer vermektedir. Semptomatik ve asemptomatik enfekte kişilerde de kullanılabilir (Drain, 2022).

1.10.2. Antijen Bazlı Serolojik Testler

Antijen bazlı testlerin ortak özelliği hastada spesifik SARS-CoV-2 antijenlerini saptamak için etiketli antikorlar kullanılan immünolojik testlerdir (Bourassa vd., 2021). Katı matrikse bağlı anti-viral antikorların hasta örneklerindeki antijeni yakalaması, bu antijen-antikor kompleksine işaretli farklı anti-viral antikorun bağlanması ve sinyalin ölçülmesi esasına dayanır. Deney aşamasında hasta numunesi eklendiğinde anti-SARS-CoV-2 antikorlar hasta örneğindeki antijenlerine bağlanır (Filchakova vd., 2022).

SARS-CoV-2 tespiti için %81 hassasiyet ve %99 özgüllük ile oldukça hassas ve spesifik testlerdir (Hanson vd., 2021).

Bu testler arasında Enzim Bağlantılı İmmünosorbent Testleri (Enzyme Linked Immunosorbent Assays - ELISA) ve immunochromatography yer almaktadır. Testler, özellikle, SARS-CoV-2 virüsünün S ve N proteinlerinin varlığını hedef alırlar. Testin etkinliği hastalığın evresi ve viral yük gibi faktörlerden etkilenir (Alpdagtas vd., 2020; Di Domenico vd., 2021).

1.10.3. Antikor Bazlı Serolojik Testler

Hastada virüse özgül antikor arama prensibine dayanır.

SARS-CoV-2’ye ait viral antijene özgü üretilen antikorlar immünofloresan, immünokromatografik, kemilüminesans deneyleri ile ELISA gibi çeşitli bağlanma deneyleri kullanılarak tespit edilebilirler (Di Domenico vd., 2021).

Antikor bazlı testlerin, diğer testlere kıyasla göze çarpan dezavantajı, erken tanı için uygun olmadığıdır. Çünkü antikor tespitinin saptanabilir olması için enfeksiyondan yaklaşık bir-iki hafta zaman geçmesi gerekir. Bu dönem de genellikle antijen düzeyinin düşmeye başladığı dönemdir. Dolayısıyla viral nükleik asit veya antijen aranmasında eğer geç kalınmışsa başvurulabilir bir yöntem olarak kabul edilebilir (Falzone vd., 2021).

1.10.4. Biyosensör Bazlı Testler

Hasta numunelerinde biyobelirteçler denilen biyomolekülleri tespit etmek için kullanılan cihazlardır. Biyosensörler; biyobelirteç, biyotanıma elemanı, dönüştürücü ve sinyal amplifikatörü elemanlarından meydana gelmektedir. Diğer tekniklerden ayıran özellikleri arasında; yüksek hassasiyet, kullanım kolaylığı, maliyet ve minyatürleştirilme yeteneği gibi çeşitli avantajları bulunmaktadır (Parihar vd., 2020).

Nano-biyosensörlerin diğer testlere nazaran duyarlılığı, yanıt süresi, güvenilirlik ve taşınabilirlik açısından birçok avantajının olmasıdır. Oldukça hassas olan bu testler, az miktardaki örneklerin tespitinde kullanılır. Bunun yanında yalancı pozitif ve negatif sonuçları en aza indirebilme potansiyelleri vardır.

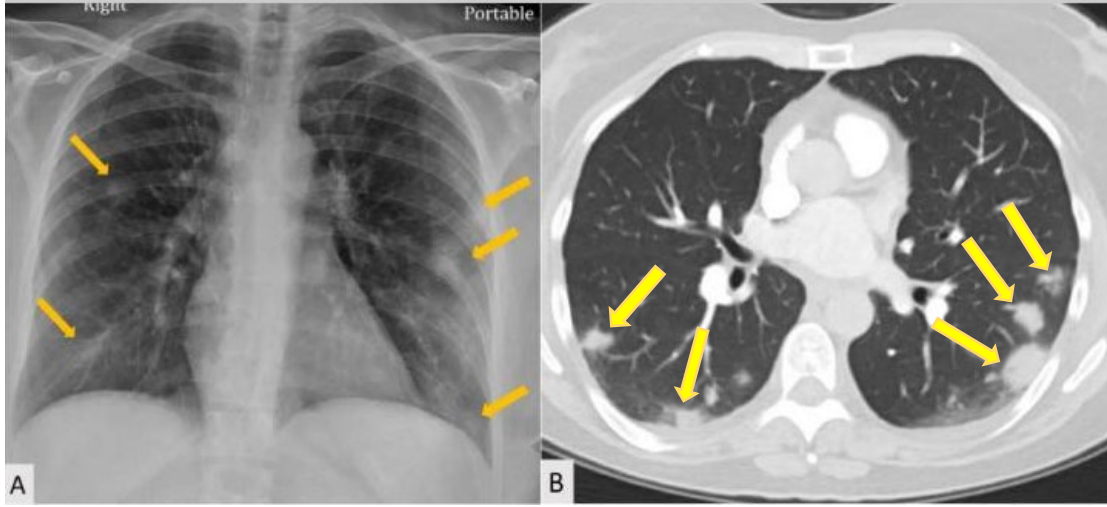
Protein, antikor, aptamer (spesifik hedef moleküllerine bağlanabilen peptid molekülleri veya oligonükleik asitler), enzim, nükleik asit ve hücreler de dahil olmak üzere birçok biyolojik molekülleri kullanarak teşhisi gerçekleştirir. Elektrokimyasal, optik, piezoelektrik, manyetik, mekanik ve termal değişimlerle ölçüm yapılır. Nanoparçacıklar, daha öncesinden eklenmiş olan hasta örneklerindeki biyobelirteçleri ultra hassas olarak işaretler.

Yaptığım makale taramalarına göre araştırmacılar birçok biyosensör geliştirmişlerdir ve bunlardan bir tanesi ise kolorimetrik dikey akış immünoassay biyosensörüdür. Spike proteinine özgü IgG ve IgM antikor saptaması için kullanılan kolorimetrik cihaz uygun bulunmuştur. Sonuçların gözlenmesi, nitroselüloz membran üzerinde altın nanopartiküllerle etiketlenmiş ikincil antikor vasıtasıyla yapılmıştır. Kullanılan biyosensör insan derisine güvenli nüfuz edebilen gözenekli mikroiğneleri barındırmaktadır. Tespit için grafen bazlı elektrot kullanılarak SARS-CoV-2 antijenini (RBD konjugatını) sabit tutup biyosensör voltametriyle hasta numunesi üstünde teyit edilmiştir (Bao vd., 2021; Pohanka, 2022).

SARS-CoV-2 tespiti için yüksek kimyasal reaktivite, daha iyi stabilite, geniş yüzey, iyi adsorpsiyon, sağlamlık, biyouyumluluk, minimum numune hacmi ve hız açısından oldukça duyarlı test olarak kabul edilmektedir (Harun Ur Rashid vd., 2022).

1.10.5. Radyolojik Görüntüleme

COVID-19 pnömonisi radyolojik görüntüleme tekniği olan bilgisayar tomografisi (BT) ile yapılır. BT’de Şekil 12’deki gibi buzlu veya kırık cam şeklinde göğüs radyografisine yansımaktadır (Kanne vd., 2021).



Şekil 12. COVID-19 pnömonisi ile ilişkili pulmoner opasitelerin klasik kırık cam morfolojisini (oklar) gösteren hastanın; (A) göğüs radyografisi ve (B) Eksenel BT'si (Toussie vd., 2022).

1.11. Tedavi

Viral genom replikasyonunu, viral protein sentezini, viral giriş, birleşme ve tomurcuklanma için gerekli olan konak proteazlarını inhibe eden spesifik olmayan anti-viral ajanların kullanılmasıyla ve enfeksiyon sonrası inflamasyonun hafifletilmesi amacıyla SARS-CoV-2 enfeksiyonunu baskılayan/ engelleyen biçimlerde tedaviler uygulanmaktadır.

Aşı, bir tedavi biçimi olmasa da enfeksiyon öncesinde bağışıklığın korunmasına ve tedaviye yardımcı olduğu için bu başlık altında açıklanmıştır.

1.11.1. Antiviral ve İmmünomodülatör İlaçlar

Mevcut tedavi yöntemleri içerisinde SARS-CoV-2 için reçete edilen yaygın ilaçlar bulunmaktadır. Bu antiviral ilaçlar SARS-CoV-2'ye spesifik olmasa da bazı inhibe edici özelliklerine göre reçete edilmişlerdir.

Umifenovir, viral replikasyonunun inhibisyonunu sağlayan antiviral bir ilaçtır. Klinik deneylerde SARS-CoV-2 varyantlarının bazılarında etkisiz olduğu görülmüştür (Darazam vd., 2021; Vankadari, 2020).

Favipiravir, RNA'ya bağımlı RNA polimerazın aktif hale gelmesini etkili bir şekilde önleyen antiviral ilaçtır. Çeşitli varyantlara karşı kanıtlanmış bir durum gösterir (Viciara vd., 2013).

Remdesivir, bir nükleosid analogu olan ve RNA'ya bağımlı RNA polimerazı (RdRp) inhibe eden antiviral ilaçtır (Kokic vd., 2021; Spinner vd., 2020; Vangeel vd., 2022).

Ribavirin, enzimin nükleotit bağlama bölgesine bağlanarak viral RNA polimerazı inhibe eden antiviral ilaçtır (Beaucourt ve Vignuzzi, 2014).

İvermektin, hücre içi anahtar taşıma, ivermektin konak importin alfa/beta-1 nükleer taşıma proteinlerini inhibe ederek etki eden antiparazit ilaçtır. Bilim insanları klinik deneyler dışında ivermektin kullanımını tavsiye etmemektedir (Delandre vd., 2022).

Kamostat, virüsü aktive eden konakçı hücre proteazı TMPRSS2'yi inhibe ederek akciğer hücrelerinde SARS-CoV-2'nin çoğalmasını azaltan serin proteaz inhibitörüdür (Hoffman vd., 2021; Sakr vd., 2021).

Nafamostat, hem virüs hem de insan hücreleri arasında membran füzyonunu önleyen TMPRSS2 aktivitesini bloke ederek MERS-CoV enfeksiyonunu inhibe eden proteolitik inhibitördür. SARS-CoV-2'ye karşı etkinliği de kanıtlanmıştır (Takahashi vd., 2021).

Famotidin, rekabetçi histidin H-reseptör antagonisti olan histamin bloke edicidir. Bu ilaç kullanımı sayesinde inflamasyonda ve semptomlarda azalma olmaktadır (Mohseni vd., 2022).

Molnupiravir, SARS-CoV ve SARS-CoV-2'ye karşı geniş antiviral etkinliğe sahip benzersiz bir nükleosid analogu olan antiviral ilaçtır ve birçok virüsün çoğalmasını önler (Kabinger, 2021; Singla ve Goyal, 2022).

AT-527, guanosin Nükleotid analogu olarak işlev gören antiviral ilaçtır (Basu vd., 2022).

Niklozamid, S-faz kinaz ilişkili protein aktivitesinin inhibisyonu ile virüsün replikasyonunu azaltan antihelminth ilaçtır. COVID-19 enfeksiyonunu inhibe ederek hastalarda sitokin fırtınasını azaltmaktadır (Basu vd., 2022).

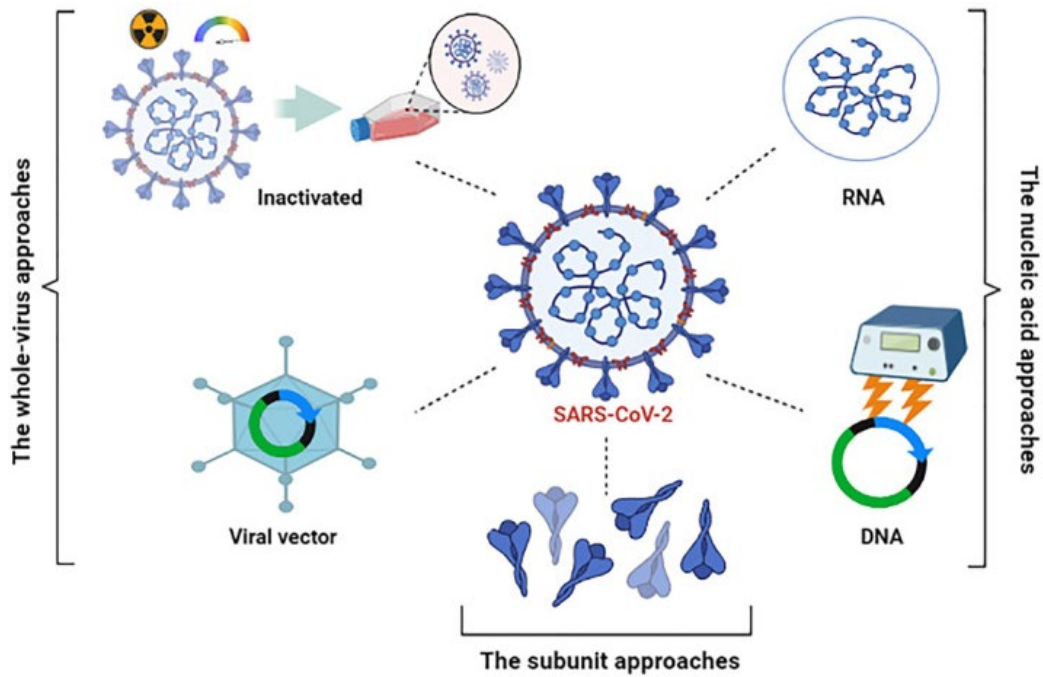
Deksametazon, bağışıklık sistemini bastıran kortikosteroid ilacıdır. COVID-19 hastalarında sitokin fırtınasını azaltarak, akciğer iltihaplanmasını ve sıvı tutmasını engellemektedir (Basu vd., 2022).

Artesunat, virüslerin çoğalmasını engelleyen sıtmaya karşı kullanılan bir ilaçtır (Basu vd., 2022).

1.11.2. Aşı

COVID-19 pandemisine karşı yoğun aşı çalışmaları yapıldı ve pandeminin başlamasından bir yıl sonra giderek artan sayıda ve tipte kullanılmaktadırlar. İlk geliştirilen ve kullanılan aşı vero hücrelerinde üretilmiş, inaktif tam viral aşıdır (Palacios vd., 2020). Çok daha yaygın kullanılan ve sonradan geliştirilen mRNA aşılarında hedef spike proteini ve RBD olmuştur. Çünkü enfeksiyon sırasında, S proteini ve RBD'ye karşı nötralize edici antikorlar ortaya çıkmaktadır (Attia vd., 2021).

COVID-19 aşıları tasarlanırken Şekil 13'te gösterildiği gibi bilinen en büyük üç aşı teknolojisi platformundan yararlanılır. Bunlar; tam virüs yaklaşımı (inaktif aşılar, viral vektör aşıları), alt ünite yaklaşımı aşılar ve nükleik asit yaklaşımli aşılar (RNA ve DNA tabanlı aşılar)dır (Hadj Hassine, 2022).



Şekil 13. Aşı teknolojileri yaklaşımları. İnaktif, viral vektör, alt birim yaklaşımli ve nükleik asit (DNA/RNA) yaklaşımli aşılar şematize edilmiştir (Hadj Hassine, 2022).

Günümüzde dekullanılmış/kullanılmakta olan popüler COVID-19 için geliştirilmiş bazı aşı çeşitleri bulunmaktadır. Bunlara örnek verecek olursak; mRNA tabanlı Moderna ve BionTech, inaktif aşı teknolojisiyle geliştirilmiş olan Sinovac ve

viral vektör aşı teknolojiyle geliştirilmiş olan Sputnik V ve AstraZeneca bunlara örnektir.

1.11.2.1. Tam Virüs Yaklaşımı Teknolojisi

İnaktive edilmiş aşılar kimyasallarla, radyasyonlarla ya da ısı ile öldürülmüş virüsün tamamı içerisinde bulunmaktadır. Laboratuvar ortamında geliştirilen bu aşılar uzun süreli üretim söz konusudur ve etkili olabilmesi için iki veya üç doz olarak uygulanması gerekmektedir (Bandyopadhyay vd., 2015; Keshavarz vd., 2019).

Viral vektör aşılarında immün sistemin uyarılması gereken virüs bileşenleri, zararsız olan ve sadece taşıyıcı görevi gören güvenli bir virüse klonlanmaları ile oluşturulur. Virüs vektörü, hastalığa ait bağışıklığı arttırmak için hedef viral proteinleri insan vücuduna taşımakla görevlidir (Milligan vd., 2016).

1.11.2.2. Nükleik Asit Yaklaşımı Teknolojisi

Nükleik asit yaklaşımli aşı teknolojisinde DNA veya mRNA gibi genetik bilgilerin kullanılmasıyla konakta belirli proteinler üretilirerek bağışıklık sağlanmaktadır (Liu, 2019).

1.11.2.3. Alt Birim Yaklaşımı Teknolojisi

Bağışıklık sistemini tetikleyen saflaştırılmış antijenlerin kullanılmasıyla sağlanmaktadır (Hassine vd., 2020).

1.11.3. İyileşen Plazma Tedavisi (Convalescent Plasma Therapy)

İyileşen plazma tedavisi kısaca pasif bağışıklama tekniği olarak tanımlanır. Bu tedavi tarzındaki asıl amaç hastanın bağışıklık sistemini güçlendirmektir. Daha öncesinde hastalığı geçirmiş ve iyileşmiş hastaların kan plazmasında bulunan yüksek titrede nötralize edici antikorlar vasıtasıyla tedavi sağlanır. SARS-CoV-2 salgınında iyileşen plazmanın önemi, nötralize edici antikorun başak proteinine bağlanarak viral girişi engelleyebilmesiyle gösterilebilir (Dhawan vd., 2022).

İyileşmiş hastalardan alınan antiviral antikorların izole işleminden sonra bağışıklığı güçlendirilmek istenen hastanede yatan veya yüksek riskli hastalara enjeksiyonu yapılır (Olivares Gazca vd., 2020).

İyileşen plazma tedavisinin ciddi vakalarda (komorbititesi olan vakalarda yani başka hastalığı olan vakalarda) ölüm oranının azaltılabileceğini ve semptomları hafifletebileceği sonuçlarına ulaşılabilir (Menichetti vd., 2022; Xia vd., 2020).

1.11.4. Monoklonal Antikor

Monoklonal antikorların (mAb), SARS-CoV-2'nin başak proteinini hedef alanları tedavide kullanıldı. mAb'ler tedavi amaçlı kullanıldıklarında enfeksiyon oranında, hastaneye yatışlarda, hastalık ilerlemesinde veya ölüm oranında azalma gösterebilme potansiyeline sahip ajanlardır (Focosi vd., 2022). Bazı monoklonal antikorlar aşağıda verilmiştir;

Babtelovimab, Bamlanivimab adı verilen rekombinant nötralize edici bir insan IgG1 monoklonal antikorudur. SARS-CoV-2 spike proteininin reseptör bağlama bölgesine bağlanır ve spike proteininin insan ACE2'ye bağlanmasını engeller (Taylor vd., 2021).

Kasirivimab, SARS-CoV-2 başak proteininin birçok epitopunun çeşitli varyantlarına etki eden monoklonal antikorlardır (Joy vd., 2022).

Sotrovimab, SARS-CoV-2 başak proteini reseptör bağlama alanındaki bir epitopa bağlanan monoklonal antikordur. Viral bağlanma gerçekleştikten sonra, viral ve konakçı hücre zarlarının kaynaşmasından önce gerçekleşen tanımlanamayan bir süreci bloke etmektedir (Elesdoudy, 2021; Zhou vd., 2022).

Tiksagevimab, Tixagevimab (AZD8895) ve Cilgavimab'ın (AZD1061) karışımından oluşan monoklonal antikordur. SARS-CoV-2 spike proteinine etki etmektedir (Horby vd., 2020; Levin vd., 2022).

Monoklonal antikor tedavisi gören hastalarda olumlu sonuçlar görülmüştür. Viral titrelerin inhibe edilmesi, profilaktik ve terapötik kullanımlarda akciğer hasarını azaltması, ağır ve kritik seyirli enfeksiyonlarda hastaların hastane yatışı ve ölümlerin azaltılması gibi tedaviye pozitif etkileri görülmüştür (Hwang vd., 2022).

1.12. Hastalarda Klinik Seyir

1.12.1. Asemptomatik Hasta Grubu

Asemptomatik hastaların değerlendirilmeleri hastane tarafından sağlanan hasta öyküsü, muayene, tetkikler, bazı görüntüleme ve testler olmak üzere birçok süreçten

sonra sonuca varılır. Değerlendirmeye ve hastaneye başvuru sebepleri arasında semptom gösteren hastaların temaslıları olmaları ve farklı bir hastalıktan hastaneye başvurmuş sonrasında COVID19 tanısı konulmuş kişilerdi (Chan vd., 2015).

Bir SARS-CoV-2 enfeksiyonunun asemptomatik olması bulaşıcılığının da olduğunu ifade eden araştırmalar ile birlikte kanıtlar da bulunmaktadır. Asemptomatik hasta numunelerinde SARS-CoV-2, RT-PCR ile pozitif saptanmış ancak klinik semptom bulunmamaktadır. Hastalar bu süreci rahatlıkla atlattımlardır (Gao vd., 2021).

Asemptomatik seyir gösteren hastaların SARS-CoV-2 enfeksiyonu için RT-PCR'ın döngü eşik değerleri semptomatik hastalardaki gibi benzer sonuç vererek hastalığın pozitifliği belirlenmiştir (Lee vd., 2020).

1.12.2. Hafif-Orta Seyirli Pnömonili Hasta Grubu

Birçok organ sistemini etkileyebilen hastalıkta genelde yorgunluk gibi hafif ve genel bir semptomla hastalık başlar. Günlük yaşam ve fonksiyonu kalitesinde düşüş görülebilir (Lai vd., 2022).

Hastanede yatan hastalar ateş, kas/eklem ağrıları, öksürük ve boğaz ağrısı gibi bulguları olup solunum sayısı $< 24/\text{dakika}$ olan, oda havasında SpO_2 düzeyi $> \%93$ olan hastalardır.

Hastanede yatış yapılarak takip edilen orta seyirli hastalar; akciğer görüntülemesinde bilateral yaygın ($>\%50$) tutulumu olmayan, solunum sayısı $\geq 24/\text{dakika}$ olan, oda havasında SpO_2 düzeyi $\leq \%93$ olan hastalardır.

1.12.3. Ağır Pnömonili Hasta Grubu (Yoğun bakım ünitesinde takip ihtiyacı olan hastalar)

Ateş, kas/eklem ağrıları, öksürük ve boğaz ağrısı gibi belirtileri olup takipnesi mevcut ($\geq 30/\text{dakika}$) ve oda havasında SpO_2 düzeyi $\leq \%90$ 'ın altında olan hastalar: Akciğer grafisi veya tomografisinde bilateral yaygın pnömoni bulgusu ($>\%50$) tutulumu saptanan solunum desteği ile oksijen ihtiyacı olan hastalardır.

Bu çalışmada primer sonlanım noktası 28 günlük mortalite olarak belirlendi.

1.12.4. Mortal Hastalar

Mortal hastalarda, ağır klinik seyrinden sonra ölüm riski en yüksek olan bireyler 80 yaşından büyük kişiler olduğu belirtiliyor. Hastada komorbidite (kardiyovasküler hastalık, diyabet, hipertansiyon, kronik solunum yolu hastalığı, kanser gibi hastalıkların olduğu bireyler) daha sık bu dilimde görülmüştür (Segars vd., 2019).

İshal, artromiyalji, baş ağrısı, koku ve tat duyusu kaybı gibi semptomları barındıran hastalarda mortalite düşük olarak gözetlenirken öte yandan düşük oksijen satürasyonu, yüksek CRP düzeyleri ve ciddi hastalıkların bulunduğu hastalarda mortalite daha yüksektir (Rodriguez Molinero vd., 2020).

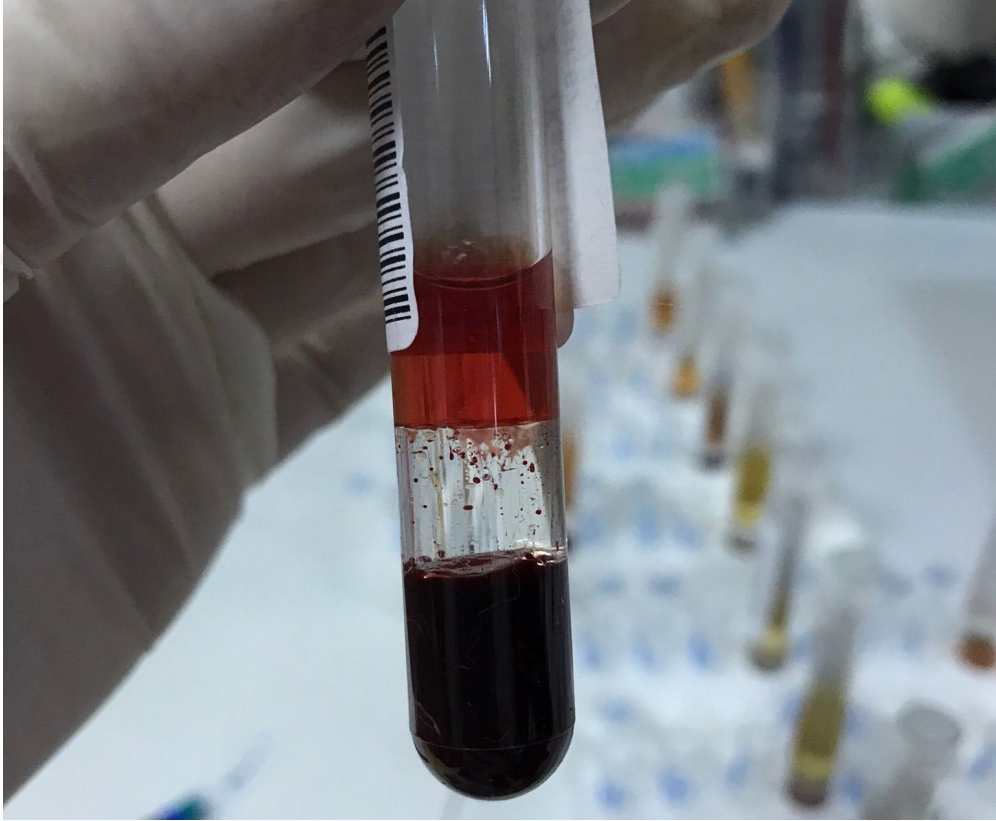
Bunun yanı sıra bilinç kaybı ölümün göstergeleri arasında bulunur. Hastanede iyileşmeyen ve olumsuz prognozu bulunan hastaların %10'luk diliminde bilinç bozukluklukları tespit edilmiştir (Chen vd., 2020).

2. MATERYAL VE METOT

RTEÜ bünyesinde Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar, 06.01.2022 tarihinde 2022/04 belge numaralı Etik Kurulu onayı alındı. Etik kurul onayı alındıktan sonra çalışmalara başlandı.

2.1. Hematolojik ve Biyokimyasal Parametrelerin Ölçülmesi

Alınan kanlar rutin biyokimyasal testlerden geçtikten sonra sarı kapaklı tüp protokolü işlendi. Sarı kapaklı tüplerdeki numuneler hormonal, hematolojik, biyokimyasal ve mikrobiyolojik gibi analizler için kullanıldı. Şekil 14'te gösterildiği gibi özel jel formülasyonuna sahip bu tüplerdeki ayırt edici özellik serumu kandan ayrıştırdı ve serum deneylere tabi tutuldu.



Şekil 14. Sarı kapaklı tüp protokolüne uygun olarak işlenmiş COVID-19 hastasına ait numune.

2.2. Hastalar

01.10.2021 – 01.09.2022 tarihleri arasında COVID-19 tanısıyla pandemi servislerine yatan hastalar çalışmaya dahil edildi. RT-PCR ile tanısı konulan hastalardan akut ve iyileşme dönemlerinde (1. ve 15.-21. günler) hastanedeki çeşitli polikliniklere koronavirüs enfeksiyonu şüphesiyle gelen hastaların enfeksiyon hastalıkları dalına yönlendirilmesiyle kanları alındı.

2.2.1. Hastaların özellikleri

Farklı rahatsızlıkla hastaneye gelen hastaların enfeksiyon dalına yönlendirilmesiyle SARS-CoV-2 enfeksiyonu olduğu anlaşıldı. Dolayısıyla bu şekilde pozitifliği saptanan hastalar asemptomatik olarak kayda alındı. Doğrudan koronavirüs şüphesiyle hastaneye başvuran hastalar arasından ise klinik seyir bakımından hafif, orta, ağır ve hatta ölüme kadar uzanan durumları kayda geçildi (Gao vd., 2021).

Anti-RBD antikorlarının titreleri hastalığın klinik seyri (asemptomatik, hafif-orta, ağır pnömöni) ile ilişkilendirildi.

2.3. SARS-CoV-2 Saptama

SARS-CoV-2 ile varyantları, katalog numarası 09096500 olan, Diagnovital DIAGNO5plex NS SARS-CoV-2 Real-Time PCR Kit'i ile ölçüldü.

Saptama aşamasından önce reaksiyon karışımları (buz/ soğuk blok üzerinde) hazırlandı, cihazların kalibrasyonu kontrol edildi. Her çalışma seti için bir adet negatif ve bir adet pozitif kontrol için reaksiyon kuruldu. Protokole uygun olarak işlenen kiti kullanırken pipetaj önemli teknik aşamayı barındırıyordu. PCR ana karışımı üzerine numuneler eklendi ve PCR plate'i uygun yapışkan veya strip kapağı ile kapatıldıktan sonra santrifüj edildi. Ardından PCR plate'i, PCR cihazına yerleştirildikten sonra bazı yönergeler işlendi. Ters transkripsiyon, ilk denatürasyon ve amplikasyon olmak üzere üç adımda cihaz, işlemini yaptı.

Eşik değeri olarak da bilinen Threshold ayarı PCR sonuçlarını doğrudan etkileyen bir unsurdur. Bio-Rad CFX96 cihazı, threshold döngü sayısını (Cq/ Ct) hesaplamak ve ayarlamak için kullanıldı.

Protokole göre öncelikle kontroller değerlendirildikten sonra sonuçların yorumlanması aşamasına geçildi. Beş kanal (FAM, Cy5, ROX, Cy5.5 ve HEX

kanalları) vasıtasıyla sonuç veren sistemde reaksiyon tamamlandığında floresan okuma, alınan kanallardan elde edilen amplifikasyon eğrileri incelendi. Sigmoidal olmayan eğriler negatif değerlendirilirken, sigmoidal eğriler $Ct \leq 38$ ise sonuç pozitif olarak kaydedildi.

Kanallardan alınan eşik değerlerine göre protokolde de belirtildiği gibi mutasyon/ varyant tayini yapılarak yorumlandı ve sonuçlar değerlendirildi.

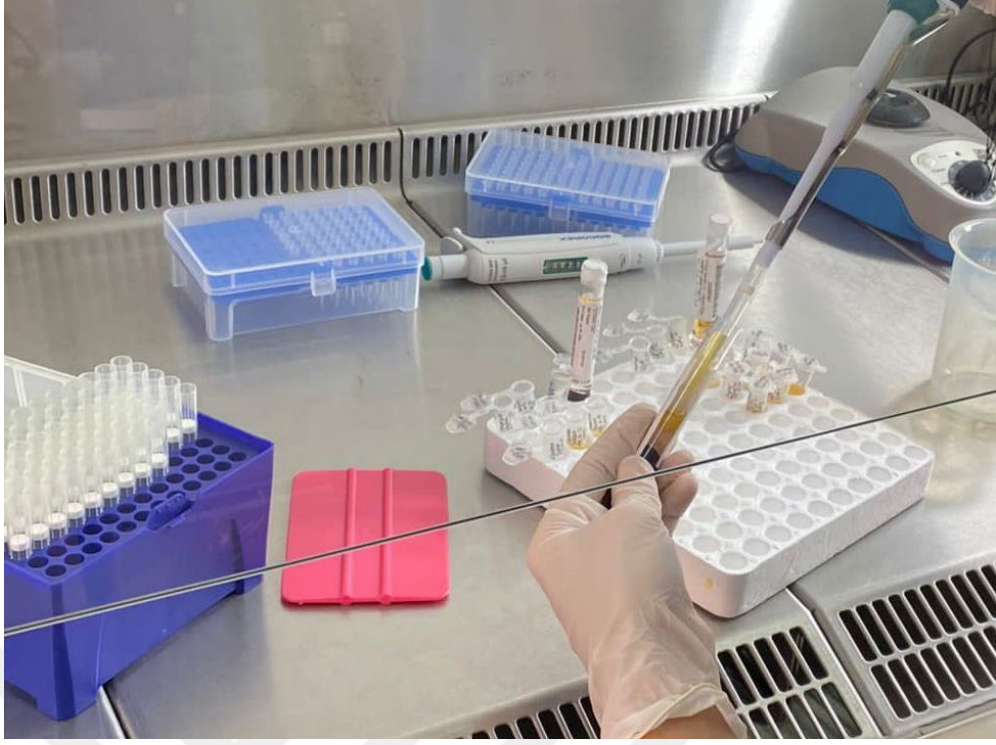
2.4. Örneklem Detayları

Bir hastadan farklı zaman aralıklarında alınan serumların alikotlama ve bozunmaya uğramayacak şekilde stoklanması için donduruldu. Hastane laboratuvarında işlenen protokollerden sonra serum örneklerine alikotlandı. Her bir numuneden Şekil 15'teki yaklaşık 0,1 Ml'lık alikotlar -80 °C'de dondurulmuştur.

2.4.1. Örneklerin Alınması ve Stoklanması

Örneklerin alınması, saklanması ve stoklanması aşamasında hastalardan gelen numunelerin beklemeden muhafaza edilmesi, yapılacak testlerin sonucunu etkileme olasılığı olduğundan önemlidir.

Çalışma planlanması aşamasında yaptırılan “power” analizine göre her klinik grubundan (asemptomatik, hafif, orta, şiddetli) en az 22'şer çift kan alınması gerektiği belirlendi.



Şekil 15. Numunelerin alikotlama işlemi.

Alikotlama yapılmadan önce serumun beklemeden stoğa gönderilmesi gerekir. Hastalardan alınan numuneler işleme öncesi buzdolabına konuldu. İşleme öncesi bekletilme süresi birkaç saat ile gece boyu arasında değişti. Numuneler mikrosantrifüj tüplerinde alikotlandı ve Şekil 16'daki gibi öncesinde etiketlenmiş 100'lü mikrosantrifüj tüpü saklama kutularına, tarihlerine göre istiflenerek -80 °C'de donduruldu. COVID-19 PCR sonucu ilk 14 günde olanlar 1. kan, birinciden ortalama 2-3 hafta sonra ikinci kan alınarak aynı işlem tekrarlandı.



Şekil 16. Numunelerin -80 °C’de dondurulma işlemi.

2.5. Antikor ve Anti RBD Antikorlarının Ölçümü

IgG ve IgM ile anti-RBD antikor ölçümü, bu tez kapsamında araştırma konusu olan SARS-CoV-2 patogenezi ile ilişkisindeki verileri sunmada anahtar rol oynamıştır.

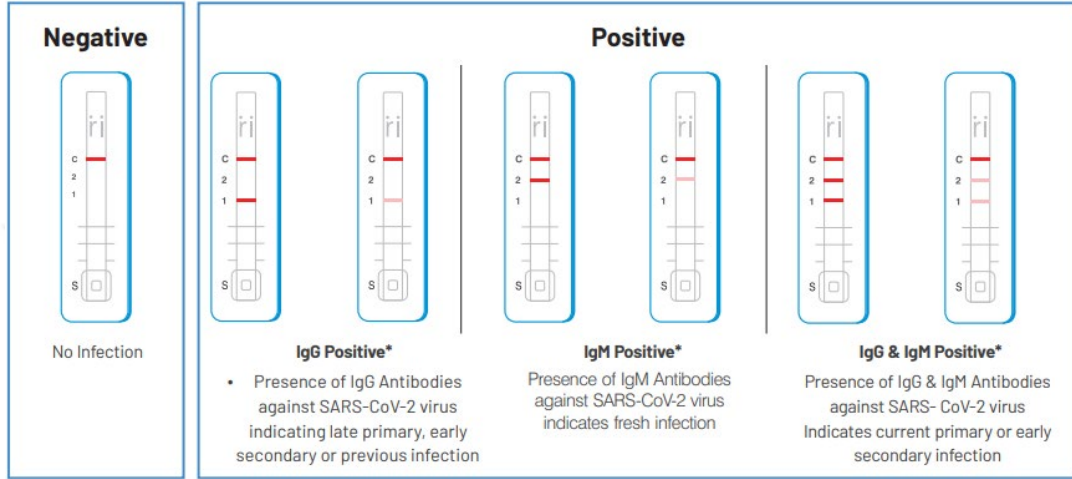
2.5.1. IgG-IgM Antikor Ölçümü

IgG ve IgM antikorlarının ölçümü, katalog numarası NCVRPD-02 olan ve paket boyutu 50 test olan Meril COVID-19 IgG/IgM Rapid Test ile yapıldı. Prensibi, kalitatif ve hızlı bir immünokromatografik olarak verildiği tanı testinde insan tam kanında veya serum/plazmasında SARS-CoV-2’ye ait IgG ve IgM antikorlarının yakalanmasına dayanır.

Yanal akış (Lateral Flow) teknolojisi metodunu uygular. Yüksek düzeyde saflaştırılmış antijenler kullanılarak 20 dakikada sonuç alınır. Bu testin hassasiyeti %97,20 iken özgünlüğü ise %99,22’dir.

Hızla sonuç alınan bu kitte üreticinin tarif ettiği şekilde yapıldı. Uygulama prosedürü kısaca; 10 µl serum/plazma/tam kan numune yerine koyuldu Sonra üzerine 3 damla numune seyreltici damlatıldı ve sonuç okuma için 20 dakika bekletildi.

Şekil 17’de gösterildiği gibi test sonuçlarının yorumlanması pozitif ve negatif sonuçlara göre değişti. Negatif sonuç, tek çizgi şeklinde test çubuğunda görüldü ve enfeksiyonun olmadığını gösterdi. Pozitif sonuçlar için IgG ve IgM’nin sonuç bölgesine göre karar verildi. Eğer her iki antikor için de pozitiflik geçerliyse 3 çizgi görülürken, yalnızca IgG ve IgM antikorlarından biri varsa sadece o antikora spesifik bölgede çizgi olması halinde totalde 2 çizgi görüldü.



Şekil 17. IgG ve IgM antikorları ölçümünde, Meril COVID-19 IgG/IgM Rapid Test sonuçlarının pozitif ve negatif değere göre okunması (*Hiçbir Kontrol satırı geçersiz sonuçları göstermediğinden testin tekrarlanmasında fayda vardır.).

2.5.2. Anti RBD Antikor Ölçümü

Tezimizde kullandığımız insan serumu ve plazmasında SARS-CoV-2 spike protein reseptör bağlama alanına (RBD) karşı antikorların in vitro kalitatif ve yarı kantitatif tespiti için 09289267119 katalog numaralı Elecsys Anti-SARS-CoV-2 S immünolojik test kiti kullanıldı. Elecsys Anti-SARS-CoV-2 S kiti, SARS-CoV-2’ye karşı yüksek affiniteli antikorların kantitatif olarak belirlenmesini destekleyen çift antijenli sandviç formatında S antijeninin RBD’sini temsil eden bir rekombinant protein kullanıldı.

Testin prensibine göre çift antijenli sandviç ELISA, sonuçların alınmasıyla birlikte dört aşamada gerçekleşti; Birinci inkübasyon aşamasında 20 µL numune kullanılarak SARS-CoV-2 S-RBD’ye özgü rekombinant antijen ve ile etiketlenmiş SARS-CoV-2 S-RBD’ye özgü rekombinant antijen rutenyum kompleksia) bir sandviç kompleksi oluşturdu. İkinci inkübasyonda streptavidin kaplı mikropartiküllerin

eklenmesinden sonra kompleks, biotin ve streptavidinin etkileşimi ile katı faza bağlandı. Reaksiyon karışımı, mikropartiküllerin elektrot yüzeyinde manyetik olarak yakalandığı ölçüm bölgesine aspire edildi. Bağlanmamış maddeler daha sonra ProCell/ProCell M. Elektroda voltaj uygulanması daha sonra bir fotoçoğaltıcı tarafından ölçülen kemilüminesan emisyonu indükledi. Sonuçlar, alete özel olarak 2 noktalı kalibrasyonla oluşturulan bir kalibrasyon eğrisi ve reaktif barkodu veya e-barkodu aracılığıyla sağlanan bir ana eğri aracılığıyla belirlendi. Toplam geçen süre 18 dakika sürdü.

Dikkat edilmesi gereken hususlar içerisinde; muhtemel buharlaşma etkileri nedeniyle numuneler, kalibratörler ve analizörlerdeki kontroller 2 saat içinde analiz edilmesi/ölçülmesi bulunmaktaydı. Aksi takdirde analizin sonuçlarında değişiklikler olabilmeydi.

2.6. Çalışma İstatistiği

Çalışmanın İstatistikleri IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0 (Armonk, NY: IBM Corp; 2013) programı ile yapıldı. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu analitik yöntemler (Kolmogorov-Smirnov/Shapiro-Wilk testleri) kullanılarak incelendi.

Tanımlayıcı analizler, normal dağılıma uyan veriler için ortalama, normal dağılıma uymayan veriler için ise ortanca kullanılarak verildi.

İstatistiksel değerlendirmede normal dağılıma uyan değişkenlerde bağımsız gruplar T testi ve bağımlı gruplar T testi; normal dağılıma uymayanlarda ise Mann-Whitney U ve Wilcoxon testleri kullanıldı.

Çapraz tablolarda gruplar arasında fark bulunup bulunmadığı, ki-kare, Continuity (Yates) ve Fisher's exact testleri kullanılarak karşılaştırılmıştır. P değerinin 0,05'in altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar şeklinde değerlendirildi.

3. SONUÇLAR

Bu tezde toplam 84 hastanın verileri dahil edildi ve değerlendirmeye alındı. Hastaların 41'i (%48,8) kadındı, yaş ortanca değeri 68 yıl (25 – 94 yıl aralığında) saptandı. Hastaların 18'i (%21,4) asemptomatik veya hafif enfeksiyon, 33'ü (%39,3) orta, 33'ü (%39,3) de ağır enfeksiyon kategorisindeydi. Hastaların 51'inin (%60,7) komorbiditesi mevcuttu (Tablo 1).

Asemptomatik ve hafif seyirli hasta gruplarının bazılarında anti RBD varken bazılarında saptanmadı. Klinikte yatan hastaların hemen hepsinde anti RBD antikor titreleri yükseldi. Mortal hastalarda veya yoğun bakıma düşüp tekrar iyileşen hastalarda anti RBD antikorlarının da titresini yükseldi.

Dolayısıyla patogenez de, virüse karşı anti RBD'ye karşı antikor üretmeyi tetikliyor ama oluşan antikorların düzeyi ile hastalanmanın şiddeti arasında önemli bir ilişki bulunamadı.

Viral enfeksiyonun patogenezi ile doğru orantılı olacak şekilde antikor üretimi tetikledi. Fakat bu antikorların patogenez ya da iyileşme üzerinde etkisi tartışmaya açık bir veri olarak tespit edildi.

Tablo 1. Çalışmadaki hastaların komorbiditeleri.

Komorbiditeler	Hasta Sayısı n(%)
Hipertansiyon	28 (33,3)
Diyabetes Mellitus	22 (26,2)
Kronik Böbrek Hastalığı	14 (16,7)
Kardiyovasküler Hastalık	33 (39,3)
İmmünsüpresyon	20 (23,8)
Tiroid Hastalığı	9 (10,7)
Serebrovasküler Olay	7 (8,3)
Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı	5 (6)
Demans	3 (3,6)
Diğer*	16 (19)
Komorbiditesi Yok	33 (39,3)

*Diğer hastalıklar; Epilepsi, ülseratif kolit, benign prostat hiperplazisi, obezite, gut, romatoid artrit, ankilozan spondilit, infektif endokardit, spondilodiskit, pankreatit, hidrocefali.

Çalışmadaki hastaların 21'i (%25) daha önce bir COVID-19 aşısı ile aşılanmamıştı, 13'ü (%15,5) aşı durumunu bilmiyordu ve öğrenilemedi, 50'si (%59,5) ise herhangi bir COVID-19 aşısı ile aşılanmıştı. Tam doz COVID-19 aşısı olan ise

sekiz hasta mevcuttu. Hastaların hastanede kalma ortanca değeri 17,5 gün (0 – 112 gün aralığında) idi, 14'ü (%16,7) 28 gün içinde eksitus olmuştu. Hastaların ilk ve ikinci kanlarında saptanan laboratuvar verileri Tablo 2’de gösterildi. İlk kanlarında hastaların 26’sında (%31) COVID-19 IgM pozitif saptanırken bu hastaların 4’ünde ikinci kanlarda IgM negatifleşmişti. IgM negatif saptanan 58 hastanın 35’inde (%60,3) ise ikinci kanlarda IgM pozitifleşmişti. İlk kanlarında COVID-19 IgG pozitif olarak saptanan 45 hasta (%53,6) vardı, negatif saptanan 39 hastanın 35’inde (%89,7) ikinci kanında IgG pozitifleşmişti.

Tablo 2. Hastaların laboratuvar değerleri (±SD)

Numune Parametreleri	İlk Numune Sonuçları	İkinci Numune Sonuçları
Beyaz Küre Sayısı (/μL)	7280 (1760-130710)	9310 (2510-35850)
Nötrofil Sayısı (/μL)	5345 (1150-20330)	6630 (730-27630)
Lenfosit Sayısı (/μL)	875 (0-21430)	1205 (30-31540)
Nötrofil/ Lenfosit Oranı	6 (0-38)	4.2 (0-435)
Trombosit/ Lenfosit Oranı	0,2 (0-1)	0,21 (0-4)
Monosit Sayısı (/μL)	375 (0-2610)	555 (80-3100)
Trombosit Sayısı (/μL)	216 (26-877)	226,5 (22-740)
MPV (Ortalama Platelet Volümü) (fL)	10,3 (± 1,2)	10.6 (± 1,3)
RDW-SD (fL)	46,2 (39,5-86,9)	48,6 (40,3-87)
RDW-CV (%)	14,1 (12,8-31,6)	14,9 (12,2-29,8)
Laktat Dehidrogenaz (U/L)	261 (104-2681)	244 (124-1942)
C-Reaktif Proteini (mg/L)	91,2 (3,3-310,8)	17 (0,65-301)
Ferritin	396,3 (16,2-3342,6)	333,5 (17,1-9271)
D-Dimer (μg/mL)	0,68 (0,22-11,4)	1,01 (0,24-34,61)
Laktat	1,3 (0,5-3,8)	1,3 (0,1-8,4)

COVID-19 IgM pozitif saptananlarda (p=0,016) negatiflere göre ve IgG pozitif saptananlarda (p<0,001) negatiflere göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha yüksek saptandı. Hastaların ilk ve ikinci numunelerindeki COVID-19 IgM ve IgG değerleri Tablo 3’te gösterildi.

Tablo 3. Hastaların COVID-19 IgM ve IgG değerleri

COVID-19 Antikorları	Değer	İlk Numune Sonucu	İkinci Numune Sonucu
COVID-19 IgM	Negatif	58 (69)	27 (32,1)
COVID-19 IgM	Pozitif	26 (31)	57 (67,9)
COVID-19 IgG	Negatif	39 (46,4)	4 (4,8)
COVID-19 IgG	Pozitif	45 (53,6)	80 (95,2)

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada hastaların klinik kategorileri ile anti RBD antikorları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki olup olmadığına diğer hematolojik parametreler ile birlikte bakıldı.

Anti spike antikorların varlığı ile hastalığa yakalanma, hastalıktan iyileşme ve ölme üzerine bariz bir etki görülmedi.

Benzer bir çalışmada entübasyona maruz kalan ağır hastaların RBD ve spike proteinini hedef alan IgG ve IgA antikor seviyesi en yüksek değere sahipken öte yandan IgG antikor seviyesi için anlamlı bir değişiklik saptanamamıştır. Yine ağır hastalarda nötralizasyon titrelerinin çok yükseldiği saptanmıştır. Hastaneye yatırılmayan COVID-19 hastalarında ise en düşük IgG ve IgA antikor seviyesi ve nötralizasyon titresi saptanmıştır. Ölümle sonuçlanmayan ve aynı zamanda immün sistemi zayıflamış veya baskılanmış hastalarda IgG dahil nötralizan antikor düzeylerinin ciddi oranda azaldığı bildirilmiştir (Garcia Beltran vd., 2021).

Başka bir çalışmada SARS-CoV-2 ile enfekte hastalarda, hastalık başlangıcından 2-3 haftaya kadar yüksek konsantrasyonda anti-RBD IgG ve IgM antikor seviyeleri saptanmıştır. Dolayısıyla bu üretilen antikorların iyileşme süreciyle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte IgM antikor titreleriyle viral yük arasında net bir ilişki bulunmamıştır (Wei vd., 2021).

Asemptomatik hastaların ön planda olduğu diğer bir çalışmada ise asemptomatik enfeksiyon sürecinden geçen antikor yanıtları, semptom gösteren bireylere göre enfeksiyon boyunca daha düşük seviyede olduğu tespit edilmiştir (Long vd., 2020). RBD proteinine karşı dominant IgG yanıtı gösteren asemptomatik hastalara nazaran semptomatik hastalarda bu durum tam tersi olarak sonuçlanmıştır. Buna ek olarak nötralize edici antikorların miktarı ile RBD antikorların miktarı arasında doğrusal orantı saptanmıştır. Yani RBD'nin varlığına bağlı olarak nötralize edici antikorların varlığı saptanabilir varlığına varılmıştır. Tabi kısıtlayıcı faktörler arasında RBD antikorunun çeşidi ön planda durmuştur (Liao vd., 2021).

Bir çalışmada klinik seyirler arasından yalnızca asemptomatik grupların IgA ve IgG'ye bakılmış, zamanla miktarlarda giderek bir azalma görülmüştür. Bu

çalışmada ise asemptomatik, hafif, orta, ağır seyirlerde anti-RBD IgG ve IgM antikorları değerlerine bakıldı (Carsetti vd., 2020).

Normal soğuk algınlığına yol açan insan koronavirüslerine karşı oluşan immün yanıtın ve koruyuculuğun 4-6 ay içinde önemli düşüş gösterdiği ortaya konulmuştur (Callow vd., 1990). SARS-CoV ve MERS-CoV koronaviral enfeksiyonlarında etkenlere karşı oluşan koruyucu immün yanıtın etkinliği ve süresinin uzunluğu patojenezin şiddetiyle orantılı olduğu bulunmuştur (Tang vd., 2011). SARS-CoV-2 etkenine karşı oluşan antikor yanıtının da süre olarak kısa olduğu bildirilmiştir (Post vd., 2020; Sariol vd., 2020).

SARS-CoV-2'ye karşı oluşan antikor yanıtın etkinliğini ve süresini ortaya koyan bilimsel çalışmalar var olmakla beraber örnekleme zamanlamaları önemli farklılıklar göstermektedir. Ayrıca çalışmaların bir kısmında anti-viral antikorların patogenezi arttırdığı gösterilmiştir (Lu vd., 2020; Zhao vd., 2020).

Hastaları SARS-CoV-2 ile enfekte olan ve olmayan iki grup şeklinde incelemeye alan bir çalışmada aşılamaa bağlı olarak SARS-CoV-2'nin nükleokapsit proteinine karşı IgG antikorlarını incelemeye aldı. SARS-CoV-2 ile enfekte olan birinci grupta altı hastadan dördünde semptom başlangıcından 2, 4, 5 ve 7 ay sonra antikor testi ile takip edilmiş ve anti-SARS-CoV-2 spike RBD IgG titreleri giderek azalan bağışık yanıtı görülmüştür (Gobbi vd., 2021).

Lenfoma komorbiditesi olan 243 erişkin hastalarla yapılan çalışmada, genel pandemideki mortalite oranının %30-40 olduğu ve COVID-19 enfeksiyonundan kötü sonuçlar alındığı için immünolojik yanıtı incelenmiştir (Della vd., 2022). Mortalite oranı, komorbiditesi olan hastalarda daha da arttığı anlaşılmaktadır.

Yoğun bakım gereksinimi duyan hastalar hariç, COVID-19'a karşı oluşan hücresel ve sıvısal immün yanıtın virüsü ortadan kaldırdığı ve dolayısıyla patojenezi sınırlandırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur (Ni vd.,2020; Rodda vd., 2020). Ancak yukarıda da bahsedildiği gibi bu anti-viral yanıtın patojenez ile doğru orantılı olduğunu gösteren çalışmalar da vardır. COVID-19 hastalarında antikorların seviyelerinde ve kronolojik görünümünde bireyler arası önemli bir fark var, ancak medyan serokonversiyon yaklaşık iki haftada gözlemlendi.

Klasik antikor yanıtı gösteren hastalarda anti spike IgG tahmini pik seviyelerinde 42 ila 1390 ng/ml'a varan önemli farklılıklar görülmüştür. Seronegatif olan hastalar ve ilk enfeksiyon zamanının belirsiz olduğu hastalar, çalışmanın bu

aşamasında dahil edilmemişlerdir. Ancak serokonversiyon dahil edildiğinde, bildirilen semptomların IgG seviyeleri veya yarı ömür etkisine dair bir veri bulunamamıştır (Wei vd., 2021).

Bağışıklama yapılmayan COVID-19 enfeksiyonlarında tespit edilemeyen antikor yanıtları olmasına rağmen bağışıklama sonrasında hafıza yanıtı ile tutarlı ve güçlü bir antikor yanıtı da bildirilmiştir (Uprichard vd., 2022).

Hastaneden taburcu olduktan sonraki on ikinci ayda çalışmaya dahil edilen hastaların %91.2'sinde saptanabilir IgG antikor bulundu ve titrelerinde kademeli azalma görüldü. Bu azalmanın yaşla önemsiz pozitif ilişki ortaya konuldu. Ayrıca lojistik regresyon, S-IgG için serokonversiyonun pik N-IgG ile ters ilişkili olduğunu da (OR 0,19; %95 CI, 0,04-0,45; $p = 0,004$) gösterdi. Yüksek antikor titrelerinin ve hastalık şiddetinin saptanabilir antikorların dayanaklılığının var olmasıyla ilgili ilişki ortaya konmuştur (Masia vd., 2021).

Ağır seyirli hastalarda anti-spike ve anti-RBD antikorlarının titreleri yüksek olsa bile nötralizan etkinliklerinin asemptomatik ya da hafif-orta enfeksiyonlulara göre çok daha düşük olduğu bildirilmiştir (Garcia-Beltran vd., 2021). Bu sonuca göre anti-spike ve anti-RBD antikorlarının nötralizan ve non-nötralizan olabileceğini göstermektedir. Birbirleriyle bağlantılı olarak; Hastanın klinik durumu, antikor yanıtının çeşidini veya antikor yanıtının çeşidi, hastanın klinik durumunu vermektedir. Hiperinflamasyon ve/ya kontrolsüz viral çoğalma, hastalık seviyesinin biyobelirteci olan aşırı antikor üretimini tetikleyebilir/ indükleyebilir: Anti-spike ve anti-RBD antikorları en yüksek olan en ağır hastalarda inflamasyon belirteçleri ile proinflamatuvar sitokinler de bir çalışmada en yüksek titrede bulunmuştur (Garcia-Beltran vd., 2021).

Mevcut tez çalışmasında yatırılan hastalarda anti-RBD antikor titresi yükseldi. Bu antikorların virüsün in-vivo nötralizan etkileri konusunda ancak kısmen etkili olduklarına işaret olabilir. Bunun daha iyi ölçümü in-vitro virüs nötralizasyon testlerinin yapılmasını veya bu antikorların RBD bölgesinin ACE-2'ye bağlanmasının engellenmesinin belirlenmesini gerektirir.

Araştırmalara ve verilere göre tüm hasta grupları için geçerli olmadığı kanısına varıldı ve antikor ile ilişkili viral girişin patojenezinin araştırılması önerilebilir.

KAYNAKÇA

- Abdul-Rasool, S., & Fielding, B. C. (2010). Understanding human coronavirus HCoV-NL63. *The open virology journal*, 4, 76.
- Aleem, A., AB, A. S., & Slenker, A. K. (2021). Emerging variants of SARS-CoV-2 and novel therapeutics against coronavirus (COVID-19).
- Ali, Z., Sánchez, E., Tehseen, M., Mahas, A., Marsic, T., Aman, R., ... & Mahfouz, M. (2021). Bio-SCAN: A CRISPR/dCas9-based lateral flow assay for rapid, specific, and sensitive detection of SARS-CoV-2. *ACS Synthetic Biology*, 11(1), 406-419.
- Alkhatib, M., Svicher, V., Salpini, R., Ambrosio, F. A., Bellocchi, M. C., Carioti, L., ... & Ceccherini-Silberstein, F. (2021). SARS-CoV-2 variants and their relevant mutational profiles: update summer 2021. *Microbiology spectrum*, 9(3), e01096-21.
- Alpdagtas, S., Ilhan, E., Uysal, E., Sengor, M., Ustundag, C. B., & Gunduz, O. (2020). Evaluation of current diagnostic methods for COVID-19. *APL bioengineering*, 4(4), 041506.
- Anaeigoudari, A., Mollaei, H. R., Arababadi, M. K., & Nosratabadi, R. (2021). Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2: the role of the main components of the innate immune system. *Inflammation*, 1-19.
- Arish, M., Qian, W., Narasimhan, H., & Sun, J. (2023). COVID-19 immunopathology: From acute diseases to chronic sequelae. *Journal of medical virology*, 95(1), e28122.
- Assiri, A. (2013). Hospital Outbreak of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (vol 369, pg 407, 2013). *New England Journal of Medicine*, 369(9), 886-886.
- Attia, Y. A., El-Saadony, M. T., Swelum, A. A., Qattan, S. Y., Al-Qurashi, A. D., Asiry, K. A., ... & Abd El-Hack, M. E. (2021). COVID-19: pathogenesis, advances in treatment and vaccine development and environmental impact—an updated review. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 22241-22264.
- Aygün, M., & Mehmet, U. (2020). COVID-19 pandemisinin buz hokeyi sporuna etkisi. *Anatolian Clinic the Journal of Medical Sciences*, 25(Special Issue on COVID 19), 195-203.
- Bai, Y., Yao, L., Wei, T., Tian, F., Jin, D. Y., Chen, L., & Wang, M. (2020). Presumed asymptomatic carrier transmission of COVID-19. *Jama*, 323(14), 1406-1407. doi: 10.1001/jama.2020.2565
- Bandyopadhyay, A. S., Garon, J., Seib, K., & Orenstein, W. A. (2015). Polio vaccination: past, present and future. *Future microbiology*, 10(5), 791-808.

- Bao, L., Park, J., Shim, S., Yoneda, M., Kai, C., & Kim, B. (2021, November). A rapid COVID-19 diagnostic device integrating porous microneedles and the paper-based immunoassay biosensor. In *2021 IEEE CPMT Symposium Japan (ICSJ)* (pp. 164-167). IEEE.
- Bassetti, M., Vena, A., & Giacobbe, D. R. (2020). The novel Chinese coronavirus (2019-nCoV) infections: Challenges for fighting the storm. *European journal of clinical investigation*, 50(3), e13209.
- Basu, D., Chavda, V. P., & Mehta, A. A. (2022). Therapeutics for COVID-19 and post COVID-19 complications: An update. *Current Research in Pharmacology and Drug Discovery*, 100086.
- Bates, T. A., McBride, S. K., Leier, H. C., Guzman, G., Lyski, Z. L., Schoen, D., ... & Tafesse, F. G. (2022). Vaccination before or after SARS-CoV-2 infection leads to robust humoral response and antibodies that effectively neutralize variants. *Science immunology*, 7(68), eabn8014.
- Beaucourt, S., & Vignuzzi, M. (2014). Ribavirin: a drug active against many viruses with multiple effects on virus replication and propagation. Molecular basis of ribavirin resistance. *Current opinion in virology*, 8, 10-15.
- Bell, T. J., Brand, O. J., Morgan, D. J., Salek-Ardakani, S., Jagger, C., Fujimori, T., ... & Hussell, T. (2019). Defective lung function following influenza virus is due to prolonged, reversible hyaluronan synthesis. *Matrix Biology*, 80, 14-28.
- Bourassa, L., Perchetti, G. A., Phung, Q., Lin, M. J., Mills, M. G., Roychoudhury, P., ... & Greninger, A. L. (2021). A SARS-CoV-2 nucleocapsid variant that affects antigen test performance. *Journal of Clinical Virology*, 141, 104900.
- Bradburne, A. F., Bynoe, M. L., & Tyrrell, D. A. (1967). Effects of a "new" human respiratory virus in volunteers. *British medical journal*, 3(5568), 767.
- Brant, A. C., Tian, W., Majerciak, V., Yang, W., & Zheng, Z. M. (2021). SARS-CoV-2: from its discovery to genome structure, transcription, and replication. *Cell & bioscience*, 11(1), 1-17.
- Burgold-Voigt, S., Müller, E., Zopf, D., Monecke, S., Braun, S. D., Frankenfeld, K., ... & Ehricht, R. (2022). Development of a new antigen-based microarray platform for screening and detection of human IgG antibodies against SARS-CoV-2. *Scientific Reports*, 12(1), 8067.
- Callow, K. A., Parry, H. F., Sergeant, M., & Tyrrell, D. A. J. (1990). The time course of the immune response to experimental coronavirus infection of man. *Epidemiology & Infection*, 105(2), 435-446.
- Carsetti, R., Zaffina, S., Piano Mortari, E., Terreri, S., Corrente, F., Capponi, C., ... & Concato, C. (2020). Onetti Muda A, Raponi M, Quintarelli C, Quinti I, Locatelli F. *Different innate and adaptive immune responses to SARS-CoV-2 infection of asymptomatic, mild, and severe cases. Front Immunol*, 11, 610300.

- Cevik, M., Bamford, C. G. G., & Ho, A. (2020). COVID-19 pandemic—a focused review for clinicians. *Clinical Microbiology and Infection*, 26(7), 842-847.
- Cevik, M., Kuppalli, K., Kindrachuk, J., & Peiris, M. (2020). Virology, transmission, and pathogenesis of SARS-CoV-2. *bmj*, 371.
- Chan, J. F., Lau, S. K., To, K. K., Cheng, V. C., Woo, P. C., & Yuen, K. Y. (2015). Middle East respiratory syndrome coronavirus: another zoonotic betacoronavirus causing SARS-like disease. *Clinical microbiology reviews*, 28(2), 465-522.
- Channappanavar, R., Fehr, A. R., Vijay, R., Mack, M., Zhao, J., Meyerholz, D. K., & Perlman, S. (2016). Dysregulated type I interferon and inflammatory monocyte-macrophage responses cause lethal pneumonia in SARS-CoV-infected mice. *Cell host & microbe*, 19(2), 181-193.
- Chavda, V. P., Patel, A. B., & Vaghasiya, D. D. (2022). SARS-CoV-2 variants and vulnerability at the global level. *Journal of medical virology*, 94(7), 2986-3005.
- Chen, Q., Li, J., Deng, Z., Xiong, W., Wang, Q., & Hu, Y. Q. (2010). Comprehensive detection and identification of seven animal coronaviruses and human respiratory coronavirus 229E with a microarray hybridization assay. *Intervirology*, 53(2), 95-104.
- Chen, T., Wu, D. I., Chen, H., Yan, W., Yang, D., Chen, G., ... & Ning, Q. (2020). Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: retrospective study. *bmj*, 368.
- Chen, Y., Zuiani, A., Fischinger, S., Mullur, J., Atyeo, C., Travers, M., ... & Wesemann, D. R. (2020). Quick COVID-19 healers sustain anti-SARS-CoV-2 antibody production. *Cell*, 183(6), 1496-1507.
- Dandekar, A. A., & Perlman, S. (2005). Immunopathogenesis of coronavirus infections: implications for SARS. *Nature reviews immunology*, 5(12), 917-927.
- Darazam, I. A., Shokouhi, S., Mardani, M., Pourhoseingholi, M. A., Rabiei, M. M., Hatami, F., ... & Torabinavid, P. (2021). Umifenovir in hospitalized moderate to severe COVID-19 patients: A randomized clinical trial. *International Immunopharmacology*, 99, 107969.
- Davidson, S., Maini, M. K., & Wack, A. (2015). Disease-promoting effects of type I interferons in viral, bacterial, and coinfections. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 35(4), 252-264.
- Dejnirattisai, W., Zhou, D., Supasa, P., Liu, C., Mentzer, A. J., Ginn, H. M., ... & Screaton, G. R. (2021). Antibody evasion by the P. 1 strain of SARS-CoV-2. *Cell*, 184(11), 2939-2954.

- Delandre, O., Gendrot, M., Jardot, P., Le Bideau, M., Boxberger, M., Boschi, C., ... & Pradines, B. (2022). Antiviral activity of repurposing ivermectin against a panel of 30 clinical SARS-CoV-2 strains belonging to 14 variants. *Pharmaceuticals*, 15(4), 445.
- Della Pia, A., Kim, G. Y., Ip, A., Ahn, J., Liu, Y., Kats, S., ... & Feldman, T. A. (2022). Anti-spike antibody response to the COVID vaccine in lymphoma patients. *Plos one*, 17(12), e0266584.
- Dhama, K., Karthik, K., Chakraborty, S., Tiwari, R., Kapoor, S., Kumar, A., & Thomas, P. (2014). Loop-mediated isothermal amplification of DNA (LAMP): a new diagnostic tool lights the world of diagnosis of animal and human pathogens: a review. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS*, 17(2), 151-166.
- Dhawan, M., Parmar, M., Angural, S., & Choudhary, O. P. (2022). Convalescent plasma therapy against the emerging SARS-CoV-2 variants: delineation of the potentialities and risks. *International Journal of Surgery*, 97, 106204.
- Di Domenico, M., De Rosa, A., & Boccellino, M. (2021). Detection of SARS-COV-2 proteins using an ELISA test. *Diagnostics*, 11(4), 698.
- Drain, P. K. (2022). Rapid diagnostic testing for SARS-CoV-2. *New England journal of medicine*, 386(3), 264-272.
- Elesdoudy, A. (2021). Sotrovimab: is it effective in early treatment of mild and moderate COVID-19 infections? A retrospective study. *The Egyptian Journal of Bronchology*, 15, 1-6.
- Erensoy, S. (2020). COVID-19 pandemisinde SARS-CoV-2 ve mikrobiyolojik tanı dinamikleri. *Mikrobiyol Bul*, 54(3), 497-509.
- Erez, Z., Steinberger-Levy, I., & Shamir, M. Doron S1, Stokar-Avihail A, Peleg Y, Melamed S, Leavitt A, Savidor A, Albeck S, Amitai G y Sorek R (2017) Communication between viruses guides lysis-lysogeny decisions. *Nature*, 541, 488-493.
- Eyre, D. W., Taylor, D., Purver, M., Chapman, D., Fowler, T., Pouwels, K. B., ... & Peto, T. E. (2021). The impact of SARS-CoV-2 vaccination on Alpha & Delta variant transmission. *MedRxiv*, 2021-09.
- Falzone, L., Gattuso, G., Tsatsakis, A., Spandidos, D. A., & Libra, M. (2021). Current and innovative methods for the diagnosis of COVID-19 infection. *International journal of molecular medicine*, 47(6), 1-23.
- Fehr, A. R., Perlman, S., Maier, H. J., Bickerton, E., & Britton, P. (2015). An overview of their replication and pathogenesis; section 2 genomic organization. *Methods in Molecular Biology*, 1282, 1-23.

- Filchakova, O., Dossym, D., Ilyas, A., Kuanysheva, T., Abdizhamil, A., & Bukasov, R. (2022). Review of COVID-19 testing and diagnostic methods. *Talanta*, 123409.
- Fine, P. E. (1993). Herd immunity: history, theory, practice. *Epidemiologic reviews*, 15(2), 265-302.
- Focosi, D., McConnell, S., Casadevall, A., Cappello, E., Valdiserra, G., & Tuccori, M. (2022). Monoclonal antibody therapies against SARS-CoV-2. *The Lancet Infectious Diseases*.
- Gao, Y. D., Ding, M., Dong, X., Zhang, J. J., Kursat Azkur, A., Azkur, D., ... & Akdis, C. A. (2021). Risk factors for severe and critically ill COVID-19 patients: a review. *Allergy*, 76(2), 428-455.
- Gao, Z., Xu, Y., Sun, C., Wang, X., Guo, Y., Qiu, S., & Ma, K. (2021). A systematic review of asymptomatic infections with COVID-19. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 54(1), 12-16.
- Garcia-Beltran, W. F., Lam, E. C., Astudillo, M. G., Yang, D., Miller, T. E., Feldman, J., ... & Balazs, A. B. (2021). COVID-19-neutralizing antibodies predict disease severity and survival. *Cell*, 184(2), 476-488.
- Gitman, M. R., Shaban, M. V., Paniz-Mondolfi, A. E., & Sordillo, E. M. (2021). Laboratory diagnosis of SARS-CoV-2 pneumonia. *Diagnostics*, 11(7), 1270.
- Gobbi, F., Buonfrate, D., Moro, L., Rodari, P., Piubelli, C., Caldrier, S., ... & Barzon, L. (2021). Antibody response to the BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine in subjects with prior SARS-CoV-2 infection. *Viruses*, 13(3), 422.
- Goldman-Israelow, B. Coronavirus replication cycle (template). BioRender. com; 2020 [cited 2020 11/01/2020]. <https://app.biorender.com/biorender-templates/figures/5e99f5395fd61e0028682c01/t-5e56d97d1b689000850f8f93-coronavirus-replication-cycle>.
- Gu, J., & Korteweg, C. (2007). Pathology and pathogenesis of severe acute respiratory syndrome. *The American journal of pathology*, 170(4), 1136-1147.
- Guan, W. J., Ni, Z. Y., Hu, Y., Liang, W. H., Ou, C. Q., He, J. X., ... & Zhong, N. S. (2020). Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *New England journal of medicine*, 382(18), 1708-1720.
- Gusev, E. Y., & Zotova, N. V. (2019). Cellular stress and general pathological processes. *Current Pharmaceutical Design*, 25(3), 251-297.
- Gusev, E., Sarapultsev, A., Solomatina, L., & Chereshev, V. (2022). SARS-CoV-2-Specific immune response and the pathogenesis of COVID-19. *International journal of molecular sciences*, 23(3), 1716.
- Gültekin, H. E., Ayvaz, B., Elitaş, S. V. K. M., & Ergenç, A. F. LAMP (İzotermal Döngü Aracılı Amplifikasyon) Yöntemi ile Patojen Tespit Sistemi Pathogen

Detection System with LAMP (Loop Mediated Isothermal Amplification) Method.

- Hadj Hassine, I. (2022). Covid-19 vaccines and variants of concern: A review. *Reviews in medical virology*, 32(4), e2313.
- Hamre, D., & Procknow, J. J. (1966). A new virus isolated from the human respiratory tract. *Proceedings of the society for experimental biology and medicine*, 121(1), 190-193.
- Hanson, K. E., Altayar, O., & Caliendo, A. M. (2021). IDSA guidelines on the diagnosis of COVID-19: antigen testing. *Arlington, VA: Infectious Diseases Society of America*.
- Hartenian, E., Nandakumar, D., Lari, A., Ly, M., Tucker, J. M., & Glaunsinger, B. A. (2020). The molecular virology of coronaviruses. *Journal of Biological Chemistry*, 295(37), 12910-12934.
- Harun-Ur-Rashid, M., Foyez, T., Jahan, I., Pal, K., & Imran, A. B. (2022). Rapid diagnosis of COVID-19 via nano-biosensor-implemented biomedical utilization: a systematic review. *RSC advances*, 12(15), 9445-9465.
- Hassine, I. H., Gharbi, J., Hamrita, B., Almalki, M. A., Rodríguez, J. F., & Ben M'hadheb, M. (2020). Characterization of Coxsackievirus B4 virus-like particles VLP produced by the recombinant baculovirus-insect cell system expressing the major capsid protein. *Molecular Biology Reports*, 47, 2835-2843.
- Hendley, J. O., Fishburne, H. B., & Gwaltney Jr, J. M. (1972). Coronavirus infections in working adults: eight-year study with 229 E and OC 43. *American Review of Respiratory Disease*, 105(5), 805-811.
- Hoffmann, M., Hofmann-Winkler, H., Smith, J. C., Krüger, N., Arora, P., Sørensen, L. K., ... & Pöhlmann, S. (2021). Camostat mesylate inhibits SARS-CoV-2 activation by TMPRSS2-related proteases and its metabolite GBPA exerts antiviral activity. *EBioMedicine*, 65, 103255.
- Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., Krüger, N., Herrler, T., Erichsen, S., ... & Pöhlmann, S. (2020). SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *cell*, 181(2), 271-280.
- Hon, K. L. E., Leung, C. W., Cheng, W. T. F., Chan, P. K. S., Chu, W. C. W., Kwan, Y. W., ... & Fok, T. F. (2003). Clinical presentations and outcome of severe acute respiratory syndrome in children. *The Lancet*, 361(9370), 1701-1703.
- Horby, P. W., Mafham, M., Bell, J. L., Linsell, L., Staplin, N., Emberson, J., ... & Landray, M. J. (2020). Lopinavir–ritonavir in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): a randomised, controlled, open-label, platform trial. *The Lancet*, 396(10259), 1345-1352.

- Huang, A. S., Hsieh, O. A. L., & Chang, S. S. (1982). Characterization of the nonvolatile minor constituents responsible for the objectionable taste of defatted soybean flour. *Journal of Food Science*, 47(1), 19-23.
- Hwang, Y. C., Lu, R. M., Su, S. C., Chiang, P. Y., Ko, S. H., Ke, F. Y., ... & Wu, H. C. (2022). Monoclonal antibodies for COVID-19 therapy and SARS-CoV-2 detection. *Journal of Biomedical Science*, 29(1), 1-50.
- İnal, A. S., Duman, Z. G., & Kurtaran, B. (2020). SARS-CoV-2 Mikrobiyoloji ve Patogenez. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 29(Özel Sayı), 11-23.
- Jan, B. B., van der Zee Ruurd, D. H., & Cornelis, A. M. (2003). Rottier Peter JM The coronavirus spike protein is a class I virus fusion protein: structural and functional characterization of the fusion core complex. *J. Virol*, 77(16), 8801-8811.
- Jansen, R., Embden, J. D. V., Gaastra, W., & Schouls, L. M. (2002). Identification of genes that are associated with DNA repeats in prokaryotes. *Molecular microbiology*, 43(6), 1565-1575.
- Jayamohan, H., Lambert, C. J., Sant, H. J., Jafek, A., Patel, D., Feng, H., ... & Gale, B. K. (2021). SARS-CoV-2 pandemic: a review of molecular diagnostic tools including sample collection and commercial response with associated advantages and limitations. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 413, 49-71.
- Jombart, T., Jarvis, C. I., Mesfin, S., Tabal, N., Mossoko, M., Mpia, L. M., ... & Fall, I. S. (2020). The cost of insecurity: from flare-up to control of a major Ebola virus disease hotspot during the outbreak in the Democratic Republic of the Congo, 2019. *Eurosurveillance*, 25(2), 1900735.
- Joy, A. P., Augustine, A. T., Karattuthodi, M. S., Parambil, J. C., Chandrasekher, D., Danisha, P., ... & Cholanugath, S. (2022). The impact of casirivimab-imdevimab antibody cocktail in patients amidst and post COVID 19 treatment: A retro-prospective comparative study in India. *Clinical Epidemiology and Global Health*, 14, 100967.
- Ju, B., Zhang, Q., Ge, J., Wang, R., Sun, J., Ge, X., ... & Zhang, L. (2020). Human neutralizing antibodies elicited by SARS-CoV-2 infection. *Nature*, 584(7819), 115-119.
- Kabinger, F. (2021). Mecanismo de mutagênese de SARS-CoV-2 induzida por molnupiravir. *Struct Mol Biol*, 28(9), 740-746.
- Kanne, J. P., Bai, H., Bernheim, A., Chung, M., Haramati, L. B., Kallmes, D. F., ... & Sverzellati, N. (2021). COVID-19 imaging: what we know now and what remains unknown. *Radiology*, 299(3), E262-E279.
- Kashir, J., & Yaqinuddin, A. (2020). Loop mediated isothermal amplification (LAMP) assays as a rapid diagnostic for COVID-19. *Medical hypotheses*, 141, 109786.

- Keshavarz, M., Mirzaei, H., Salemi, M., Momeni, F., Mousavi, M. J., Sadeghalvad, M., ... & Rezaei, F. (2019). Influenza vaccine: Where are we and where do we go?. *Reviews in medical virology*, 29(1), e2014.
- Kikkert, M. (2020). Innate immune evasion by human respiratory RNA viruses. *Journal of innate immunity*, 12(1), 4-20.
- Kim, J., Yang, Y. L., Jeong, Y., & Jang, Y. S. (2020). Conjugation of human β -defensin 2 to spike protein receptor-binding domain induces antigen-specific protective immunity against middle east respiratory syndrome coronavirus infection in human dipeptidyl peptidase 4 transgenic mice. *Vaccines*, 8(4), 635.
- Koelle, K., Martin, M. A., Antia, R., Lopman, B., & Dean, N. E. (2022). The changing epidemiology of SARS-CoV-2. *Science*, 375(6585), 1116-1121.
- Kokic, G., Hillen, H. S., Tegunov, D., Dienemann, C., Seitz, F., Schmitzova, J., ... & Cramer, P. (2021). Mechanism of SARS-CoV-2 polymerase stalling by remdesivir. *Nature communications*, 12(1), 279.
- Lai, C. C., Hsu, C. K., Yen, M. Y., Lee, P. I., Ko, W. C., & Hsueh, P. R. (2022). Long COVID: An inevitable sequela of SARS-CoV-2 infection. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*.
- Lauring, A. S., & Malani, P. N. (2021). Variants of SARS-CoV-2. *JAMA*, 326(9), 880-880.
- Lee, S., Kim, T., Lee, E., Lee, C., Kim, H., Rhee, H., ... & Kim, T. H. (2020). Clinical course and molecular viral shedding among asymptomatic and symptomatic patients with SARS-CoV-2 infection in a community treatment center in the Republic of Korea. *JAMA internal medicine*, 180(11), 1447-1452.
- Levin, M. J., Ustianowski, A., De Wit, S., Launay, O., Avila, M., Templeton, A., ... & Esser, M. T. (2022). Intramuscular AZD7442 (tixagevimab–cilgavimab) for prevention of COVID-19. *New England Journal of Medicine*, 386(23), 2188-2200.
- Li, F., & Du, L. (2019). MERS coronavirus: an emerging zoonotic virus. *Viruses*, 11(7), 663.
- Li, F., Li, W., Farzan, M., & Harrison, S. C. (2005). Structure of SARS coronavirus spike receptor-binding domain complexed with receptor. *Science*, 309(5742), 1864-1868.
- Li, W., Moore, M., Vasilieva, N. *et al.* Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature* 426, 450–454 (2003).
- Liao, B., Chen, Z., Zheng, P., Li, L., Zhuo, J., Li, F., ... & Tang, X. (2021). Detection of anti-SARS-CoV-2-S2 IgG is more sensitive than anti-RBD IgG in identifying asymptomatic COVID-19 patients. *Frontiers in Immunology*, 12, 724763.

- Liu, M. A. (2019). Vaccines (Basel). *A comparison of plasmid DNA and mRNA as vaccine technologies.*, 7(2), 37.
- Liu, Y., Zhou, X., Liu, X., & Jiang, X. (2021). The immunology and immunotherapy for COVID-19. *Expert reviews in molecular medicine*, 23, e24.
- Long, Q. (2020). X, Tang X-J, Shi Q-L, Li Q, Deng H-J, Yuan J, Hu J-L, Xu W, Zhang Y, Lv F-J, et al. *Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. Nat Med*, 26, 1200-1204.
- Lu, L., Zhang, H., Zhan, M., Jiang, J., Yin, H., Dauphars, D. J., ... & He, Y. W. (2020). Antibody response and therapy in COVID-19 patients: what can be learned for vaccine development?. *Science China Life Sciences*, 63, 1833-1849.
- Machitani, M., Yasukawa, M., Nakashima, J., Furuichi, Y., & Masutomi, K. (2020). RNA-dependent RNA polymerase, RdRP, a promising therapeutic target for cancer and potentially COVID-19. *Cancer Science*, 111(11), 3976-3984.
- Madigan, Michael T vd. *Mikroorganizmaların Biyolojisi*. çev. Cumhur Çökmüş. Ankara: Palme Yayıncılık, 2017
- Makarova, K. S., Wolf, Y. I., Alkhnbashi, O. S., Costa, F., Shah, S. A., Saunders, S. J., ... & Koonin, E. V. (2015). An updated evolutionary classification of CRISPR–Cas systems. *Nature Reviews Microbiology*, 13(11), 722-736.
- Masiá, M., Fernández-González, M., Telenti, G., Agulló, V., García, J. A., Padilla, S., ... & Gutiérrez, F. (2021). Durable antibody response one year after hospitalization for COVID-19: A longitudinal cohort study. *Journal of autoimmunity*, 123, 102703.
- McIntosh, K., Dees, J. H., Becker, W. B., Kapikian, A. Z., & Chanock, R. M. (1967). Recovery in tracheal organ cultures of novel viruses from patients with respiratory disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 57(4), 933-940.
- Menichetti, F., Falcone, M., & Tiseo, G. (2022). Management of COVID patients with convalescent plasma: Do we have the final word?. *European Journal of Internal Medicine*, 95, 13-16.
- Merhi, G., Koweyes, J., Salloum, T., Khoury, C. A., Haidar, S., & Tokajian, S. (2022). SARS-CoV-2 genomic epidemiology: data and sequencing infrastructure. *Future Microbiology*, 17(13), 1001-1007.
- Milligan, I., Gibani, M., Sewell, R., Clutterbuck, E., Campbell, D., Plested, E., ... & Snape, M. (2016). Immunogenicity and reactogenicity of novel adenovirus type 26 and modified vaccinia Ankara-vectored Ebola vaccines: A randomized clinical trial. *Journal of the American Medical Association*, 315(15).
- Mistry, P., Barmania, F., Mellet, J., Peta, K., Strydom, A., Viljoen, I. M., ... & Pepper, M. S. (2022). SARS-CoV-2 variants, vaccines, and host immunity. *Frontiers in immunology*, 12, 5400.

- Mohseni, M., Raissi, V., Sharifan, Y., Barikro, K., Amiri, S., Mohseni, M. S., ... & Raiesi, O. (2022). Therapeutic status of famotidine in COVID-19 patients: a review. *Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders)*, 22(3), 4-11.
- Monto, A. S. (1974). Medical reviews. Coronaviruses. *The Yale journal of biology and medicine*, 47(4), 234.
- Moore, L. K., Trites, T., Brosnahan, S., Carrier, M., Collen, J. F., Doerschug, K., ... & Wells, P. (2020). Prevention, diagnosis, and treatment of VTE in patients with coronavirus disease 2019: CHEST guideline and expert panel report. *Chest*, 158(3), 1143-1163.
- Moreau, G. B., Burgess, S. L., Sturek, J. M., Donlan, A. N., Petri Jr, W. A., & Mann, B. J. (2020). Evaluation of K18-hACE2 mice as a model of SARS-CoV-2 infection. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 103(3), 1215.
- Moss, B. (2013). Poxvirus DNA replication. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 5(9), a010199.
- Muralidar, S., Ambi, S. V., Sekaran, S., & Krishnan, U. M. (2020). The emergence of COVID-19 as a global pandemic: Understanding the epidemiology, immune response and potential therapeutic targets of SARS-CoV-2. *Biochimie*, 179, 85-100.
- Murray, Patrick R. *Temel Tıbbi Mikrobiyoloji*. çev. A. Dürdal Us – Ahmet Başustaoglu. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri, 2018.
- Naqvi, I., Giroux, N., Olson, L., Morrison, S. A., Llanga, T., Akinade, T. O., ... & Sullenger, B. (2022). DAMPs/PAMPs induce monocytic TLR activation and tolerance in COVID-19 patients; nucleic acid binding scavengers can counteract such TLR agonists. *Biomaterials*, 283, 121393.
- Ni, L., Ye, F., Cheng, M. L., Feng, Y., Deng, Y. Q., Zhao, H., ... & Dong, C. (2020). Detection of SARS-CoV-2-specific humoral and cellular immunity in COVID-19 convalescent individuals. *Immunity*, 52(6), 971-977.
- Olivares-Gazca, J. C., Priesca-Marín, J. M., Ojeda-Laguna, M., Garces-Eisele, J., Soto-Olvera, S., Palacios-Alonso, A., ... & Ruiz-Argüelles, G. J. (2020). Infusion of convalescent plasma is associated with clinical improvement in critically ill patients with COVID-19: A Pilot Study. *Revista de investigación clínica*, 72(3), 159-164.
- Pal, M., Berhanu, G., Desalegn, C., & Kandi, V. (2020). Severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2): an update. *Cureus*, 12(3).
- Palacios, R., Patiño, E. G., de Oliveira Piorelli, R., Conde, M. T. R. P., Batista, A. P., Zeng, G., ... & Gast, C. (2020). Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Phase III Clinical Trial to Evaluate the Efficacy and Safety of treating Healthcare Professionals with the Adsorbed COVID-19 (Inactivated)

Vaccine Manufactured by Sinovac–PROFISCOV: A structured summary of a study protocol for a randomised controlled trial. *Trials*, 21, 1-3.

- Parihar, A., Ranjan, P., Sanghi, S. K., Srivastava, A. K., & Khan, R. (2020). Point-of-care biosensor-based diagnosis of COVID-19 holds promise to combat current and future pandemics. *ACS applied bio materials*, 3(11), 7326-7343.
- Peiris, J. S. (2003). Lai ST, Poon LL, Guan Y, Yam LY, Lim W, Nicholls J, Yee WK, Yan WW, Cheung MT, Cheng VC, Chan KH, Tsang DN, Yung RW, Ng TK, Yuen KY. *Coronavirus as a possible cause of severe acute respiratory syndrome. Lancet*, 361, 1319-1325.
- Pekar, J. E., Magee, A., Parker, E., Moshiri, N., Izhikevich, K., Havens, J. L., ... & Wertheim, J. O. (2022). The molecular epidemiology of multiple zoonotic origins of SARS-CoV-2. *Science*, 377(6609), 960-966.
- Pohanka, M. (2022). Progress in Biosensors for the Point-of-Care Diagnosis of COVID-19. *Sensors*, 22(19), 7423.
- Post, N., Eddy, D., Huntley, C., Van Schalkwyk, M. C., Shrotri, M., Leeman, D., ... & Ismail, S. A. (2020). Antibody response to SARS-CoV-2 infection in humans: A systematic review. *PloS one*, 15(12), e0244126.
- Qin, C., Zhou, L., Hu, Z., Zhang, S., Yang, S., Tao, Y., ... & Tian, D. S. (2020). Dysregulation of immune response in patients with coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clinical infectious diseases*, 71(15), 762-768.
- Rai, K. R., Shrestha, P., Yang, B., Chen, Y., Liu, S., Maarouf, M., & Chen, J. L. (2021). Acute infection of viral pathogens and their innate immune escape. *Frontiers in microbiology*, 12, 672026.
- Richt, J. A., Rockx, B., Ma, W., Feldmann, F., Safronetz, D., Marzi, A., ... & Feldmann, H. (2012). Recently emerged swine influenza A virus (H2N3) causes severe pneumonia in Cynomolgus macaques. *PLoS One*, 7(7), e39990.
- Rodda, L. B., Netland, J., Shehata, L., Pruner, K. B., Morawski, P. A., Thouvenel, C. D., ... & Pepper, M. (2021). Functional SARS-CoV-2-specific immune memory persists after mild COVID-19. *Cell*, 184(1), 169-183.
- Rodríguez-Molinero, A., Gálvez-Barrón, C., Miñarro, A., Macho, O., López, G. F., Robles, M. T., ... & COVID-19 Research Group of CSAPG. (2020). Association between COVID-19 prognosis and disease presentation, comorbidities and chronic treatment of hospitalized patients. *PloS one*, 15(10), e0239571.
- Roh, J. S., & Sohn, D. H. (2018). Damage-associated molecular patterns in inflammatory diseases. *Immune network*, 18(4).
- Rohaim, M. A., El Naggar, R. F., Clayton, E., & Munir, M. (2021). Structural and functional insights into non-structural proteins of coronaviruses. *Microbial pathogenesis*, 150, 104641.

- Rotondo, J. C., Martini, F., Maritati, M., Caselli, E., Gallenga, C. E., Guarino, M., ... & Contini, C. (2022). Advanced Molecular and immunological diagnostic methods to detect SARS-CoV-2 infection. *Microorganisms*, 10(6), 1193.
- Rutgers. "COVID-19: SARS-CoV-2 Başak Proteini". Erişim 16.06.2023. <https://chem.rutgers.edu/the-baum-group-research/1523-the-baum-group-research-spike-protein>
- Sakr, Y., Bensasi, H., Taha, A., Bauer, M., & Ismail, K. (2021). Camostat mesylate therapy in critically ill patients with COVID-19 pneumonia. *Intensive care medicine*, 47(6), 707-709.
- Saltuerk. "Covid-19". Erişim 16.06.2023. <https://saltuerk.wordpress.com/2020/05/10/covid-19/>
- Sariol, A., & Perlman, S. (2020). Lessons for COVID-19 immunity from other coronavirus infections. *Immunity*, 53(2), 248-263.
- Segars, J., Katler, Q., McQueen, D. B., Kotlyar, A., Glenn, T., Knight, Z., ... & Kawwass, J. F. (2020). Prior and novel coronaviruses, Coronavirus Disease 2019 (COVID-19), and human reproduction: what is known?. *Fertility and sterility*, 113(6), 1140-1149.
- Shahgolzari, M., Yavari, A., Arjeini, Y., Miri, S. M., Darabi, A., Nejad, A. S. M., & Keshavarz, M. (2021). Immunopathology and Immunopathogenesis of COVID-19, what we know and what we should learn. *Gene Reports*, 25, 101417.
- Sharma, A., Balda, S., Apreja, M., Kataria, K., Capalash, N., & Sharma, P. (2021). COVID-19 diagnosis: current and future techniques. *International Journal of Biological Macromolecules*, 193, 1835-1844.
- Sharma, B., Shahanshah, M. F. H., Gupta, S., & Gupta, V. (2021). Recent advances in the diagnosis of COVID-19: a bird's eye view. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 21(5), 475-491.
- Shaw, A. C., Goldstein, D. R., & Montgomery, R. R. (2013). Age-dependent dysregulation of innate immunity. *Nature Reviews Immunology*, 13(12), 875-887.
- Sheahan, T. P., Sims, A. C., Leist, S. R., Schäfer, A., Won, J., Brown, A. J., ... & Baric, R. S. (2020). Comparative therapeutic efficacy of remdesivir and combination lopinavir, ritonavir, and interferon beta against MERS-CoV. *Nature communications*, 11(1), 222.
- Shehu, I. A., Auwal, N. M., Musa, M. K., Mukhtar, A., Yusuf, M. S. A., Yau, A. A., ... & Islam, M. (2021). Innovative Nanotechnology a Boon for Fight Against Pandemic COVID-19. *Frontiers in Nanotechnology*, 3, 651308.

- Shi, Y., Wang, Y., Shao, C., Huang, J., Gan, J., Huang, X., ... & Melino, G. (2020). COVID-19 infection: the perspectives on immune responses. *Cell Death & Differentiation*, 27(5), 1451-1454.
- Shillito, R. D., Whitt, S., Ross, M., Ghavami, F., De Vleeschauwer, D., D'Halluin, K., ... & Meulewaeter, F. (2021). Detection of genome edits in plants—from editing to seed. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 57, 595-608.
- Shimada, Y., Deguchi, T., Nakane, K., Yasuda, M., Yokoi, S., Ito, S. I., ... & Ishiko, H. (2011). Macrolide resistance—associated 23S rRNA mutation in *Mycoplasma genitalium*, Japan. *Emerging infectious diseases*, 17(6), 1148.
- Shmakov, S., Smargon, A., Scott, D., Cox, D., Pyzocha, N., Yan, W., ... & Koonin, E. V. (2017). Diversity and evolution of class 2 CRISPR–Cas systems. *Nature reviews microbiology*, 15(3), 169-182.
- Silva, N. I. O., de Oliveira, J. S., Kroon, E. G., Trindade, G. D. S., & Drumond, B. P. (2020). Here, there, and everywhere: the wide host range and geographic distribution of zoonotic orthopoxviruses. *Viruses*, 13(1), 43.
- Sims, A. C., Burkett, S. E., Yount, B., & Pickles, R. J. (2008). SARS-CoV replication and pathogenesis in an in vitro model of the human conducting airway epithelium. *Virus research*, 133(1), 33-44.
- Singla, S., & Goyal, S. (2022). Antiviral activity of molnupiravir against COVID-19: a schematic review of evidences. *Bulletin of the National Research Centre*, 46(1), 62.
- Skurnik, M. (2022). Editorial of *Viruses* special issue on phage–host interactions 2021. *Viruses*, 14(2), 236.
- Sousa, C. P., & Brites, C. (2020). Immune response in SARS-CoV-2 infection: the role of interferons type I and type III. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 24, 428-433.
- Spinner, C. D., Gottlieb, R. L., & Criner, G. J. (2020). Arribas López JR, Cattelan AM, Soriano Viladomiu A, et al. Effect of Remdesivir vs Standard Care on Clinical Status at 11 Days in Patients With Moderate COVID-19: A Randomized Clinical Trial. *Jama*, 324(11), 1048-57.
- Stadler, K., Massignani, V., Eickmann, M., Becker, S., Abrignani, S., Klenk, H. D., & Rappuoli, R. (2003). SARS—beginning to understand a new virus. *Nature Reviews Microbiology*, 1(3), 209-218.
- Strich, J. R., & Chertow, D. S. (2019). CRISPR-Cas biology and its application to infectious diseases. *Journal of clinical microbiology*, 57(4), e01307-18.
- Synowiec, A., Szczepański, A., Barreto-Duran, E., Lie, L. K., & Pyrc, K. (2021). Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2): a systemic infection. *Clinical microbiology reviews*, 34(2), e00133-20.

- Tahan, S., Parikh, B. A., Droit, L., Wallace, M. A., Burnham, C. A. D., & Wang, D. (2021). SARS-CoV-2 E gene variant alters analytical sensitivity characteristics of viral detection using a commercial reverse transcription-PCR assay. *Journal of clinical microbiology*, 59(7), e00075-21.
- Takahashi, W., Yoneda, T., Koba, H., Ueda, T., Tsuji, N., Ogawa, H., & Asakura, H. (2021). Potential mechanisms of nafamostat therapy for severe COVID-19 pneumonia with disseminated intravascular coagulation. *International Journal of Infectious Diseases*, 102, 529-531.
- Tang, F., Quan, Y., Xin, Z. T., Wrammert, J., Ma, M. J., Lv, H., ... & Cao, W. C. (2011). Lack of peripheral memory B cell responses in recovered patients with severe acute respiratory syndrome: a six-year follow-up study. *The Journal of Immunology*, 186(12), 7264-7268.
- Taylor, P. C., Adams, A. C., Hufford, M. M., De La Torre, I., Winthrop, K., & Gottlieb, R. L. (2021). Neutralizing monoclonal antibodies for treatment of COVID-19. *Nature Reviews Immunology*, 21(6), 382-393.
- Temel, A., Ateş, A., & Eraç, B. (2021). COVID-19 Pandemisinde Mikrobiyolojik Tanı Yöntemleri. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 51(2), 99-108.
- Toussie, D., Voutsinas, N., Chung, M., & Bernheim, A. (2022, January). Imaging of COVID-19. In *Seminars in roentgenology* (Vol. 57, No. 1, pp. 40-52). WB Saunders.
- Tsang, N. N. Y., So, H. C., Ng, K. Y., Cowling, B. J., Leung, G. M., & Ip, D. K. M. (2021). Diagnostic performance of different sampling approaches for SARS-CoV-2 RT-PCR testing: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Infectious Diseases*, 21(9), 1233-1245.
- Tyrrell, D. A. J., Cohen, S., & Schilarb, J. E. (1993). Signs and symptoms in common colds. *Epidemiology & Infection*, 111(1), 143-156.
- Uprichard, S. L., O'Brien, A., Evdokimova, M., Rowe, C. L., Joyce, C., Hackbart, M., ... & Baker, S. C. (2022). Antibody Response to SARS-CoV-2 Infection and Vaccination in COVID-19-naïve and Experienced Individuals. *Viruses*, 14(2), 370.
- Ustaçelebi, Şemsettin. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi, 1999.
- Uyanıkgil, E. O. C., Salmanoğlu, D. S., Çalışkan, E. E., Sofu, M., & Uyanıkgil, Y. (2021). COVID-19 Tanı Testleri, Tedavisindeki Aşılar ve İlaçlar; Güncel Durum. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*.
- Vabret, A., Dina, J., Gouarin, S., Petitjean, J., Corbet, S., & Freymuth, F. (2006). Detection of the new human coronavirus HKU1: a report of 6 cases. *Clinical infectious diseases*, 42(5), 634-639.
- Van den Borst, B., Peters, J. B., Brink, M., Schoon, Y., Bleeker-Rovers, C. P., Schers, H., ... & van den Heuvel, M. (2021). Comprehensive health assessment 3

- months after recovery from acute coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Clinical Infectious Diseases*, 73(5), e1089-e1098.
- Van Der Hoek, L., Pyrc, K., & Berkhout, B. (2006). Human coronavirus NL63, a new respiratory virus. *FEMS microbiology reviews*, 30(5), 760-773.
- Vangeel, L., Chiu, W., De Jonghe, S., Maes, P., Slechten, B., Raymenants, J., ... & Jochmans, D. (2022). Remdesivir, Molnupiravir and Nirmatrelvir remain active against SARS-CoV-2 Omicron and other variants of concern. *Antiviral research*, 198, 105252.
- Vankadari, N. (2020). Arbidol: A potential antiviral drug for the treatment of SARS-CoV-2 by blocking trimerization of the spike glycoprotein. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 56(2), 105998.
- Vankadari, N., Shepherd, D. C., Carter, S. D., & Ghosal, D. (2022). Three-dimensional insights into human enveloped viruses in vitro and in situ. *Biochemical Society Transactions*, 50(1), 95-105.
- Viciano, P., Torres-Cornejo, A., BenMarzouk-Hidalgo, O. J., Sánchez-Rivas, A. L., & Gutierrez-Valencia, A. (2013). Lopinavir Plasma Concentrations and studies, 6, 13.
- Wang, Q. J., Yao, Y. Z., Song, J. S., Wang, Q., Xu, L. Y., Bao, Z. J., ... & Li, S. B. (2020). Kinetic changes in virology, specific antibody response and imaging during the clinical course of COVID-19: a descriptive study. *BMC Infectious Diseases*, 20(1), 1-11.
- Wei, J., Matthews, P. C., Stoesser, N., Maddox, T., Lorenzi, L., Studley, R., ... & Eyre, D. W. (2021). Anti-spike antibody response to natural SARS-CoV-2 infection in the general population. *Nature Communications*, 12(1), 6250.
- Wei, L., Shang, Y., Liu, X., Li, X., Chen, G., Liang, S., ... & Xia, J. (2021). Antibody responses and the effects of clinical drugs in COVID-19 patients. *Frontiers in Immunology*, 12, 580989.
- Wertheim Joel, O., Chu Daniel, K. W., & Peiris Joseph, S. M. (2013). Kosakovsky Pond Sergei L, Poon Leo LM. *A case for the ancient origin of coronaviruses. Journal of Virology*, 87(12), 7039-7045.
- Woo, P. C., Lau, S. K., Chu, C. M., Chan, K. H., Tsoi, H. W., Huang, Y., ... & Yuen, K. Y. (2005). Characterization and complete genome sequence of a novel coronavirus, coronavirus HKU1, from patients with pneumonia. *Journal of virology*, 79(2), 884-895.
- World Health Organization. (2021). *COVID-19 natural immunity: scientific brief, 10 May 2021* (No. WHO/2019-nCoV/Sci_Brief/Natural_immunity/2021.1). World Health Organization.

- Wu, F., Zhao, S., Yu, B., Chen, Y. M., Wang, W., & Song, Z. G. (2020). A novel coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*, 579(7798), 265-269.
- Wu, K., Peng, G., Wilken, M., Geraghty, R. J., & Li, F. (2012). Mechanisms of host receptor adaptation by severe acute respiratory syndrome coronavirus. *Journal of Biological Chemistry*, 287(12), 8904-8911.
- Xia, H., & Shi, P. Y. (2020). Antagonism of type I interferon by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 40(12), 543-548.
- Xia, X., Li, K., Wu, L., Wang, Z., Zhu, M., Huang, B., ... & Wang, Q. (2020). Improved clinical symptoms and mortality on severe/critical COVID-19 patients utilizing convalescent plasma transfusion. *Blood*, 136(6), 755-759.
- Xiao, Y., Rouzine, I. M., Bianco, S., Acevedo, A., Goldstein, E. F., Farkov, M., ... & Andino, R. (2016). RNA recombination enhances adaptability and is required for virus spread and virulence. *Cell host & microbe*, 19(4), 493-503.
- Yadav, P. D., Sarkale, P., Razdan, A., Gupta, N., Nyayanit, D. A., Sahay, R. R., ... & Mohandas, S. (2022). Isolation and characterization of SARS-CoV-2 Beta variant from UAE travelers. *Journal of Infection and Public Health*, 15(2), 182-186.
- Yadav, R., Chaudhary, J. K., Jain, N., Chaudhary, P. K., Khanra, S., Dhamija, P., ... & Handu, S. (2021). Role of structural and non-structural proteins and therapeutic targets of SARS-CoV-2 for COVID-19. *Cells*, 10(4), 821.
- Ye, Q., Wang, B., & Mao, J. (2020). The pathogenesis and treatment of the Cytokine Storm in COVID-19. *Journal of infection*, 80(6), 607-613.
- Yeo, C., Kaushal, S., & Yeo, D. (2020). Enteric involvement of coronaviruses: is faecal-oral transmission of SARS-CoV-2 possible?. *The lancet Gastroenterology & hepatology*, 5(4), 335-337.
- Zhang, N., Shang, J., Li, C., Zhou, K., & Du, L. (2020). An overview of Middle East respiratory syndrome coronavirus vaccines in preclinical studies. *Expert review of vaccines*, 19(9), 817-829.
- Zhao, J., Yuan, Q., Wang, H., Liu, W., Liao, X., Su, Y., ... & Zhang, Z. (2020). Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with novel coronavirus disease 2019. *Clinical infectious diseases*, 71(16), 2027-2034.
- Zheng, H. Y., Zhang, M., Yang, C. X., Zhang, N., Wang, X. C., Yang, X. P., ... & Zheng, Y. T. (2020). Elevated exhaustion levels and reduced functional diversity of T cells in peripheral blood may predict severe progression in COVID-19 patients. *Cellular & molecular immunology*, 17(5), 541-543.

- Zhou Ling, Liu Kui, & Liu Huiguo. (2020). Analysis of causes and treatment strategies of "relapse" in patients with novel coronavirus pneumonia after discharge. *Chinese Journal of Tuberculosis and Respiratory Medicine*, 43(4), 281-284.
- Zhou, H., Tada, T., Dcosta, B. M., & Landau, N. R. (2022). Neutralization of SARS-CoV-2 Omicron BA. 2 by therapeutic monoclonal antibodies. *Biorxiv*.
- Zotova, N. V., Chereshev, V. A., & Gusev, E. Y. (2016). Systemic inflammation: methodological approaches to identification of the common pathological process. *PLoS One*, 11(5), e0155138.



ETİK KURUL KARARI



T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı



Sayı : E-40465587-050.01.04-299
Konu : Etik Kurul

10.01.2022

Sayın Prof. Dr. Zihni Açar YAZICI

Üniversitemiz Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna yapmış olduğunuz “COVID-19 Patojenezi ile Anti-spike ve Nötralizan Antikor Yanıtı Arasındaki İlişkinin İncelenmesi” isimli başvurunuz etik kurulumuz yönergesine göre 06.01.2022 tarihinde yapmış olduğu toplantıda incelenmiş olup, 2022/04 karar numarası ile bilimsel ve etik yönden uygun bulunmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini saygılarımla rica ederim.

Prof. Dr. Hüseyin Avni UYDU
Başkan

Bu belge güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Doğrulama Kodu : 55c2da7710ac

Belge Takip Adresi: <http://ebys.erdogan.edu.tr/EBYS/eimzadogrulama>

Fener Mah. Zihni Derin Yerleşkesi 53100 Rize / TÜRKİYE
Telefon No : +90 (464) 223 61 26 Faks No : +90 (464) 223 53 76
e-Posta : [Internet Adresi: http://www.erdogan.edu.tr/](http://www.erdogan.edu.tr/)
Kep Adresi:

Bilgi için : BURAK HANKAYA

