

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

COVID-19 HASTALARINDA VİRAL GENOM ANALİZİ VE İNSANDA
HASTALIĞIN AĞIR SEYRİYLE İLİŞKİLİ LİTERATÜRDE GÖSTERİLMİŞ
GENETİK VARYANTLARIN GENOTİPLENDİRİLMESİ

Dr. Ahmet Görkem ER

UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

ANKARA
2024

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

COVID-19 HASTALARINDA VİRAL GENOM ANALİZİ VE İNSANDA
HASTALIĞIN AĞIR SEYRİYLE İLİŞKİLİ LİTERATÜRDE GÖSTERİLMİŞ
GENETİK VARYANTLARIN GENOTİPLENDİRİLMESİ

Dr. Ahmet Görkem ER

UZMANLIK TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır

TEZ DANIŞMANLARI

Prof. Dr. Serhat Ünal

Doç. Dr. Yeşim Aydın Son

ANKARA

2024

TEŞEKKÜR

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda eğitim aldığım süre içinde bana bilgi ve tecrübelerini sabır ve hoşgörü ile aktaran, yetişmemde büyük katkıları olduğuna inandığım, başta tez danışmanım Prof. Dr. Serhat Ünal olmak üzere, Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı'ndaki tüm değerli Hocalarım'a,

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm fellow ve asistan arkadaşlarıma ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı personeline,

Tıp bilişimi alanında yetişmemde büyük katkıları olan, bu alandaki bilgi ve tecrübelerini sabırla aktaran hocam, tez danışmanım, Orta Doğu Teknik Üniversitesi Enformatik Enstitüsü Sağlık Bilişimi Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Yeşim Aydın Son'a,

İç hastalıkları uzmanlık eğitimi sürecimden bu yana desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Mine Durusu Tanrıöver'e,

Tez çalışmamdaki finansal ve lojistik destekleri için The Foundation for Influenza Epidemiology ve Türk İç Hastalıkları Uzmanlık Derneği'ne,

Orta Doğu Teknik Üniversitesi Enformatik Enstitüsü KANSİL Genom Laboratuvarları'nda insan genetik varyant analizleri üzerinde çalışan Yavuzhan Çakır ve Hüseyin Cahit Burduroğlu'na,

Sonsuz sevgisi ve desteğiyle her an yanımda olan, hayatı paylaşmaktan mutluluk duyduğum canım eşim Berrin ve güzel çocuklarımız Evrim ve Ekin Er'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Er AG, COVID-19 Hastalarında Viral Genom Analizi ve İnsanda Hastalığın Ağır Seyriyle İlişkili Literatürde Gösterilmiş Genetik Varyantların Genotiplendirilmesi. Hacettepe Üniversitesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Ankara, 2024. Pandeminin başlangıcından itibaren COVID-19'un yönetiminde klinisyenleri en çok zorlayan faktörlerden biri klinik seyirde görülen farklılıklardır. Ağır klinik seyir ile ilişkili parametrelerin detaylıca araştırılabilmesi için, ileri yaş ve ek komorbiditelerin varlığı gibi bilinen risk faktörlerinin yanı sıra, genetik faktörlerin ve konak-patojen ilişkisinin de incelenmesi gereklidir. Literatürde viral genom ve konak genomundaki farklılıklara bağlı klinik seyrin değişebileceğine dair kanıtlar bulunmaktadır. Bu amaçla COVID-19 tanısıyla Hacettepe Üniversitesi Erişkin Hastanesi'nde COVID-19 servislerinde izlenen 86, COVID-19 yoğun Bakım Üniteleri'nde izlenen 63 hastadan klinik bilgilerin yanı sıra viral genom analizi için nazofarengeal ve orofarengeal sürüntü örneği ve insanda ağır hastalıkla ilişkili olabilecek genetik varyantların genotiplendirilmesi için tükürük ya da trakeobronşiyal örnekleme yapılmıştır. Çok değişkenli regresyon analizlerinde klinik faktörlerde ileri yaş ve kronik hastalık varlığı, laboratuvar parametrelerinde laktat dehidrojenaz yüksekliği ve lenfosit düşüklüğü ağır hastalıkla ilişkili bulunmuştur. Seyrek kanonikal korelasyon analizinde farklı klinik fenotipler ortaya konulmuştur. Viral mutasyonlar ve insan genetik varyantları ile ağır hastalık arasında istatistiksel olarak anlamlı bulgu saptanmamıştır. Çalışmada kullanılan örneklem sayısının görece düşük olması kısıtlılık olarak kabul edilebilir, bu nedenle elde edilen bulguların daha geniş kohort üzerinde yeniden değerlendirilmesi önerilir.

Anahtar kelimeler: COVID-19, viral genom analizi, ağır hastalık, insan genetik varyant analizi

ABSTRACT

Er AG, Viral Genome Analysis and Genotyping of Human Genetic Variants Associated with Severe Disease in COVID-19 Patients. Hacettepe University Faculty of Medicine Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Speciality Thesis, Ankara, 2024. Since the beginning of the pandemic, one of the most challenging factors for clinicians in the management of COVID-19 has been the differences in clinical course. In order to investigate the parameters associated with severe disease in detail, it is necessary to examine genetic factors and host-pathogen relationships in addition to known risk factors such as advanced age and the presence of additional comorbidities. There is evidence in the literature that the clinical course may change due to differences in the viral genome and host genome. For this purpose, in addition to clinical information, nasopharyngeal and oropharyngeal swab samples for viral genome analysis and saliva or tracheobronchial sampling for genotyping of human genetic variants that may be associated with severe disease were obtained from 86 patients followed up in COVID-19 services and 63 patients followed up in COVID-19 intensive care units at Hacettepe University Adult Hospital. In multivariate regression analyses, advanced age and the presence of chronic disease were associated as clinical factors and elevated lactate dehydrogenase and low lymphocytes were associated as laboratory parameters with severe disease. Sparse canonical correlation analysis revealed different clinical phenotypes. No statistically significant findings were found between viral mutations and human genetic variants and severe disease. The relatively small sample size used in the study can be considered as a limitation; therefore, it is recommended to reevaluate the findings obtained on a larger cohort.

Keywords: COVID-19, viral genome analysis, human genetic variant analysis, severe disease

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET... ..	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİLLER.....	viii
TABLolar	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tanım ve Tarihçe	3
2.2. Epidemiyoloji.....	3
2.3. Klinik Özellikler.....	7
2.3.1. Asemptomatik infeksiyon	7
2.3.2. Semptomatik hastalıkta klinik seyir	7
2.3.3. Ağır hastalık için risk faktörleri	8
2.3.4. Klinik bulgular	9
2.4. Viral genetik varyantlar.....	17
3. BİREYLER VE YÖNTEM.....	21
4. BULGULAR.....	28
5. TARTIŞMA	38
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	43
KAYNAKLAR	44

SİMGELER VE KISALTMALAR

ARDS	Akut solunum sıkıntısı sendromu
ALT	Alanin transaminaz
AST	Aspartat transaminaz
BNP	Brain natriüretik peptit
BT	Bilgisayarlı tomografi
CRP	C-reaktif protein
CCA	Kanonik korelasyon analizi
CCI	Charlson komorbidite indeksi
COVID-19	Koronavirus hastalığı 2019
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
ESR	Eritrosit sedimentasyon hızı
FDA	Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi
GISAID	The Global Initiative on Sharing All Influenza Data
GWAS	Genom çapında ilişkilendirme çalışması
IL-1	İnterlökin-1
IL-6	İnterlökin-6
INR	Uluslararası normalleştirilmiş oran
KOAH	Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
LDH	Laktat dehidrojenaz
MERS	Orta doğu solunum sendromu
NIH	Amerika Ulusal Sağlık Enstitüsü
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
SARS	Şiddetli akut solunum sendromu
SNP	Tek nükleotid polimorfizmi

ŞEKİLLER

Şekil 4.1 Laboratuvar sonuçlarının ve klinik verilerin Seyrek CCA analizi.....	33
Şekil 4.2 Amino Asit Mutasyon Frekansı ve Viral Suş Başına Amino Asit Mutasyon Sayısı Histogramları.....	33
Şekil 4.3 Filogenetik ağaç, nükleotid data matrisi. İzole edilmiş SARS-CoV-2 suşlarının filogenetik ağacı ve matris formundaki nükleotid mutasyonları.....	35

TABLolar

Tablo 3.1: Hasta epikrizlerindeki komorbiditelerin tanımları.....	23
Tablo 3.2: Charlson Komorbidite İndeksi puanlama cetveli.....	24
Tablo 3.3: Çalışmada incelenen insan genetik varyantları.....	26
Tablo 4.1: Hastaların klinik özellikleri.....	29
Tablo 4.2: Klinik özellikler için çok değişkenli regresyon analizi.....	30
Tablo 4.3: Hastaların laboratuvar sonuçları.....	31
Tablo 4.4: Laboratuvar parametreleri için çok değişkenli regresyon analizi.....	32
Tablo 4.5: Pango v.4.3.1 sınıflandırma sistemine göre viral suşların sınıflandırması.....	34
Tablo 4.6: Boruta algoritması ile seçilen amino asit mutasyonları.....	35
Tablo 4.7: Boruta algoritması ile seçilen amino asit mutasyonları için çok değişkenli regresyon analizi.....	36
Tablo 4.8: İnsan genetik varyantlarının servis ve yoğun bakım izlemindeki hastalardaki allel frekansları.....	37

1. GİRİŞ VE AMAÇ

2019 yılının son günlerinde Çin Halk Cumhuriyeti'nin Wuhan şehrindeki Huanan Deniz Ürünleri Pazarı'nda görülen bazı pnömoni olguları yeni bir koronavirüs salgını ile ilişkilendirilmiş, başlangıçta 2019-nCoV olarak isimlendirilen yeni koronavirüs, salgının ilerleyen dönemlerinde SARS-CoV-2 olarak adlandırılmış, virüsün yol açtığı klinik hastalığa COVID-19 adı verilmiştir. COVID-19, 11 Mart 2020 tarihinde DSÖ tarafından pandemi olarak kabul edilmiştir. 7 Nisan 2024 itibariyle pandemide görülen toplam vaka sayısının 775 milyonun üzerinde olduğu açıklanmıştır [1].

Pandeminin başlangıcından beri COVID-19'un yönetiminde hem klinisyenleri hem de karar vericileri en çok zorlayan faktörlerden biri klinik seyirde görülen farklılıklardır. Bazı hastalar hastalığı asemptomatik olarak geçirirken, bazı hastalarda ağır solunum yetmezliği nedeniyle hayatını kaybedebilmektedir. Hastalığın patogenezinin aydınlatılmasına yönelik çalışmalar devam etmektedir: Kimi yazarlar tarafından lokal bir akciğer hastalığı olarak değerlendirilen COVID-19, lenfositik endotelit ve yaygın mikro ve makrovasküler tutulum nedeniyle sistemik bir hastalık olarak da değerlendirilmektedir [2]. Literatürde erkek cinsiyet, ileri yaş, kardiyovasküler hastalık ve diyabet, hipertansiyon ve obezite gibi ek komorbiditelerin varlığı ağır klinik seyir ile ilişkilendirilmiştir [3]. Ayrıca hastaneye yatırılan hastalarda yüksek viral yük varlığı, ağır akciğer tutulumu, lenfopeni ve yüksek akut faz yanıtıysa mortalite ile ilişkili bulunmuştur [4].

Ağır klinik seyir ile ilişkili parametrelerin detaylıca araştırılabilmesi için hastalığın seyrini etkileyebilecek genetik faktörlerin ve konak-patojen ilişkisinin de masaya yatırılması gereklidir. Viral genomda görülebilecek çeşitli mutasyonlar klinik seyirde farklılıklara yol açmaktadır. Singapur'da Ocak ve Şubat 2020'de görülen ve ORF-8 gen bölgesinde 382 nükleotid delesyon mutasyonu olan bir varyant hafif klinik seyir ile ilişkili bulunmuştur [5]. Alfa (B.1.1.7), Beta (B.1.617.2) ve Omicron (B.1.1.529) varyant örneklerinde görüldüğü gibi ortaya çıkan varyantlar yaygın aşılama olanaklarına rağmen sağ kalım sonuçlarını değiştirebilmektedir.

Viral genomun yanı sıra konak genomunun incelenmesi de konak-patojen ilişkisinin aydınlatılmasında önem taşımaktadır. Ağır COVID-19 GWAS Grubu tarafından 1980 hastada yapılan çalışmada 3p21.31'de yer alan rs11385942 ve

9q34.2’de yer alan rs657152 genetik varyantları ağır hastalık ile ilişkili bulunmuştur [2]. rs657152 varyantının COVID-19 hastalarında derin ven trombozu ve pulmoner emboli gibi komplikasyonlarla ilişkili olduğu göz önüne alındığında bu grup hastalarda profilaktik antikoagülan ilaçların rutinde kullanılan şemalardan farklı bir şemayla hastalara verilmesi gerekeceği düşünülebilir [6]. Wang ve ark.’larının 332 hastayı inceledikleri çalışmalarında IL-1 yolağında TMEM189-UBE2V1 lokusu ağır hastalık ile ilişkili olarak bulunmuştur. Yine aynı çalışmada HLA-A*11.01, -B*51:01 ve -C*14:02 allelleri kötü sağ kalım ile ilişkilendirilmiştir [7]. Deng ve ark.’nın yayınladıkları derlemede virüsün hücreye tutunması ve immünolojik cevapta rol oynayan ACE2 ve TMPRSS2 genlerindeki ve HLA genotiplerindeki bazı varyantların ağır hastalıkla ilişkili olduğu belirtilmiştir [8]. Kousathanas ve ark.’nın 224 yoğun bakım ünitesinden 7.491 kritik COVID-19 hastasını 48.400 kontrol hastasıyla karşılaştırdıkları çalışmalarında da 25 bağımsız gen lokusunun ağır hastalık ile ilişkili olduğu görülmüştür [9].

Hastalık konak-patojen ilişkisi olarak ele alındığında, hangi varyantların hangi genetik özelliklere sahip konakta hangi fenotipik değişiklikleri yapabileceğini öngörmenin oldukça zor olduğu görülmektedir. Hipotezimiz konak ve virüs genomundaki değişikliklerin, klasik epidemiyolojik risk faktörlerine ek olarak, klinik seyir ve sağ kalım sonuçlarını değiştirebileceğidir.

Çalışmanın amacı COVID-19 ön tanısı ile yatırılan ve alınan solunum yolu örneğinde SARS-CoV-2 PCR pozitifliği saptanan hastalardaki viral genom sekans verilerinin analizinin yapılması ve insanda hastalığın ağır seyriyle ilişkili literatürde gösterilmiş genetik varyantların genotiplendirilmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tanım ve Tarihçe

Araştırmacılar Tyrrell ve Bynoe tarafından 1965 yılında soğuk algınlığı olan bir hastanın doku kültüründe bir virüs izole edilmiş, ilerleyen yıllarda farelerdeki hepatit ve domuzlardaki gastroenterit virüsünün de elektron mikroskopisinde aynı morfolojiye sahip olduğu görülmüştür [10, 11]. Bu yeni virüse yüzey çıkıntıları taç görünümüne benzediğinden Coronavirus adı verilmiştir [12]. Koronavirüsler tek zincirli, pozitif polariteli, zarflı RNA virüsleridir. Coronaviridae ailesi Nidovirales takımı içerisinde yer almakta, Coronavirinae ve Torovirinae alt-ailelerinden oluşmakta, memeli ve kuşları infekte ederek solunumsal, enterik, nörolojik ve hepatik çeşitli hastalıklara yol açabilmektedir. Coronavirinae alt-ailesi dört cinse ayrılmaktadır: Alphacoronavirus, Betacoronavirus, Gammacoronavirus ve Deltacoronavirus. İnsanda klasik soğuk algınlığı semptomlarına yol açan HCoV-229E, HCoV-OC43 ve HCoV-NL63 Alphacoronavirus cinsi altında yer alırken; yine bir klasik soğuk algınlığı etkeni olan HKU1-CoV, 2003 yılında tanımlanan ve SARS'tan sorumlu olan SARS-CoV ve 2012 yılında tanımlanan ve MERS'ten sorumlu olan MERS-CoV Betacoronavirus cinsinde yer almaktadır [13].

2.2. Epidemiyoloji

2000'li ve 2010'lu yıllarda salgın yapmış SARS-CoV ve MERS-CoV diğer koronavirüsler gibi zoonotik kökenlidir; SARS-CoV'un egzotik hayvanlardan, MERS-CoV'un ise develerden insana geçerek epidemiyeye yol açtığı tespit edilmiştir. Her iki patojenin de yarasa kökenli olduğu düşünülmektedir. Yine her iki virüsün üst solunum yolu epitel hücrelerinin yerine intrapulmoner epitel hücrelerini infekte etme eğiliminde olduğu bilinmektedir [14]. SARS epidemisi 2002 Kasım ayının ortalarında Çin Halk Cumhuriyeti'nin Guangdong eyaletinde başlamış; 2003 Mart ayında Singapur, Hong Kong ve Hanoi'de ağır pnömoni olguları görülmesi üzerine DSÖ tarafından dünyaya duyurulmuştur [15]. Salgın dünya geneline yayılmış, olgular 29 ülkede görülmüş, olası olgu sayısı 8096, ölenlerin sayısı da 774 olarak belirlenmiş, fatalite oranı %7-17 olarak tespit edilmiştir. MERS epidemisi ise Eylül 2012 tarihinde tanımlanmış, DSÖ verilerine göre Ocak 2020 itibarıyla laboratuvar onaylı 2494 olgu

27 ülkede saptanmış, toplam ölüm sayısı 858 olarak belirlenmiştir. Günümüzde de MERS olguları görülmeye devam etmektedir [16].

COVID-19 pandemisi ilk kez virüsün genetik yapısı ile birlikte Zhu ve arkadaşları tarafından özet rapor olarak 24.01.2020 tarihinde sunulmuştur. Bu çalışmada üç olgudan alınan dört solunum örneğinde virüs izole edilmiş, insan hava yolu epitel hücre kültürü yapılarak virüsün hücreler üzerindeki etkisi değerlendirilmiş, elektron mikroskopisi ile sitopatik görülen hücreler incelenmiş ve viral genom sekanslaması yapılmıştır. İki olgunun iyileştiği, bir olgunun ise solunum yetmezliği nedeniyle hayatını kaybettiği bu olgu serisinde olgulardan izole edilen ve 2019-nCoV olarak adlandırılan bu virüsün Betacoronavirus cinsinin Sarbecovirus alt-cinsine ait olduğu görülmüş ve hücre kültüründe sitopatik etkisi olan virüsün yapılan filogenetik analizde yarasa kökenli SARS-like CoV (bat-SL-CoVZC45, MG772933.1) ile %86.9 oranında nükleotit sekans benzerliği taşıdığı gösterilmiştir [17].

Huang ve arkadaşları da, yine 24.01.2020 tarihinde, hastaneye başvuran ve laboratuvar onaylı 41 hastanın klinik özelliklerini paylaşmışlardır. Bu çalışmada hastaların 30 (%73)'ünün erkek, 13 (%32)'ünde altta yatan bir hastalığın olduğu ve 27'sinin Huanan Deniz Ürünleri Pazarı maruziyeti olduğu belirtilmiştir. Medyan yaş 49.0 yıl olarak bulunmuştur [18]. Tüm hastaların oksijen ihtiyacının olması, en sık görülen semptomların ateş (%98), öksürük (%76), dispne (%55) ve miyalji ve halsizlik (%44) oluşu, 13 (%32) hastanın yoğun bakıma kabul edilmesi ve toplamda 6 (%15) hastanın ölmesi önemli bulgular olarak çalışmada belirtilmiştir [18].

Bu dönemde salgının hızla yayılımı üzerine Çin Halk Cumhuriyeti tarafından bir grup önlem alınmıştır. 10.01.2020 tarihinde Çin Halk Cumhuriyeti Hastalık Kontrol ve Koruma Merkezi virüsün genom sekansını dünya ile paylaşmış, PCR kiti tanı için hazırlanmıştır. Acil yanıt seviyesi de 15.01.2020 tarihinde en yüksek seviye olan Seviye 1'e yükseltilmiştir. 16.01.2020 tarihinde vücut sıcaklığı 37.3°C'nin üzerinde olan kişilerin Wuhan'dan çıkışına kısıtlama getirilmiş, DSÖ tarafından önerilmese de 23.01.2020 ve 24.01.2020 tarihlerinden itibaren öncelikle Wuhan şehrinde, sonrasında da Hubei eyaletinin genelinde karantina uygulamasına başlanmıştır [16, 19]

Salgının erken dönem yayılım dinamiklerini inceleyen en kapsamlı çalışma Li ve arkadaşları tarafından 29.01.2020 tarihinde yayımlanmıştır. 425 laboratuvar

onaylı hastada yapılan bu çalışmada ortalama yaş 59 olarak bulunmuş, hastaların %56'sının erkek olduğu görülmüştür. 01.01.2020 öncesinde hastaların %55'inin Huanan Deniz Ürünleri Marketi maruziyeti öyküsü varken, bu oranın 12.01.2020 sonrasında %6'ya indiği tespit edilmiştir. Bu durum salgının yayılımında kişiden kişiye bulaşın ana itici güç haline geldiğini göstermektedir. Ayrıca başlangıçta hiçbir sağlık çalışanında hastalık görülmezken, 12.01.2020 sonrası hastaların %7'sinin sağlık çalışanı olduğu belirlenmiştir. Ortalama inkübasyon süresi 5,2 gün (4.1-7.0), temel çoğalma sayısı (R_0) 2.2 (1.4-3.9) olarak tespit edilmiştir [19, 20].

30.01.2020 tarihinde asemptomatik hastaların da taşıyıcı olabileceğine dair bir editöre mektup yayımlanmış, bu durum infeksiyon kontrol önlemlerinin yeniden gözden geçirilmesini gerektirmiştir. Bu mektupta Almanya ziyareti sırasında asemptomatik olduğu belirtilen ve Çin vatandaşı olan bir indeks olgunun Almanya'daki dört kişiyi infekte ettiği belirtilmiştir [21]. Fakat sonrasında editöre mektubu yazan yazarların indeks olgu ile görüşmedikleri ve Almanya'daki dört hastanın beyanına göre indeks olgunun asemptomatik olduğunu düşündükleri, Robert Koch Enstitüsü yetkililerinin telefonla indeks olguya ulaşmasıyla indeks olgunun Almanya seyahati sırasında halsiz olduğu ve parasetamol kullandığı öğrenilmiştir. Hoehl ve arkadaşları salgının başlangıcında Çin'den Almanya'ya uçakla geri getirilen 114 kişinin ikisinde SARS-CoV-2 saptandığını ve bu kişilerin tarama esnasında asemptomatik olduğunu belirtmişlerdir. Bu iki kişi Almanya'daki bir hastanede izole edilmiş, bir hafta içerisinde bir hastada minimal farenjit bulguları görülmüş, ateş ise her iki olguda da görülmemiştir [22]. Li ve arkadaşları Çin Halk Cumhuriyeti'nde kayıt altına alınmamış hastaların değerlendirildiği modelleme çalışmalarında hafif semptomu olan ya da semptomu olmayan hastaların bulaştırıcılık potansiyellerinin olduğunu belirtmiş, bireysel olarak değerlendirildiğinde virüs yükü daha az olduğu için kayıt altına alınmayan hastaların kayıt altına alınan hastalara göre bulaşıcılık oranının %55 olduğunu, fakat yüksek kayıtsız hasta sayısı nedeniyle bu hasta grubunun tüm bulaşın %79'undan sorumlu olabileceğini ifade etmiştir [23].

31.01.2020 tarihinde Wu ve arkadaşları tarafından mevcut salgının büyüklüğünün ve Ocak 2020 tarihinden beri sosyal ve kişisel olarak alınan önlemlerin olası etkisinin değerlendirildiği bir modelleme çalışması yayımlanmıştır. Bu çalışmada öncelikli olarak 01.12.2019-25.01.2020 tarihleri arasında Wuhan'dan Çin

anakarasının dışına olan ulaşım olanakları değerlendirilmiş ve olgu sayısı göz önüne alınarak R_0 hesaplanmıştır. Salgının yayılımında etkili olan devamlı zoonotik kuvvet farklı modellerle incelenmiştir. Salgının seri aralığının Hong-Kong'daki SARS salgınıyla ve 2019-nCoV'un inkübasyon süresinin de SARS-CoV ve MERS-CoV ile benzer olabileceği düşünülerek yayılım dinamikleri anlaşılmasına çalışılmıştır. Buna göre en düşük devamlı zoonotik kuvvetin değerlendirildiği senaryoda R_0 2,68 (2,47-2,86) olarak bulunmuş, çalışmanın yapıldığı dönemde Çin anakarasında 5.993 olan olgu sayısının gerçekte 75.815 (37.304-130.330) olduğu hesaplanmıştır. Ayrıca şehirlerarası bulaşın azaltılamaması durumunda salgın pikinin Nisan 2020 tarihinde olacağı işaret edilmiştir. Şehirlerarası bulaşın %50 oranında azaltılabilmesi durumunda ise salgının sönmülenebileceği, büyük karantina önlemlerinin ise, hali hazırda büyük şehirlerde hastalar bulunduğu için, salgının yayılımında minimal oranda etkili olabileceği ifade edilmiştir [16].

Pandeminin başlangıç dönemine ait olan en büyük klinik seride Çin Halk Cumhuriyeti'ndeki 72.314 hasta çalışmaya dahil edilmiş, 889 asemptomatik hastanın olduğu belirtilmiş ve olgu fatalite oranı %2.3 olarak bulunmuştur. Bu çalışmanın en önemli özelliği olgu fatalite oranının yaş ve eşlik eden ek hastalıklarla dramatik olarak değişebileceğinin altının çizilmesidir. Verilere göre 50 yaşına kadar olgu fatalite oranı %0.5'in altında iken, 50- 59 yaş arasında olgu fatalite oranı %1.3, 60-69 yaş arasında %3.6, 70-79 yaş arasında %8 ve 80 yaş ve üstünde %14.8 olarak görülmüştür. Hipertansiyon, diyabet, kardiyovasküler hastalık, kronik solunum yolu hastalığı ve kanser varlığında da olgu fatalite oranının arttığı, hastaların %80.9'unun hastalığı hafif geçirdiği, %4.7'sinin ise kritik hastalık olarak ifade edilen bir tanımla yoğun bakım ünitelerinde izlendiği ifade edilmiştir [24].

Küresel sağlık otoriteleri, sağlık çalışanları ve karar vericiler pandemiyi başlangıçtan itibaren kontrol altına almakta zorlanmıştır, 7 Nisan 2024 itibariyle pandeminin toplam vaka sayısının 775 milyon üzerinde olduğu açıklanmıştır [1]. Omicron varyantının zaman içinde yayılımı bu zorluğu daha da arttırmıştır. Ancak nihayetinde SARS-CoV-2 insan popülasyonunda endemik bir patojen haline gelmiş ve günlük yaşam üzerindeki etkisi zamanla önemli ölçüde değişmiştir [25].

2.3. Klinik Özellikler

Yetişkinlerde COVID-19'un klinik spektrumu, asemptomatik enfeksiyondan hafif solunum yolu semptomları, şiddetli pnömoni, ARDS ve çoklu organ fonksiyon bozukluğuna kadar değişebilmektedir.

2.3.1. Asemptomatik enfeksiyon

COVID-19 aşısının uygulamaya konmasından önce yapılan bir incelemede, SARS-CoV-2 enfeksiyonu olan kişilerin yüzde 33'ünün hiçbir zaman semptom geliştirmedeği, başlangıçta asemptomatik olan bireylerin ortalama yüzde 73'ünün de takipte aynı kaldığı belirtilmiştir. [26]. Yaklaşık 30 milyon test edilmiş kişiyi kapsayan 95 Çin ve Amerika çalışmasının meta analizi, SARS-CoV-2 ile enfekte bireylerin yüzde 40,5'inin asemptomatik olduğunu bulmuştur [27]. Asemptomatik enfeksiyonu olan hastalarda objektif klinik anormallikler olabilir. Örnek olarak, tamamına BT çekilen asemptomatik enfeksiyonu olan 24 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada, hastaların yüzde 50'sinde tipik buzlu cam opasiteleri, diğer yüzde 20'sinde ise görüntüleme anormallikleri görülmüştür [28]. Beş hastada tanıdan birkaç gün sonra diğer tipik semptomlarla birlikte veya bunlar olmadan düşük dereceli ateş gelişmiştir. Temas takibi yoluyla asemptomatik enfeksiyonu tespit edilen 55 hasta üzerinde yapılan başka bir çalışmada, hastaların yüzde 67'sinde başvuru sırasında BT'de pnömoni kanıtı varken; sadece iki hastada hipoksi gelişmiş ve hastalık izleminde hepsi iyileşmiştir [29].

2.3.2. Semptomatik hastalıkta klinik seyir

Semptomatik enfeksiyonun spektrumu hafiften kritik seviyeye kadar değişmektedir; enfeksiyonların çoğu şiddetli değildir [30, 31]. Salgının ilk aylarında Çin Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi tarafından hazırlanan, yaklaşık 44.500 doğrulanmış enfeksiyonu içeren bir raporda hastaların yüzde 81'inde hafif hastalık (pnömoni yok veya hafif pnömoni), yüzde 14'ünde ciddi hastalık (örneğin nefes darlığı, hipoksi veya 24 ila 48 saat içinde yapılan görüntülemede yüzde 50'den fazla akciğer tutulumu), yüzde 5'inde kritik hastalık (örn. solunum yetmezliği, şok veya

çoklu organ fonksiyon bozukluğu) rapor edilmiştir. Genel vaka ölüm oranı yüzde 2,3'tür. Kritik olmayan vakalar arasında ölüm bildirilmemiştir.

Vaka ölüm oranı yalnızca belgelenen vakalar arasındaki ölüm oranını göstermektedir. SARS-CoV-2 enfeksiyonlarının çoğu asemptomatik olduğundan ve hafif enfeksiyonların çoğuna teşhis konulamadığından, enfeksiyonun ölüm oranı görece düşüktür ve aşılanmamış bireyler üzerinde yapılan bazı analizlerde bu oranın yüzde 0,15 ila 1 arasında olduğu tahmin edilmektedir ve ölüm oranı lokasyona ve risk gruplarına göre önemli ölçüde heterojenlik göstermektedir [32]. Aşıdan önce 53 ülkeden seroprevalans araştırmaları yoluyla toplumdaki enfeksiyonların toplam sayısını hesaplayan sistematik bir analizde, enfeksiyon ölüm oranı 15 yaşında yüzde 0,006, 30 yaşında yüzde 0,06, 50 yaşında yüzde 0,4, 70 yaşında yüzde 2,9 ve 90 yaşında yüzde 20 olarak bulunmuştur [33].

2.3.3. Ağır hastalık için risk faktörleri

Ağır hastalık her yaştaki sağlıklı bireylerde ortaya çıkabilir, ancak çoğunlukla ileri yaştaki ve/veya altta yatan belirli tıbbi hastalıkları olan yetişkinlerde görülmektedir. Spesifik demografik özellikler ve laboratuvar anormallikleri de ağır hastalıkla ilişkilendirilmiştir.

Her yaştan birey SARS-CoV-2 enfeksiyonuna yakalanabilmekte, ancak orta yaş ve üzeri yetişkinler en çok etkilenmektedir ve yaşlı yetişkinlerin ağır hastalığa yakalanma olasılığı daha yüksektir. İleri yaş aynı zamanda sürekli olarak artan ölüm oranıyla ilişkilendirilmiştir [33]. Çoklu komorbiditeler ve altta yatan durumlar, ağır hastalıkla ve ayrıca hastaneye yeniden yatışlarla ilişkilendirilmiştir [34]. Literatürde erkek cinsiyet, ileri yaş, kardiyovasküler hastalık ve diyabet, hipertansiyon ve obezite gibi ek komorbiditelerin varlığı daha ağır klinik seyir ile ilişkilendirilmiştir [3]. Amerika Birleşik Devletleri'nde rapor edilen yaklaşık 300.000 doğrulanmış COVID-19 vakasının analizinde, eşlik eden hastalıkları olduğu bildirilen hastalarda ölüm oranının, olmayanlara kıyasla 12 kat daha yüksek olduğu görülmüştür [35].

Ağır hastalık için diğer risk faktörleri arasında fiziksel hareketsizlik, düşük sosyoekonomik altyapı ve viral ve genetik faktörler yer almaktadır. Bazı demografik özellikler daha ağır hastalıklarla ilişkili görülmüştür. Erkeklerde dünya çapında birçok

grupta daha yüksek sayıda kritik vaka ve ölüm görülmüştür [36]. Belirli laboratuvar özelliklerinin daha kötü sonuçlarla ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bunlar; lenfopeni, trombositopeni, yüksek karaciğer enzimleri, yüksek LDH, yüksek inflamatuvar belirteçler (örn. CRP, ferritin) ve inflamatuvar sitokinler (örn. IL-6 ve tümör nekroz faktörü-alfa), yüksek D-dimer (>1 mcg/mL), artmış protrombin zamanı, yüksek troponin ve kreatin fosfokinazda yükselme olarak raporlanmıştır [37, 38].

Ağır COVID-19 GWAS Grubu tarafından 1980 hastada yapılan genom çapında ilişkilendirme çalışmasında 3p21.31'de yer alan rs11385942 ve 9q34.2'de yer alan rs657152 genetik varyantları ağır hastalık ile ilişkili bulunmuştur [2]. rs657152 varyantının COVID-19 hastalarında derin ven trombozu ve pulmoner emboli gibi komplikasyonlarla ilişkili olduğu göz önüne alındığında bu grup hastalarda profilaktik antikoagülan ilaçların rutinde kullanılan şemalardan farklı bir şemayla verilmesi gerekeceği düşünülebilir [6]. Wang ve ark.'larının 332 hastayı inceledikleri çalışmalarında IL-1 yolağında TMEM189-UBE2V1 lokusu ağır hastalık ile ilişkili olarak bulunmuştur. Yine aynı çalışmada HLA-A*11:01, -B*51:01 ve -C*14:02 allelleri kötü sağ kalım ile ilişkilendirilmiştir [7]. İtalya'da yapılan HLA allellerinin değerlendirildiği başka bir çalışmada da HLA-DRB1*15:01, -*06:02 ve -B*27:07 allelleri ağır klinik ile ilişkili bulunmuştur [39]. Kousathanas ve ark.'nın 224 yoğun bakım ünitesinden 7.491 kritik COVID-19 hastasını 48.400 kontrol hastasıyla karşılaştırdıkları çalışmalarında da 25 bağımsız gen lokusunun ağır hastalık ile ilişkili olduğu görülmüştür [9]. Literatürde ayrıca azalmış tip 1 ve tip 2 interferon yanıtı ile ilişkili varyantları bulunan X kromozomu üzerindeki TLR7 geni ile ilgili çalışmalar yer almaktadır. Hollanda'da bu gen bölgesi ile ilgili yapılan bir çalışmada dört genç erkek hastada ağır klinik seyir gözlenmiştir [40]. Zhang ve ark. tarafından konjenital olarak tip 1 interferon yanıtı zayıf olan bireylerde de hastalığın daha ağır seyredebildiği gösterilmiştir [41].

2.3.4. Klinik bulgular

COVID-19'un inkübasyon süresi 2-14 gündür ve vakaların çoğunda maruziyetten yaklaşık dört ila beş gün sonra aktif hastalık meydana gelmektedir. Yeni SARS-CoV-2 varyantları için ortalama inkübasyon süresi biraz daha kısa

bildirilmekte; ilk semptomlar üç gün civarında ortaya çıkmaktadır [42]. Semptomatik COVID-19 hastalarında hafif solunum semptomları (örneğin burun tıkanıklığı, hapşırma) en sık görülen semptomlardır. Diğer semptomlar olarak öksürük, miyalji, baş ağrısı, ishal, boğaz ağrısı ve koku veya tat anormallikleri görülür. İki zaman diliminde (Delta varyantının baskın olduğu Haziran - Kasım 2021 ve Omicron'un baskın olduğu Aralık 2021 - Ocak 2022) 63.000 doğrulanmış COVID-19 vakasının bildirilen klinik semptomlarını değerlendiren gözlemsel bir çalışmada, burun tıkanıklığı (yüzde 77 ila 82)), baş ağrısı (yüzde 75 ila 78), hapşırma (yüzde 63 ila 71) ve boğaz ağrısı (yüzde 61 ila 71) en sık görülen semptomlardır [43]. Pnömoni ateş, öksürük, dispne ve göğüs görüntülemesinde iki taraflı infiltrasyon ile karakterize, enfeksiyonun en sık görülen ciddi belirtisidir [18].

Başlangıçta hafif semptomları olan bazı hastalarda bir hafta içinde klinik durumda ilerleme görülebilir [44]. Wuhan'da SARS-CoV-2 nedeniyle pnömoni nedeniyle hastaneye kaldırılan 138 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada, semptomların başlangıcından itibaren ortalama beş gün sonra nefes darlığı gelişmiş ve ortalama yedi günlük semptomların ardından hastaneye kabul gerçekleşmiştir [45]. Başka bir çalışmada nefes darlığına kadar geçen sürenin ortalama sekiz gün olduğu görülmüştür [18]. COVID-19'un izlemi sırasında solunum yetmezliği, kardiyovasküler komplikasyonlar, tromboembolik komplikasyonlar, nörolojik, inflamatuvar, sekonder enfeksiyonlar gibi çeşitli komplikasyonlar ortaya çıkabilir. ARDS, ciddi hastalığı olan hastalarda en önemli komplikasyondur ve dispnenin başlangıcından kısa bir süre sonra ortaya çıkabilir. 2020'de Amerika Birleşik Devletleri'nde değerlendirilen çeşitli serilerde hastaneye yatırılan COVID-19 hastalarının yüzde 12 ila 24'ünün mekanik ventilasyona ihtiyacı olduğu ortaya çıkmıştır [34, 46]. Yine 2022 ile 2023 yılları arasında COVID-19 nedeniyle hastaneye yatırılan 4.000'den fazla hasta üzerinde yapılan prospektif bir kohort çalışmasında, hastaların yüzde 17'si yoğun bakım düzeyinde bakıma ve yüzde 10'u mekanik ventilasyona ihtiyaç duymuştur [47].

2.3.5. Laboratuvar bulguları

Hastanede yatan COVID-19 hastalarındaki yaygın laboratuvar bulguları arasında lenfopeni, yüksek aminotransaminaz seviyeleri, yüksek LDH seviyeleri,

yüksek inflamatuvar belirteçler (örn. ferritin, CRP ve ESR) ve pıhtılaşma testlerindeki anormallikler yer almıştır [48]. Toplam beyaz kan hücresi sayısı değişse de lenfopeni özellikle yaygın saptanmıştır [45]. New York'ta COVID-19 nedeniyle hastaneye yatırılan 393 yetişkin hastadan oluşan bir seride, hastaların yüzde 90'ının lenfosit sayısı <1500/mikroL saptanmış; lökositoz (>10.000/mikroL) ve lökopeni (<4.000/mikroL) yaklaşık yüzde 15 oranında rapor edilmiştir [48]. Pnömoni birçok hastanın başvuru sırasında serum prokalsitonin düzeyleri normalken; yoğun bakım ünitesi bakımına ihtiyaç duyanlarda bu değerin daha yüksek olduğu görülmüştür. Yüksek D-dimer seviyeleri ve daha şiddetli lenfopeni dahil çeşitli laboratuvar özellikleri, kritik hastalık veya ölümle ilişkilendirilmiştir [49].

2.3.6. Radyolojik özellikler

Erken veya hafif hastalıkta akciğer grafileri normal olabilir. Hong Kong'da COVID-19 olduğu belgelenen 64 hasta üzerinde yapılan retrospektif bir çalışmada, yüzde 20 hastanın hastalık sırasında herhangi bir anda akciğer grafisinde herhangi bir anormallik görülmemiştir [50]. Yaygın görülen anormal radyografi bulguları, iki taraflı, periferik ve alt akciğer bölgesi dağılımlarıyla birlikte konsolidasyon ve buzlu cam opasiteleridir. Akciğer tutulumunun hastalığın seyri boyunca artarak ve semptom başlangıcından 10 ila 12 gün sonra şiddette zirveye ulaştığı belirtilmiştir. Nispeten nadir olmasına rağmen spontan pnömotoraks meydana gelebilir [51]. İspanya genelindeki acil servislerde değerlendirilen 70.000'den fazla COVID-19 hastasının retrospektif incelemesinde, 40 hastada (yüzde 0,56) spontan pnömotoraks tespit edilmiştir [52].

COVID-19 hastalarında BT en sıklıkla konsolidasyonun eşlik ettiği veya etmediği buzlu cam opasifikasyonlarının olduğu viral pnömoni ile uyumludur. 2.700'den fazla COVID-19 hastasında akciğer tomografi bulgularını değerlendiren çalışmaların sistematik bir incelemesinde yüzde 83 buzlu cam dansitesi, yüzde 58 buzlu camla birlikte konsolidasyon, yüzde 52 plevral kalınlaşma, yüzde 48 interlobüler septal kalınlaşma, yüzde 46 hava bronkogramları tespit edilmiştir [53]. COVID-19'daki BT anormallikleri sıklıkla iki taraflıdır, periferik dağılıma sahip ve daha çok alt loblarda yer almaktadır. Radyografilerde olduğu gibi, BT bulguları da

semptomların başlamasından kısa süre sonra normal olabilir; anormalliklerin hastalık ilerledikçe gelişme olasılığı daha yüksektir [54]. Bununla birlikte, hastalarda semptomların gelişmesinden önce ve hatta üst solunum yolu örneklerinde viral RNA'nın saptanmasından önce de BT anormallikleri tanımlanmıştır [55].

2.3.7. COVID-19 spesifik tedaviler

SARS-CoV-2 için enfeksiyon, farklı müdahaleler gerektiren, hastalık ilerledikçe şiddeti artan farklı klinik belirtiler ve semptomlarla karakterize edilen dört aşamaya ayrılabilir [30, 56]. SARS-CoV-2 enfeksiyonundan ve/veya maruziyetten önceki dönem, kabul edilebilir bir güvenlik profiline sahip aşuların, nötrleştirici antikorların veya antivirallerin profilaktik uygulaması için ideal noktadır. Enfeksiyonun erken döneminde intravenöz veya oral olarak uygulanan antikor ve antiviral tedavilerin etkisi olabilir, çünkü bu dönem viral replikasyonun meydana geldiği zamandır. SARS-CoV-2 başlangıçta influenzaya benzer bir akut viral enfeksiyona neden olur. İnfluenza için antiviral ilaç tedavisinin semptomların başlangıcından sonraki ilk 48 saat içinde uygulanması gerekirken klinik çalışmalar COVID-19 tedavisine yönelik antikorların semptomların başlangıcından sonra 10 güne kadar uygulanabileceğini ve oral antivirallerin etkili olması için semptomların başlamasından sonraki 3-5 gün içerisinde uygulanabileceğini belirtmektedir [57-59]. Araştırmalar, SARS-CoV-2 viral replikasyonunun semptomların başlangıcından sonra yaklaşık 3. günde zirve yaptığını ve aşılama durumuna bağlı olarak 5,9-7,6 günde temizlenme eğiliminde olduğunu, ardından klinik belirtilerin ve hastalık şiddetinin, bağışıklık sisteminin düzensiz bir tepkisi tarafından yönlendirildiğini göstermiştir [60-62].

Pandeminin başlangıcında standart bakım öncelikle destekleyici tedavi olmuştur. Ayrıca, pandeminin ilk günlerinde azitromisin ve/veya hidroklorokin, COVID-19'un olası tedavisi olarak uygulanmış ve hastanede yatan hastalarda olası bakteriyel ko-enfeksiyonlar için, etkinliği kanıtlanmamış olmasına rağmen antibiyotikler kullanılmıştır. 2020'nin başlarında yayınlanan dokuz çalışmayı içeren bir literatür taraması, hastanede yatan COVID-19 hastalarının %72'sinin ampirik olarak antimikrobiyallerle tedavi edildiği, ancak yalnızca %8'ine bakteriyel veya

fungus bir ko-enfeksiyon tanısı konulduğu sonucuna varmıştır [63]. Azitromisin in-vitro antiviral aktiviteye sahiptir ve muhtemelen viral replikasyonu sınırlamaktadır ve hidrosiklorokin in-vitro SARS-CoV-2'ye karşı antiviral aktiviteye sahip olduğu ve viral girişi bloke ettiği gösterilmiştir; dolayısıyla bu iki molekül in-vitro olarak birleştirildiğinde SARS-CoV-2 enfeksiyonu üzerinde sinerjistik bir etkiye sahip oldukları gözlemlenmiştir [64-66]. Ancak hidrosiklorokin ve azitromisin klinik deneylerde etkili olmamıştır ve NIH Tedavi Kılavuzları Paneli tarafından COVID-19'un tedavisi veya önlenmesi için önerilmemektedir [67]. Bu rejimlerin hiçbir klinik fayda sağlamadığını gösteren daha sonraki veriler, sınırlı in-vitro verilerin ne kadar yanlış yorumlanabileceği konusunda etkili olmuştur. Benzer şekilde, yetersiz veri nedeniyle COVID-19 Tedavi Kılavuzları Paneli tarafından ampirik antimikrobiyalere yönelik spesifik öneriler desteklenmemektedir. Yüksek konsantrasyonlarda bazı RNA virüslerinde replikasyonu bozduğu düşünülen çinko dahil olmak üzere vitaminler ve mineral takviyeleri de pandeminin başlarında incelenmiştir. Hastanede yatan hastalarda hidrosiklorokine çinko eklenmesinin değerlendirildiği çok merkezli retrospektif bir kohort çalışmasında herhangi bir fayda gösterilmemiştir ve bu yaklaşım řu anda COVID-19 hastalarının tedavisinde önerilmemektedir [68].

COVID-19 enfeksiyonunun klinik belirtileri, patogenezi ve komplikasyonları daha iyi tanımlandıkça, klinisyenler solunum semptomlarının ilerlemesi açısından yüksek risk altındaki hastaların önceliklendirilmesine ve izlenmesine odaklanmıştır. NIH COVID-19 Tedavi Yönergeleri Paneli, uygun olan zamanda ek oksijenasyon sağlanmasını önermektedir ve akut hipoksemik solunum yetmezliği olan hastalarda yüksek akışlı nazal kanülün kullanılması, daha iyi sonuçlar nedeniyle invazif olmayan pozitif basınçlı ventilasyona göre tercih edilmesini önermektedir [69]. Venöz tromboembolik olayların yüksek insidansı fark edildiğinde, profilaktik antikoagülasyon, COVID-19 ile hastaneye yatırılan hastalar için kılavuzlara dahil edilmiştir. Etkili tedavilerin yokluğunda, neyin işe yaradığına dair daha fazla veri biriktik klinik öneriler gelişmeye devam etmiştir.

Proteaz inhibitörleri, lopinavir-ritonavir ve nelfinavir ile antimalaryal ilaç klorokin, SARS veya MERS koronavirüsleri için in vitro ve/veya in vivo antiviral aktiviteye sahiptir [70-72]. Ancak lopinavir ve klorokin/hidrosiklorokin in-vitro

anti-SARS aktivitesi, COVID-19 klinik çalışmalarında klinik faydaya dönüşmede başarısız olmuştur [73].

Remdesivir intravenöz infüzyonla uygulanır. Amerika Birleşik Devletleri'nde ilk COVID-19 raporlarından sadece dokuz ay sonra, hastaneye yatması gereken hastalarda başarıya ulaşan tek ajandır ve tedavi için Ekim 2020'de FDA'dan tam onay almıştır. Remdesivirin etkinliğinin bu denli hızlı gösterilebilmesi, SARS-CoV-2 salgınından önce ürünün ilgili koronavirüslere karşı in-vitro ve in-vivo aktivitesinin klinik öncesi karakterizasyonu, sağlıklı insan gönüllülerde farmakokinetik değerlendirme ve Ebola61 için başarısız bir klinik denemeden elde edilen güvenlik verileriyle mümkün olmuştur. DSÖ SOLIDARITY çalışmasında, remdesivirin ACTT-1 çalışmasından elde edilen pozitif bulguları gösterilememiştir [74]. Remdesivir ile standart bakım alan, hastanede yatan COVID-19 hastalarında gerçekleştirilen bir Faz 3 çalışmasında tek başına standart bakımla karşılaştırıldığında (DisCoVeRy, NCT04315948), 7 günden fazla semptomatik olan hastalarda remdesivir ile herhangi bir klinik fayda gözlenmemiştir [75]. Ek olarak, remdesivir tedavisinin zamanlamasının etkisi ve mortalite üzerine yapılan retrospektif bir çalışmada, semptomların başlangıcından itibaren >9 gün ile karşılaştırıldığında, semptomların başlangıcından itibaren tedavi başlangıcı ≤9 gün olan orta-şiddetli COVID-19 hastalarında anlamlı düzeyde iyileşme olduğu gösterilmiştir [76]. Bu durum ayakta tedavi gören veya bakım tesislerinde ikamet eden hastalarla yürütülen bir Faz 3 çalışması (PINETREE, NCT04501952) tarafından desteklenmiştir. Bu çalışmada, semptom başlangıcından sonraki 7 gün içinde verilen remdesivir, ciddi hastalık riski yüksek olan hastalarda hastaneye kaldırılma riskini plaseboya kıyasla %87 azalttığı görülmüştür [77]. Bu bulguların ardından remdesivirin onayı, hastaneye yatırılmayan yüksek riskli hastaları da kapsayacak şekilde genişletilmiş ve tedavisinin erken dönemde uygulanması önerilmiştir.

Ağız yoluyla uygulanan bir anti-influenza ilacı olan favipiravirin güvenliğini ve etkinliğini değerlendirmek üzere birçok ülkede klinik araştırmalar yapılmıştır [78]. Örneğin, Suudi Arabistan'da hafif COVID-19'lu yetişkin hastalarda yürütülen randomize, çift kör, çok merkezli ve plasebo kontrollü bir çalışmada, toplam 5-7 gün boyunca 1. günde iki kez 1.800 mg favipiravir uygulanmış ve ardından günde iki kez 800 mg (n = 112) uygulanmıştır. Bu çalışma favipiravirin tedaviye başladıktan sonraki

15 gün içinde viral temizlenme süresini azaltmadığını ve tedavinin etkili olmadığını ortaya koymuştur [79]. Randomize bir Faz 3 çalışmada, aşırı kilolu veya obez yetişkinlerde COVID-19'un erken tedavisi için yeniden tasarlanmış üç ilaç (ivermektin, metformin ve fluvoksamin) değerlendirilmiştir. Üç ilacın hiçbiri hipoksemi, acil servise başvuru, hastaneye yatış veya ölüm olarak tanımlanan ciddi bir sonucun önlenmesinde anlamlı bir etkiye sahip değildir [80].

Ayakta tedavi görenlerde yapılan MOVE-OUT çalışması, erken tedavinin (≤ 5 gün) plaseboyla karşılaştırıldığında risk altındaki hastalarda hastaneye kaldırılma veya ölüm riskini azalttığını göstermiştir [81]. Molnupiravir, 23 Aralık 2021'de Amerika Birleşik Devletleri'nde, hastaneye kaldırılma veya ölüm de dahil olmak üzere şiddetli COVID-19'a ilerleme riski yüksek olan yetişkinlerde hafif-orta şiddetteki COVID-19'un tedavisi için acil kullanım izni almıştır. Bununla birlikte, Birleşik Krallık'ta sonraki dönemde yapılan bir çalışma, molnupiravirin, yüksek riskli aşılanmış yetişkinlerde (≥ 50 yaş veya yüksek riskli bir durumla birlikte 18-49 yaş) COVID-19 ile ilişkili hastaneye yatış veya ölüm sıklığını azaltmadığını göstermiştir [82].

Salgının ilk aşamalarında, kan ürünlerinin pasif transfüzyonu sıklıkla kullanılmıştır ve 2020'nin başlarındaki bir dizi vaka raporu, konvalesan plazma kullanımının COVID-19 hastalarına fayda sağladığına dair kanıtlar bildirmiştir [83]. Bununla birlikte, bu tedavinin toplama, patojen inaktivasyonu ve dozajın standardizasyonu gibi zorlukları olmuştur. Bu sınırlamalara rağmen immün sistemi baskılanmış hastalara ve semptom başlangıcından önce hastaneye yatırılan hastalara plazma infüzyonu uygulanabilmektedir.

Antiinflamatuvar ve immünomodülatör ilaçlar kullanarak konakçı tepkilerini hedeflemek, COVID-19'un ileri aşamalarında faydalı olmuştur. Örneğin, kortikosteroidlerle (deksametazon) tedavi, standart bakım alan hastalarla karşılaştırıldığında, oksijen desteği alan veya invazif mekanik ventilasyon gerektiren, COVID-19 nedeniyle hastaneye yatırılan hastalarda 28 günlük bir süre içinde mortaliteyi azaltmıştır (%29,3 vs. %41,4) [84]. Ancak tedavi, aktif viremi olan hastalar için potansiyel olarak zararlı olabilir. Janus kinazın ağızdan uygulanan immünomodülatör inhibitörü barisitinibin (Olumiant, Eli Lilly), remdesivir ile kombinasyonu, ileri evre hastalığı olan hastanede yatan hastalarda, remdesivir ile

plaseboya kıyasla tedaviye başladıktan sonra 29 gün içinde iyileşme süresini azaltmıştır [85]. Kortikosteroidler ve barisitinib kombinasyonu DSÖ tarafından ciddi veya kritik COVID-19 hastalarına tavsiye edilmektedir [86]. Mayıs 2022'de barisitinib, çeşitli derecelerde oksijen desteğine ihtiyaç duyan, hastanede yatan yetişkinlerde COVID-19 tedavisi için FDA tarafından onaylanırken, Aralık 2022'de firma, barisitinibin hastanede yatan ve oksijen desteğine ihtiyaç duyan COVID-19 hastalarının tedavisinde kullanımına yönelik Avrupa Birliği pazarlama izni başvurusunu geri çekmiştir.

Bir IL-1 inhibitörü olan anakinra solunum yetmezliği ve inflamasyon kanıtı olan hastanede yatan COVID-19 hastalarında mortaliteye karşı önemli bir fayda sağlarken (Hazard oranı, 0,450; %95 güven aralığı, 0,204–0,990; $p = 0,047$), IL-6 inhibitörlerinin (IL-6 ve IL-6 reseptörüne monoklonal antikolar) bu değerlendirmede bir etkisi olmamıştır (Hazard oranı, 0,900; %95 güven aralığı, 0,412–1,966; $p = 0,79$) [87]. Ancak bu çalışma 62'sinin bir IL-1 inhibitörü ve 55'inin bir IL-6 inhibitörü aldığı az sayıda hastayı içeren, gözlemsel bir kohort çalışmasıydı. Hipoksi ve sistemik inflamasyonu olan, hastanede yatan COVID-19 hastalarında yapılan büyük randomize, kontrollü, açık etiketli platform ReCOVERY klinik çalışmasında, IL-6'ya karşı monoklonal bir antikor olan tosilizumab klinik parametrelerde ve 28 günlük mortalitede olumlu sonuçlar sağlamıştır [88].

COVID-19, çeşitli organ sistemlerini olumsuz yönde etkileyen sistemik bir hastalıktır. COVID-19 hiperkoagülopatisine ilişkin bir inceleme, kritik hastalarda hem mikroanjyopatiyi hem de lokal trombüs oluşumunu ve büyük damar trombozuna ve pulmoner emboli dahil majör tromboembolik komplikasyonlara yol açan sistemik pıhtılaşma defektini uygun bir şekilde tanımlamaktadır [89]. Sepsisin pıhtılaşma sistemini aktive ettiği kabul edilirken, COVID-19 inflamasyonunun koagülopatiyi etkilediği kesin mekanizma tam olarak anlaşılmamıştır. Birkaç retrospektif kohort çalışması, hastanede yatan kritik durumdaki COVID-19 hastalarında terapötik ve profilaktik antikoagülan dozlarının kullanımını raporlamıştır. D-dimer düzeyleri 2 mcg/mL'den yüksek olanlar da dahil olmak üzere standart derin ven trombozu profilaksisi dozları alan 95 hastayla karşılaştırıldığında terapötik antikoagülan dozlarıyla ampirik olarak tedavi edilen 46 hastada 28 günlük mortalite açısından hiçbir fark gözlenmemiştir. Bu çalışmada, 0. Gün entübasyonun yapıldığı gün olduğundan,

tanı sırasında empirik terapötik antikoagülasyon alan hastalarda entübasyona gidişin engellenip engellenmediği değerlendirilememiştir [90]. ACTIV-4B çalışması antikoagülanların veya antitrombotik tedavinin, yeni tanı almış ve hastaneye yatmayı gerektirmeyen COVID-19 hastalarında hayatı tehdit eden kardiyovasküler veya pulmoner komplikasyonları azaltıp azaltamayacağını araştırmak için 2020 ortalarında başlatılmış, katılımcılar plasebo, aspirin, düşük veya terapötik dozda apiksaban almak üzere randomize edilmiştir. Bu çalışmada hafif semptomatik, klinik olarak stabil COVID-19 hastalarında, majör kardiyo-pulmoner komplikasyon oranlarının çok düşük olduğu ve önleyici antikoagülan veya antitrombosit tedavisinin klinik olarak ek bulgu olmadıkça verilmemesi gerektiği bildirilmiştir [91]. Hastanede yatan COVID-19 hastaları için Ağustos 2021'de yayınlanan sonuçlar, tam doz antikoagülasyonun (cilt altı düşük molekül ağırlıklı heparin veya intravenöz fraksiyone olmayan heparin ile terapötik dozda parenteral antikoagülasyon) orta derecede ağırlıktaki hastanede yatan hastalarda organ desteği ihtiyacını azalttığını göstermiş ancak benzer durum kritik hastalarda gösterilememiştir [92, 93]. Ek olarak, kritik hastalarda tam doz antikoagülasyonun, olağan tromboprofilaksiye göre daha zararlı olabileceği belirtilmiştir. Bu durum yazarların, hastalığın ciddiyetine bakılmaksızın, hastanede yatan tüm COVID-19 hastaları için profilaktik antikoagülasyon önermesine yol açmıştır [94].

2.4. Viral genetik varyantlar

SARS-CoV-2'nin genetik yapısı, ~30.000 nükleotid içeren 13-15 (12 fonksiyonel) açık okuma çerçevesinden (ORF) oluşmaktadır. ORF'lerin genetik düzeni SARS-CoV ve MERS-CoV'ye oldukça benzemektedir [95, 96]. Diğer virüsler gibi SARS-CoV-2 de zamanla değişmiştir. SARS-CoV-2 genomundaki çoğu mutasyonun viral fonksiyon üzerinde hiçbir etkisi yoktur. Bazı varyantlar, popülasyonlarda hızlı bir şekilde ortaya çıkmaları ve bulaşma veya klinik uygulamalara ilişkin kanıtlar nedeniyle geniş çapta ilgi toplamış ve bunlar endişe verici değişkenler olarak kabul edilmiştir. Her varyantın, farklı filogenetik sınıflandırma sistemleri tarafından kullanılan terminolojiye dayalı olarak çeşitli isimleri vardır; DSÖ ayrıca Yunan alfabesini temel alan önemli varyantlar için etiketler belirlemiştir.

Alfa (B.1.1.7) varyantı ilk olarak 2020 yılının sonuna doğru İngiltere’de tanımlanmış ve delta varyantı çıkana kadar dünya genelinde en yaygın varyant olmuştur. Döneminde daha önceki varyantlara göre %50-75 daha bulaşıcı olduğu gözlenmiştir [97]. Beta (B.1.351) varyantı ilk olarak Güney Afrika’da tanımlanmış ve dünya genelinde çok yayılmamıştır. Beta varyantıyla ilgili temel endişe, immün yanıtın kaçması olmuştur. İyileşme döneminde ve aşılama sonrası plazma, Beta spike proteini ve vahşi tip spike proteini içeren viral yapıları nötralize edememiştir [98]. Gama varyantı (P.1) Japonya, Brezilya ve daha sonra Amerika Birleşik Devletleri de dahil olmak üzere diğer ülkelerde tanımlanmasına rağmen, küresel olarak baskın bir varyant haline gelmemiştir. Varyanttaki çeşitli mutasyonlar, artan bulaşıcılık ve bağışıklık üzerindeki etkiye ilişkin endişeleri arttırmıştır [99]. Delta varyantı (B.1.617.2) ilk olarak Aralık 2020’de Hindistan’da tanımlanmış ve Omicron varyantı ortaya çıkana kadar dünya çapındaki en yaygın varyant olmuştur. Alfa varyantı ile karşılaştırıldığında Delta varyantı daha bulaşıcıdır ve daha yüksek ciddi hastalık ve hastaneye kaldırılma riskiyle ilişkilendirilmiştir [100]. Çeşitli çalışmalar, aşının etkinliğinin Delta’nın semptomatik enfeksiyonuna karşı biraz zayıfladığını, ancak ciddi hastalık ve hastaneye yatışlara karşı etkinin yüksek olduğunu ileri sürmektedir [101].

Omicron varyantı (B.1.1.529) ilk olarak Botsvana’dan ve çok geçmeden Kasım 2021’de Güney Afrika’dan bildirilmiştir. Güney Afrika’da bölgesel enfeksiyonlardaki artışla ilişkilendirilmiş ve rapor edilen enfeksiyonlardaki keskin artışlarla benzer şekilde ilişkili olduğu birçok başka ülkede de hemen tanımlanmıştır [102-104]. Daha sonra, önceki baskın alt soyun yerini alarak giderek daha fazla replikasyon avantajına sahip Omicron alt soyları ortaya çıkmıştır. Orijinal Omicron varyantı BA.1 iken, ardından BA.2 alt soyu ortaya çıkmış ve bu alt soy daha sonra BA.4 ve BA.5’e yerini vermiştir [105]. BQ.1, BQ.11, BF.7, BA.2.75 ve XBB (XBB.1, XBB.1.5 ve XBB.1.6 dahil) gibi diğer Omicron alt soylarının dünya çapında yaygınlığı başlangıçta artmış ve daha sonra azalmıştır. Ağustos 2023 itibarıyla, diğer iki Omicron alt soyu, EG.5 (XBB.1.5 ile ilişkili) [14] ve BA.2.86 (BA.2’nin uzak bir soyundan gelen) artan prevalans ve ek mutasyonların sayısı açısından önem göstermiştir [106].

Birçok Omicron alt soyunun Delta varyantına göre replikasyon avantajı olduğu, enfeksiyon ve aşının neden olduğu humoral bağışıklıktan önceki varyantlara

göre daha büyük ölçüde kaçabildiği bildirilmiştir. Ayrıca bu varyantların diğer varyantlara göre daha az şiddetli hastalıkla ilişkili olduğu belirtilmiştir. Her bir yeni Omicron alt soyunun ortaya çıkışı, SARS-CoV-2 enfeksiyonlarındaki yerel artışlarla ilişkilendirilmiştir; bu, önceki baskın varyant veya alt soya göre bir replikasyon avantajı olduğunu düşündürmüştür. Omicron (özellikle BA.1 alt soyunun) Delta ile karşılaştırıldığında daha yüksek ikincil salgın oranıyla da ilişkilendirilmiştir [107]. Omicron BA.1 enfeksiyonu olan hastaların evdeki temasları üzerine yapılan bir başka araştırma, yüzde 53'lük bir ikincil atak oranının olduğunu ortaya koymuş; bu oran, indeks hastanın aşılama durumuna ve evdeki önleyici tedbirlerin kullanımına göre değişmiştir [108]. Omicron alt soylarının, kendilerinden önceki varyantlara göre doğası gereği daha bulaşıcı olup olmadığı belirsizdir. ACE2 reseptörüne yönelik artan afinitenin yanı sıra bağışıklık kaçışı, XBB.1.5 alt soyunun ve öncüllerinin replikasyon avantajı için öne sürülen açıklamalardır. Omikron varyantları humoral bağışıklıktan kaçabilir ve daha önce farklı bir suşla enfekte olmuş bireylerde daha yüksek yeniden enfeksiyon riskiyle ilişkilidir. Güney Afrika'dan ulusal sürveyans verilerini değerlendiren bir çalışmada, Omicron BA.1 varyantıyla ilişkili vaka artışının başlangıcında yeniden enfeksiyonların (daha önceki pozitif testten en az 90 gün sonra tekrarlanan pozitif test) birincil enfeksiyonlara oranı Beta ve Delta suşlarıyla ilişkili dalgalanmalara kıyasla daha yüksek bulunmuştur [109]. Katar'da yapılan bir vaka kontrol çalışmasında da benzer bulgular rapor edilmiş; bu çalışmada daha önce geçirilmiş bir enfeksiyon öyküsü, Alfa, Delta veya Beta varyantlarıyla enfeksiyon riskinin yüzde 85 ila 90 daha düşük olduğu, ancak Omicron BA.1'de yalnızca yüzde 56 daha düşük risk ile ilişkilendirilmiştir [110]. Bu gözlemler, daha önce enfeksiyon geçirmiş veya önceden aşılansmış bireylerden alınan serumların, Omicron'u ve diğer varyantları nötralize etmediği çeşitli laboratuvarlardan elde edilen bulgularla da desteklenmektedir; bazı durumlarda Omicron'a karşı nötrleştirici aktivite hem iyileşme döneminde hem de aşılama sonrası serumlarda tespit edilememiştir [111, 112]. Bununla birlikte, in vitro çalışmalar düşük antikor çapraz reaktivitesini öne sürse bile, bir Omicron alt değişkeniyle önceden enfeksiyon, diğer bazı alt değişkenlerle daha sonra enfeksiyona karşı hala bir miktar koruma sağlayabilir. Örnek olarak, BA.1 veya BA.2 enfeksiyonunu takiben BA.4 ve BA.5 ile yeniden enfeksiyon riski, Omicron

öncesi bir varyantla enfeksiyonu takiben olacak enfeksiyona göre daha düşüktür [110, 113, 114].

Hastalık ciddiyeti açısından bakıldığında; çok sayıda çalışmadan elde edilen veriler, Omicron enfeksiyonu ile ciddi hastalık veya ölüm riskinin, daha önceki endişe verici varyantlara göre daha düşük olduğunu göstermektedir [115-121]. İngiltere'den yapılan bir analiz, Omicron ile hastaneye kaldırılma veya ölüm riskinin, yaş, cinsiyet, aşı durumu ve önceki enfeksiyona göre düzeltildiğinde Delta'ya göre yaklaşık üçte biri olduğunu tahmin etmiştir [118]. Kanıtlar ayrıca BA.4 ve BA.5 ile ciddi hastalık riskinin daha önceki Omicron alt soylarıyla benzer olduğunu göstermektedir [122]. Omicron ile bireysel ciddi hastalık riski önceki varyantlara göre daha düşük olsa bile, ilişkili vakaların yüksek sayısı, diğer varyantlarla karşılaştırıldığında yine de COVID-19 ile ilişkili hastaneye yatışların ve ölümlerin kümülatif fazlalığıyla ilişkilidir [123]. Şiddetli hastalık riskinin azalması, önceki enfeksiyon veya aşılamanın sağladığı kısmi korumayı yansıtır olabilir. Ancak hayvan çalışmaları, diğer varyantlarla karşılaştırıldığında Omicron'un akciğer dokusunda daha düşük viral düzeylerde olduğunu ve daha hafif klinik özelliklerle ilişkili olduğunu göstermektedir. Bu durum Omicron enfeksiyonunun doğası gereği daha az şiddetli olabileceğine dair daha fazla destek sağlamaktadır [124].

3. BİREYLER VE YÖNTEM

Bu çalışma; Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Erişkin Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji ve İç Hastalıkları Servisleri ve İç Hastalıkları COVID-19 Yoğun Bakım Ünitesi'nde takip edilen COVID-19 hastalarının verileri kullanılarak gerçekleştirildi. Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan GO 2021/02-22 numarasıyla onay alındıktan sonra 20 Ocak 2021 ve 1 Temmuz 2021 tarihleri arasında takip edilen COVID-19 PCR testi pozitif olan 18 yaş ve üzerindeki hastalardan yazılı onam verenler çalışmaya dahil edildi. Ayrıca hasta sayısının artırılması amacıyla 2020/20-102 etik kurul numaralı "Global İnfluenza Hastane Sürveyans Ağ Projesi 2020-21, Türkiye" influenza benzeri hastalık tanısıyla hastaneye yatırılan ve SARS-CoV-2 viral genom sekans verisi olan 18 yaş ve üzerindeki hastalar da çalışmaya eklendi.

Çalışma sürecinde aşağıdaki kriterlerden en az birine sahip olan COVID-19 hastaları yoğun bakım ünitesine kabul edildi:

- Solunum hızı >30 /dk,
- Dispne ve solunum sıkıntısı varlığı,
- $PaO_2/FiO_2 < 300$ mmHg,
- Takip sırasında oksijen ihtiyacının artması,
- 5L/dak O_2 desteğine rağmen $SpO_2 < \%90$ veya $PO_2 < 70$ mmHg,
- Hipotansiyon (Sistolik kan basıncı < 90 mmHg veya normalden 40 mmHg'den fazla düşmesi veya ortalama arteriyel kan basıncı < 65 mmHg olması),
- Akut böbrek hasarı gibi akut organ fonksiyon bozukluklarının gelişmesi, karaciğer fonksiyon testlerinde akut yükselme, konfüzyon, akut kanama diyatezi,
- Aritmi ile birlikte serum troponin yüksekliği,
- Laktat > 2 mmol/L olması

Her hasta için yaş, cinsiyet, SARS-CoV-2 PCR pozitiflik tarihi ve yatış süreleri kaydedildi. 149 hastanın yatış epikrizi değerlendirilerek Tablo 3.1'de gösterilen tanımlara göre komorbiditeler belirlendi ve her hasta için kümülatif hastalık yükünü ölçebilmek amacıyla 19 parametreyle değerlendirilen ve yaş ile birlikte değerlendirildiğinde bir yıllık tahmini hayatta kalma ihtimalini verebilen Charlson Komorbidite İndeksi hesaplandı (Tablo 3.2)[125]. Epikrizlerdeki hekim beyanları esas

kabul edildi ve epikrizlerde hastaların tanıları belirtildiğinde Tablo 3.1'deki tanımlara uyum şartı aranmadı. Hastalara ilişkin kimlik bilgileri anonimleştirildi.



Tablo 3.1: Hasta epikrizlerindeki komorbiditelerin tanımları

Diyabet	Herhangi bir antidiyabetik ilaç kullanım öyküsü, herhangi bir andaki HbA1c>6,5 olması
Organ hasarı olan diyabet	Diyabet tanısına ek olarak epikrizde nefropati, nöropati ya da retinopatiyi düşündürecek bulgu olması
Böbrek hastalığı	Glomerüler filtrasyon hızının 60 ml/dk'nın altında olması veya proteinüri ya da hematüri varlığı
Böbrek yetmezliği	Glomerüler filtrasyon hızının 15 ml/dk/1,73m ² 'nin altında olması
Konjestif kalp yetmezliği	Ejeksiyon fraksiyonu <%50 olması ve beraberinde epikrizde efor dispnesi, paroksizmal noktürnal dispne, bilateral plevral effüzyon gibi bulguların varlığı
Periferik arter hastalığı	Doppler ultrason ya da periferik anjiyografide obstrüksiyon varlığı veya hastada kladikasyo intermittansın olması
Serebrovasküler hastalık	Geçici iskemik atak veya serebrovasküler olay varlığı
Demans	Kolinesteraz inhibitörleri veya N-metil-D-aspartik asit antagonistlerinin kullanımının olması
Kronik pulmoner hastalık	Astım, KOAH ya da diğer kronik akciğer hastalıklarının varlığı
Romatolojik hastalık	Sistemik lupus eritematozus, polimiyozit, mikst bağ doku hastalığı, romatoid artrit, polimyaljia romatika, herhangi bir sistemik vaskülit veya sarkoidoz varlığı
Peptik ülser öyküsü	Peptik ülserle yönelik tedavi alıyor olma veya peptik ülserle bağlı kanama öyküsü olması
Hafif karaciğer hastalığı	Portal hipertansiyon bulguları olmadan kronik B, kronik C enfeksiyonu ya da siroz varlığı
Orta karaciğer hastalığı	Kanama öyküsü olmadan sirozla birlikte portal hipertansiyon varlığı
Ağır karaciğer hastalığı	Dekompanse siroz varlığı
Gastrointestinal hastalık	İnflamatuvar barsak hastalığı varlığı
Malignite	Bazal hücreli kanser haricinde herhangi bir malignite tanısına yönelik onkoloji bölümünün izleminde olunması
Lösemi	Akut ya da kronik myeloid lösemi, akut ya da kronik lenfositik lösemi ya da polisitemia vera varlığı
Lenfoma	Hodgkin, Non-Hodkhin lenfoma, myeloma veya Waldenström makroglobulinemisinin varlığı
HIV/AIDS	Asemptomatik olarak HIV pozitif olma veya HIV pozitifliğiyle birlikte HIV-ilişkili hastalığa sahip olma

Tablo 3.2: Charlson Komorbidite İndeksi puanlama cetveli

Puanlama	Morbidite
1	Geçirilmiş miyokard infarktüsü Konjestif kalp yetmezliği Periferik arter hastalığı Demans Serebrovasküler hastalık Kronik akciğer hastalığı Romatolojik hastalık Organ hasarı olmayan diyabet Peptik ülser Hafif karaciğer hastalığı 40 yaş üstü her 10 yıl için
2	Serebrovasküler hastalık ve hemipleji Kreatinin > 3mg/dl veya kronik böbrek yetmezliği Organ hasarı olan diyabet Malignite Lösemi Lenfoma
3	Orta veya ağır karaciğer hastalığı
6	Metastatik hastalık HIV/AIDS

Hasta epikrizlerinden hastaların yatış tarihinden serviste izlendiyse taburculuk tarihine, yoğun bakımda izlendiyse yoğun bakım yatışının 72. saatine kadar olan dönemine kadar immünoşüpresif ilaç kullanımı, antiviraller, antibiyotikler ve antibiyotiklerin kullanım endikasyonları kaydedildi.

COVID-19 hastalarında laboratuvar sonuçları günler hatta saatler içerisinde değişebildiğinden, tercihen göğüs tomografisi, aksi taktirde akciğer grafisi çekilen gün gönderilen laboratuvar sonuçları analizlere dahil edildi. Sonuç değişkeni yoğun bakım yatışı olarak kabul edildiği için birden fazla görüntülemesi olan hastalarda yoğun bakım yatışına, ya da servis izlem grubundaki hastalarda taburculuğa en yakın görüntüleme gününe ait olan laboratuvar sonuçları kaydedildi. 149 hastanın kaydedilen 22 laboratuvar özelliğinden ESR altı hastada (%4), troponin-I ve miyogloblin ise on üç

hastada (%8,7) eksikti, eksik olan bu değerler için ortalama yerine koyma işlemi gerçekleştirildi.

Viral izolatlar bilinci açık olan hastalardan nazofaringeal sürüntü ve orofaringeal sürüntü ile kombine edilmiş nazal örnek, entübe hastalardan trakeal aspirat olarak alındı. Açık tomurcuklu Sigma SwabTM ile VirocultTM ortamını birleştiren Medical Wire M40-A Uyumlu Sigma-VirocultTM Viral Toplama ve Taşıma Sistemi kullanıldı. Toplam nükleik asit ekstraksiyonu için EZ1 Virus mini kit V2.0 (Katalog numarası: 955134, Qiagen, Almanya) kullanıldı. Numuneler, nükleik asit ekstraksiyonundan sonra doğrudan sekanslama platformuna yerleştirildi. Kütüphane hazırlığı, Respiratory Virus Oligos Panel V2 (Illumina Inc., #20044311) ve Illumina RNA Prep with Enrichment, (L) Tagmentation (Illumina Inc., #20040537) kitleri kullanılarak resmi protokole göre gerçekleştirildi. Sıralamadan önce kütüphanelerin miktarı ölçüldü ve Qubit 4 Fluorometer (ThermoFisher Inc.) ve 2100 Bioanalyzer sistemlerinde (Agilent Inc.) kontrol edildi. Sıralama, Illumina NextSeq 550 platformlarında örnek başına ortalama 1.000.000 okuma (2x150 bp) ile gerçekleştirildi. Ham verilerin kalite kontrolü FASTQC aracı kullanılarak analiz edildi. Kaliteden geçen numuneler, biyoinformatik analiz için BaseSpace'e (Illumina Inc.) yüklendi. Veriler, BaseSpace platformundaki DRAGEN COVID Lineage uygulaması (v.3.5.4) kullanılarak analiz edildi. Düşük kaliteli ve düşük değişkenli fraksiyon varyantları filtrelendi (kapsama > 10).

Viral genom dizileri GISAID veri tabanına yüklendikten sonra tekrar indirildi ve Nextclade CLI (v.2.12.0) paketi, nükleotid ve amino asit mutasyonları ve varyant sınıflarının tanımlanması için kullanıldı. Referans genom SARS-CoV-2 izolatı Wuhan-Hu-1, GenBank: MN908947.3 olarak belirlendi. İzole edilmiş çalışma suşlarının filogenetik ağaç yapısı, ModelFinder yaklaşımıyla elde edilen en düşük Bayesian Bilgi Kriteri (BIC) puanına göre optimize edilmiş bir ikame modeli (GTR+F+I) kullanılarak gerçekleştirildi ve IQ-TREE yazılımı üzerinde ultra hızlı önyükleme analizi (175 yineleme) yapıldı. (v.1.6.12). Filogenetik ağacın görselleştirmesi ggtree (v.3.8.0) R paketi kullanılarak tamamlandı.

İnsan genetik varyant analizi için bilinci açık hastalardan tükürük örneği, yoğun bakım izleminde bilinci kapalı olan ya da tükürük örneği veremeyen hastalardan derin trakeal aspirat ile örnek alındı. Alınan materyalden DNA izolasyonu

Biyogüvenlik Seviye 2 (BGS-2) koşullarında Norgen Saliva DNA İzolasyon Protokolü ile rutin moleküler biyoloji teknikleri uygulanarak yapıldı. Çalışma örnekleri tek nükleotid varyant genotiplendirmesi için hazırlandı ve işlem akışına göre -20°C’de saklandı. Tek nükleotid genotiplendirilmesi Tablo 3.3’te belirlenen lokuslar için multipleks sekanslama ile yapıldı. Belirlenen varyantlar ön planda Kousathanas ve ark.’nın çalışmasından seçildi ve varyantların genotiplendirilmesi için ilk basamak olan PCR ile DNA’nın çoğaltılması işlemlerinde kullanılmak üzere uygun primer setleri ODTÜ Enformatik Enstitüsü KANSİL Genom Laboratuvarları’nda PyroMark Q24 ile tasarlandı. Hastalığın genom izolasyonundan elde edilen DNA ile varyantlara ait bölge PCR ile çoğaltıldı[9]. Jel elektroforezi ile PCR ürünleri doğrulandı. Varyant bulma işlemleri, bwa ve samtools gibi araçlar kullanılarak kalite kontrollerini ve insan genomuyla (Hg38) hizalamayı ve ardından freeBayes ile varyant tanımlamayı içeriyordu. Yalnızca yeterli okuma derinliğine sahip bölgelerdeki değişkenler dikkate alındı.

Tablo 3.3: Çalışmada incelenen insan genetik varyantları

Polimorfizm	Gen	Lokasyon (hg38)	Allel	Frekans*
rs11088551	TMPRSS2	chr21:41508389	A>G	0,42
rs1123573	BCL11A	chr2:60480453	A>G	0,38
rs12610495	DPP9	chr19:4717660	A>G	0,28
rs1548474	ACE2	chrX:15621438	T>G	0,28
rs17574	DPP4	chr2:162073469	A>G	0,34
rs17860115	IFNAR2	chr21:33230000	C>A	0,32
rs2298659	TMPRSS2	chr21:41473447	G>A	0,23
rs2298661	TMPRSS2	chr21:41473715	C>A	0,16
rs35899679	TMPRSS2	chr21:41491393	C>A	0,34
rs4303794	TMPRSS2	chr21:41508379	A>C	0,42
rs463727	TMPRSS2	chr21:41464259	T>A	0,45
rs61882275	ELF5	chr11:34482745	G>A	0,37
rs8178521	IL10RB	chr21:33287378	C>T	0,26
rs9271609	HLA-DRB1	chr6:32623820	T>C	0,28

*ALFA: Allel Frekans Çalışması Avrupa frekansı baz alınmıştır[126].

Veriler R versiyon 4.3.0 ile analiz edildi. Frekans ve yüzde dağılımlarını hesaplamak için tanımlayıcı istatistikler kullanıldı. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu histogram incelemeleri ve Kolmogorov – Simirnov testi ile değerlendirildi. Değerler normal dağılıma uyduğunda ortalama \pm standart deviasyon, uymadığında ortanca (25-75. persentil) olarak gösterildi. Hasta gruplarında sayısal verilerin karşılaştırılması yerine göre bağımsız örneklerde t-testi ve Mann-Whitney U-testi ile, nominal verilerin karşılaştırılması Fisher Ki-kare testi ile yapıldı. Çok değişkenli lojistik regresyon analizinde olası bütün regresyon modellerinin değerlendirilebilmesi için alt küme regresyon modelleri üretildi ve en iyi model, dolayısıyla kullanılacak bağımsız değişkenler, en düşük Mallow's C_p ile belirlendi. Yüksek boyutlu verinin değerlendirilmesinde değişken seçimi için Boruta algoritması kullanıldı [127]. İstatistiksel anlamlılık sınırı tip 1 hatanın %5'in altında olduğu ($p < 0.05$) durumlar olarak belirlendi.

Seyrek kanonik korelasyon analizi için aynı gözlem kümesinde $n \times p$ ve $n \times q$ boyutlarında X ve Z adında iki veri matrisimiz olduğunu varsayalım:

$$X = \begin{bmatrix} x_{11} & x_{12} & \cdots & x_{1p} \\ x_{21} & x_{22} & \cdots & x_{2p} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ x_{n1} & x_{n2} & \cdots & x_{np} \end{bmatrix} \quad Z = \begin{bmatrix} z_{11} & z_{12} & \cdots & z_{1q} \\ z_{21} & z_{22} & \cdots & z_{2q} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ z_{n1} & z_{n2} & \cdots & z_{nq} \end{bmatrix}$$

CCA, X ve Z 'deki maksimum düzeyde korelasyona sahip değişkenlerin doğrusal kombinasyonlarını (kanonik değişkenler) belirlemektedir. Yani, $u_1 = (u_{11}, u_{21}, \dots, u_{p1})^T$ ve $v_1 = (v_{11}, v_{21}, \dots, v_{q1})^T$ $corr(Xu_1, Zv_1)$ 'i maksimuma çıkarmaktadır. Burada u_1 ve v_1 kanonik vektörler ve Xu_1 ve Zv_1 kanonik değişkenler olarak adlandırılmaktadır. u ve v , birbiriyle ilişkili olmayan K kanonik vektörleri için $p \times K$ ve $q \times K$ boyutlarına sahiptir. Seyrek CCA, $u^T X^T Z v$ optimize edilecek şekilde seyrek kanonik u ve v vektörlerini bulmayı amaçlamaktadır. Analiz, seyreklik parametrelerini seçmek için CCA.permute fonksiyonunun kullanıldığı PMA (v.1.2.1) paketi kullanılarak gerçekleştirildi.

4. BULGULAR

Toplamda 149 hasta çalışmaya dahil edildi. 63 hasta (%42,3) yoğun bakım ünitesine yatırıldı (Tablo 4.1). Ortalama yaş $57,6 \pm 16,2$ yıl olup 61 hasta (%40,9) kadındı. Hipertansiyon (%48,3), diyabet (%29,5) ve koroner arter hastalığı (%22,1) en sık eşlik eden hastalıklardı. Yoğun bakım izlem grubunda yaş ortalaması servis grubuna göre daha yüksekti ($63,9 \pm 15,0$ vs. $53,1 \pm 15,6$, $p < 0,001$). Herhangi bir kronik hastalığa sahip olan hasta sayısı yoğun bakım izlem grubunda 56 (%88,9), servis izlem grubunda 55 (%64) idi ($p < 0,001$). Yaşa göre düzeltilmiş CCI ortancası yoğun bakımda yatan hastalarda 4 (3-6), servis grubunda 2 (1-4) idi ($p < 0,001$). Altta yatan immünoşüpresif hastalık varlığı ve COVID-19 aşı öyküsü açısından her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Yoğun bakım izlem grubunda servis izlem grubuna göre steroid, favipiravir ve antibiyotik tedavileri daha sık uygulanmıştı. Yoğun bakım izlem grubunda antibiyotik tedavi endikasyonları değerlendirildiği zaman bakteriyel pnömoni / ampiyem ve klinik sepsis tanılarıyla daha sık antibiyotik başlandığı görüldü. Hastane yatış gün ortancası değeri yoğun bakım izlem grubunda 15 (10,5-31,5) gün, servis izlem grubunda 10 (6-14,75) gün idi ve istatistiksel olarak iki grup arasında anlamlı fark bulunuyordu ($p < 0,001$).

Tablo 4.1: Hastaların klinik özellikleri

Değişkenler	Yoğun bakım izlemi (n=63)	Servis izlemi (n=86)	p değeri
Yaş*	63,9 (15,0)	53,1 (15,6)	< 0,001
Kadın cinsiyet	26 (%41,3)	35 (%40,7)	1
Kronik hastalık varlığı	56 (%88,9)	55 (%64,0)	< 0,001
Komorbiditeler			
Hipertansiyon	38 (%60,3)	34 (%39,6)	0,02
Diyabet	22 (%34,9)	22 (%25,6)	0,29
Koroner arter hastalığı	22 (%34,9)	11 (%12,8)	0,003
Solid organ malignitesi	13 (%20,6)	19 (%22,1)	0,99
Böbrek hastalığı	13 (%20,6)	10 (%11,6)	0,20
Kalp yetmezliği	14 (%22,2)	6 (%7,0)	0,01
Kronik akciğer hastalığı	12 (%19,0)	7 (%8,1)	0,08
Hematolojik malignite	4 (%6,3)	7 (%8,1)	0,76
Romatolojik hastalık	4 (%6,3)	3 (%3,5)	0,46
Serebrovasküler hastalık	2 (%3,2)	3 (%3,5)	1
Periferik arter hastalığı	1 (%1,6)	1 (%1,2)	1
Demans	2 (%3,2)	0 (%0,0)	0,18
Kronik haraciğer hastalığı	0 (%0,0)	2 (%2,3)	0,50
Yaşa göre düzeltilmiş CCI**	4 (3-6)	2 (1-4)	< 0,001
İmmünoşüpresif hastalık varlığı	12 (%19,0)	16 (%18,6)	1
COVID-19 aşı öyküsü	14 (%22,2)	8 (%9,3)	0,5
Steroid tedavisi (Minimum 6 mg/gün deksametazon)	51 (%81,0)	23 (%26,7)	< 0,001
Favipiravir tedavisi	61 (%96,8)	72 (%83,7)	0,014
Antibiyotik tedavisi	30 (%47,6)	17 (%19,8)	< 0,001
Pnömoni / Ampiyem	17 (%27,0)	6 (%7,0)	0,001
Üriner sistem enfeksiyonu	1 (%1,6)	2 (%2,3)	1
Kan dolaşımı enfeksiyonu	1 (%1,6)	1 (%1,2)	1
İntraabdominal enfeksiyon	0 (%0,0)	4 (%4,7)	0,14
Deri ve yumuşak doku enfeksiyonu	1 (%1,6)	4 (%4,7)	0,4
Klinik sepsis varlığı	11 (%17,5)	1 (%1,2)	0,001
Hastanede yatış gün sayısı**	15 (10,5-31,5)	10 (6-14,75)	< 0,001
Hastane içi mortalite	19 (%30,2)	1 (%1,2)	< 0,001

*Ortalama ± standart sapma, ** Ortanca (25. – 75. persentil)

Klinik özelliklerin çok değişkenli regresyon analizinde bağımsız değişkenler olarak yaş, kronik hastalık varlığı, kronik karaciğer hastalığı, solid organ malignitesi ve koroner arter hastalığı bağımsız değişkenler olarak belirlendi (Tablo 4.2). Yoğun bakım yatışı olan hastalarda yatmayanlara göre yaş için tahmini rölatif risk 1,03 (1,01 – 1,06) ve kronik hastalık varlığı için tahmini rölatif risk 2,93 (1,08 – 7,95) idi ve istatistiksel olarak anlamlıydı.

Tablo 4.2: Klinik özellikler için çok değişkenli regresyon analizi

Değişkenler	β	S.H.	p değeri	OR (%95 GA)
Yaş	0,03	0,01	0,01	1,03 (1,01 – 1,06)
Kronik hastalık varlığı	1,08	0,51	0,03	2,93 (1,08 – 7,95)
Kronik karaciğer hastalığı	-15,57	1028,00	0,99	0,00 (0,00 – INF)
Solid organ malignitesi	-0,75	0,50	0,13	0,47 (0,18 – 1,25)
Koroner arter hastalığı	0,61	0,46	0,18	1,85 (0,75 – 4,56)
Null deviance = 202.99, serbestlik derecesi = 148, $\chi^2 = 29,2$, p = 0,002				

Laboratuvar parametrelerinde ESR, beyaz küre ve lenfosit sayıları, prokalsitonin, CRP, serum sodyumu, albümin, AST, total bilirubin, kreatinin, LDH, troponin-I, myoglobini, D-dimer, fibrinojen, INR ve ferritin değerleri açısından her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (Tablo 4.3).

Tablo 4.3: Hastaların laboratuvar sonuçları

Değişkenler	Yoğun bakım izlemi (n=63)	Servis izlemi (n=86)	p değeri
ESR**	42 (32-61,5)	26,5 (13-45)	< 0,001
Hemoglobin**	12.3 (11-13,8)	12.9 (11,5-14,6)	0,07
Beyaz küre**	6700 (5100-9450)	5500 (4500-7375)	0,01
Lenfosit**	430 (510-940)	855 (702-1558)	< 0,001
Trombosit (x1000) **	186 (150-244)	204 (150-255)	0,53
Prokalsinonin**	0.23 (0.08-0.55)	0.08 (0.05-9,34)	< 0,001
CRP**	10.5 (4,76-15,5)	3,04 (0,75-14,75)	< 0,001
Sodyum**	135 (132-138)	136 (135-139)	0,04
Potasyum*	4,05 (0,6)	3.98 (0,5)	0,49
Albümin*	3,3 (0,5)	3,8 (0,49)	< 0,001
ALT**	28 (20-42,5)	24 (17-41)	0,39
AST**	37 (29-56)	25.5 (22-41.8)	0.002
Total bilirubin**	0.65 (0.53-0.8)	0.49 (0.36-0.69)	< 0,001
Kreatinin**	0.98 (0.77-1.42)	0.82 (0.68-0.96)	0.003
LDH**	372 (292-458)	210 (182-326)	< 0,001
Troponin-I**	13.8 (7.8-27.2)	5.15 (2.6-15.6)	< 0,001
Myoglobin**	70 (30.3-168)	30.5 (20.8-58.9)	< 0,001
D-dimer**	0.93 (0.64-3.66)	0.54 (0.3-1.4)	< 0,001
Fibrinojen**	550 (459-674)	427 (348-603)	0.002
INR**	1.13 (1.06-1.19)	1.07 (1-1.13)	< 0,001
Ferritin**	335 (176-908)	182 (67-321)	0,001

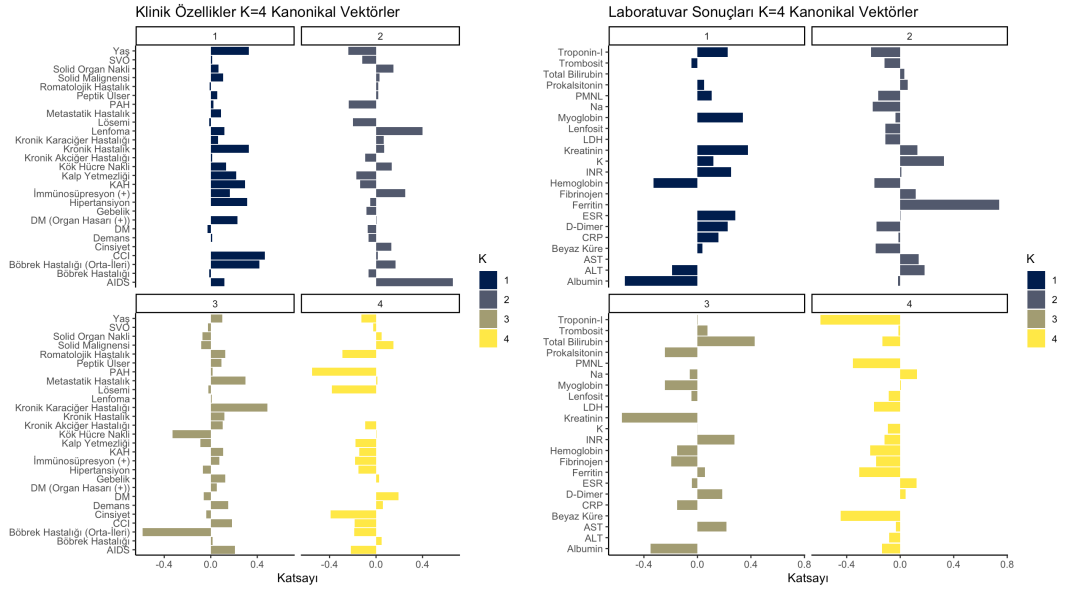
*Ortalama (standart sapma), ** Ortanca (25. – 75. persentil)

Laboratuvar parametrelerinin çok değişkenli regresyon analizinde bağımsız değişkenler olarak ESR, beyaz küre ve lenfosit sayıları, sodyum, albümin, ALT, myoglobin, LDH ve INR değerleri kullanıldı (Tablo 4). Yoğun bakım yatışı olan hastalarda yatmayanlara göre lenfosit sayısı için tahmini rölatif risk 0,9983 (0,9973 – 0,9994) ve LDH için tahmini rölatif risk 1,0050 (1,0013 – 1,0086) olarak bulundu ve istatistiksel olarak anlamlıydı.

Tablo 4.4: Laboratuvar parametreleri için çok değişkenli regresyon analizi

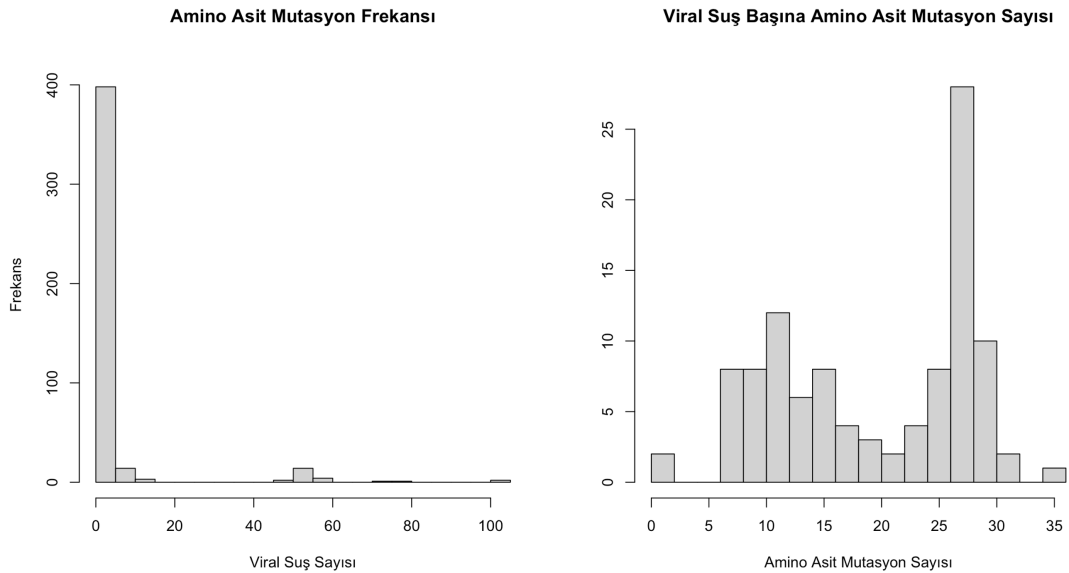
Değişkenler	β	S.H.	p değeri	OR (%95 GA)
ESR	0,01	0,01	0,21	1.01 (0.99 – 1.03)
Beyaz küre	0.0001	0.0001	0,14	1.00 (0.99 – 1.00)
Lenfosit	-0.002	0,0005	0,001	1.00 (1.00 – 1.00)
Sodyum	-0.05	0,05	0,30	0.95 (0.86 – 1.05)
Albümin	-0.79	0,52	0,46	0.68 (0.24 – 1.90)
ALT	-0.01	0,006	0,10	0.99 (0.98 – 1.00)
Myoglobin	0,002	0,002	0,30	1.00 (0.99 – 1.00)
LDH	0,005	0,002	0,008	1.00 (1.00 – 1.01)
INR	1,49	1,2	0,21	4.45 (0.42 – 46.7)
Null deviance = 202.99, serbestlik derecesi = 148, $\chi^2 = 68.29$, $p = <0,001$				

Laboratuvar sonuçlarının ve klinik verilerin seyrek CCA analizi, farklı klinik fenotipleri ortaya çıkardı. ($corr(Xu1, Zv1) = 0,63$, X ve Z için en iyi L1 sınırı: 0,7, $p=0,04$) (Şekil 4.1). Laboratuvar sonuçlarının ilk kanonik katsayıları, düşük albümin düzeyleri ve anemi ile birlikte yüksek kreatinin düzeyleriyle ilişkili bir fenotipi ortaya koyarken, klinik açıdan hasta yaşlı ve orta ila şiddetli böbrek hastalığı olan çoklu morbiditeye sahip görünüyordu. İkinci kanonik değişkenler, genç ve bağışıklık sistemi baskılanmış, yüksek ferritin düzeylerine sahip farklı bir hasta fenotipini temsil ediyordu. Üçüncü kanonik değişkenler yüksek INR, total bilirubin seviyeleri ve hipoalbüminemi ile birlikte karaciğer hastalığı öyküsü olan bir hasta fenotipini temsil etti.



Şekil 4.1 Laboratuvar sonuçlarının ve klinik verilerin seyrek CCA analizi.

İzole edilmiş 105 viral genom örneği incelendiğinde en az bir kez görülen nükleotid mutasyonu sayısı 710, amino asit mutasyonu sayısı ise 439 idi. Suş başına nükleotid mutasyonlarının ortancası 29,0 (21,0-33,0), amino asit mutasyonlarının ortancası 22,5 (12,0 - 27,8) idi. 356 (%81,1) amino asit mutasyonunun frekansı 1 idi. 398 (%90,7) amino asit mutasyonunun frekansı 5'in altındaydı (Şekil 4.2).

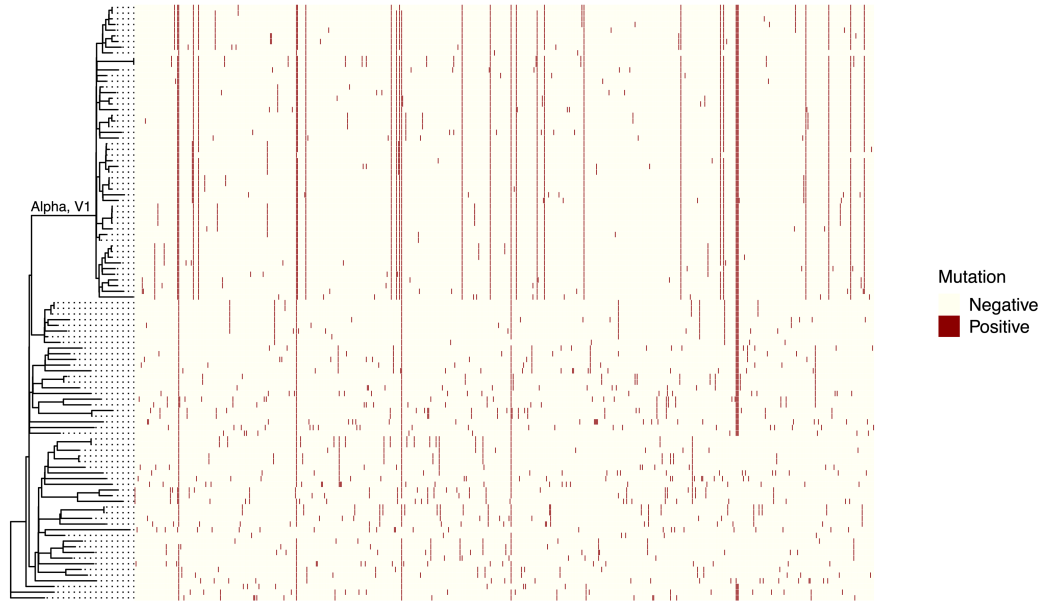


Şekil 4.2 Amino Asit Mutasyon Frekansı ve Viral Suş Başına Amino Asit Mutasyon Sayısı Histogramları

Elli iki suş (%49,5) Nextclade sınıflarına göre Varyant 20I'ye (Alfa, V1), Pango v.4.3.1 sınıflandırma sistemine göre B.1.1.7'ye atandı (Tablo 4.5, Şekil 4.3). Pango v.4.3.1 sınıflandırma sistemleri açısından yoğun bakım ve servis izlem grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,49$).

Tablo 4.5: Pango v.4.3.1 sınıflandırma sistemine göre viral suşların sınıflandırması

Sınıflar	Yoğun bakım izlemi (n=49)	Servis izlemi (n=56)	p değeri
A27	0 (%0,0)	1 (%1,8)	0,49
B	0 (%0,0)	1 (%1,8)	
B.1	1 (%2,0)	6 (%10,7)	
B.1.1	6 (%12,2)	8 (%14,3)	
B.1.1.189	0 (%0,0)	1 (%1,8)	
B.1.1.317	0 (%0,0)	2 (%3,6)	
B.1.1.413	2 (%4,1)	0 (%0,0)	
B.1.1.521	3 (%6,1)	2 (%6,1)	
B.1.1.7	28 (%57,1)	24 (%42,9)	
B.1.160	1 (%2,0)	1 (%1,8)	
B.1.177	0 (%0,0)	1 (%1,8)	
B.1.177.83	0 (%0,0)	1 (%1,8)	
B.1.177.86	1 (%2,0)	1 (%1,8)	
B.1.218	1 (%2,0)	0 (%0,0)	
B.1.221	0 (%0,0)	1 (%1,8)	
B.1.351	2 (%4,1)	1 (%1,8)	
B.1.36	0 (%0,0)	2 (%3,6)	
B.1.36.8	1 (%2,0)	2 (%3,6)	
B.1.438	1 (%2,0)	0 (%0,0)	
B.1.469	0 (%0,0)	1 (%1,8)	
B.1.9.5	1 (%2,0)	0 (%0,0)	
R.1	1 (%2,0)	0 (%0,0)	



Şekil 4.3 Filogenetik ağaç, nükleotid data matrisi. İzole edilmiş SARS-CoV-2 suşlarının filogenetik ağacı ve matris formundaki nükleotid mutasyonları.

Boruta algoritması ile değişken seçimi yapılarak yoğun bakım ya da servis izlemiyle ilişkili olabilecek önemde amino asitler seçildi (Tablo 4.6). S:E484K ve ORF1a:I2230T mutasyonları için p değerleri sırasıyla 0,04 ve 0,05 idi. Çok değişkenli regresyon analizinde istatistiksek olarak anlamlı ilişki saptanmadı (Tablo 4.7).

Tablo 4.6: Boruta algoritması ile seçilen amino asit mutasyonları

Amino Asit Mutasyonu	Yoğun bakım izlemi (n=49)	Servis izlemi (n=56)	p değeri
S:E484K	4 (%8,2)	0 (%0,0)	0,04
S:F140-	3 (%6,1)	0 (%0,0)	0,10
ORF1a:I2230T	28 (%57,1)	21 (%37,5)	0,05
ORF1a:L3606F	0 (%0,0)	3 (%5,3)	0,25
ORF1a:L730F	4 (%8,2)	1 (%1,8)	0,10
ORF1b:G128C	2 (%4,1)	0 (%0,0)	0,21

Tablo 4.7: Boruta algoritması ile seçilen amino asit mutasyonları için çok değişkenli regresyon analizi

Değişkenler	β	S.H.	p değeri
S:E484K	0,78	0,31	0,45
S:F140-	1,17	1,27	0,35
ORF1a:I2230T	0,30	0,44	0,50
ORF1a:L3606F	1,28	1,25	0,30
ORF1a:L730F	-0.17	0,91	0,46
ORF1b:G128C	16,35	1029,12	0,10
Null deviance = 139.55, serbestlik derecesi = 104, $\chi^2 = 7,1$, p = 1			

İnsan genetik varyantlarının allel frekansları servis izlem ve yoğun bakım izlem gruplarında karşılaştırıldı, Bonferoni düzeltmesi göz önüne alınarak Post-hoc analizlerde her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi (Tablo 4.8).

Tablo 4.8: İnsan genetik varyantlarının servis ve yoğun bakım izlemindeki hastalardaki allel frekansları

Polimorfizm	Yoğun bakım izlemi	Servis izlemi	p değeri	OR (%95 CI)
rs11088551	<i>n</i> = 104	<i>n</i> = 134	p = 0,77	1.12 (0,64 – 1,95)
	44 (%42,3)	53 (%39,6)		
rs1123573	<i>n</i> = 92	<i>n</i> = 100	p = 0,79	1.14 (0,60 – 2,15)
	33 (%35,9)	33 (%33,0)		
rs12610495	<i>n</i> = 104	<i>n</i> = 128	p = 0,66	1.22 (0,60 – 2,48)
	22 (%21,2)	23 (%15,6)		
rs1548474	<i>n</i> = 100	<i>n</i> = 118	p = 0,02	2,06 (1,10 – 3,90)
	38 (%38,0)	27 (%16,1)		
rs17574	<i>n</i> = 98	<i>n</i> = 128	p = 1,00	0,98 (0,53 – 1,83)
	28 (%28,6)	37 (%28,9)		
rs17860115	<i>n</i> = 18	<i>n</i> = 46	p = 0,18	0,40 (0,11 – 1,42)
	9 (%50,0)	33 (%71,7)		
rs2298659	<i>n</i> = 104	<i>n</i> = 130	p = 0,60	1,30 (0,59 – 2,88)
	17 (%16,3)	17 (%13,1)		
rs2298661	<i>n</i> = 104	<i>n</i> = 128	p = 0,82	1,16 (0,56 – 2,41)
	17 (%16,3)	17 (%13,3)		
rs35899679	<i>n</i> = 104	<i>n</i> = 126	p = 0,37	0,75 (0,44 – 1,29)
	36 (%34,6)	52 (%41,3)		
rs4303794	<i>n</i> = 104	<i>n</i> = 134	p = 0,29	0,73 (0,44 – 1,23)
	44 (%42,3)	67 (%50)		
rs463727	<i>n</i> = 102	<i>n</i> = 130	p = 0,51	0,81 (0,48 – 1,37)
	41 (%40,2)	59 (%45,4)		
rs61882275	<i>n</i> = 100	<i>n</i> = 122	p = 0,87	1,09 (0,64 – 1,87)
	43 (%43,0)	50 (%41,0)		
rs8178521	<i>n</i> = 104	<i>n</i> = 134	p = 0,48	1,27 (0,73 – 2,26)
	34 (%32,7)	37 (%27,6)		
rs971609	<i>n</i> = 72	<i>n</i> = 78	p = 0,81	1,20 (0,53 – 2,71)
	15 (%20,8)	14 (%18,0)		
$\alpha_{\text{Bonferroni}} = 0,0036$, <i>n</i> : Allel sayısı				

5. TARTIŞMA

Modern biyomedikal döneme ait çeşitli ve yüksek boyutlu verilerin varlığı ve veri modalitelerinin arasındaki kompleks etkileşimler, veri analizine daha bütüncül yaklaşımlar gerektirmektedir. Bu çalışmanın veri toplama metodolojisi ve seyrek kanonik korelasyon analizinin kullanımı, çok modlu veriyi birleştirmenin potansiyelini ön plana çıkarmaktadır.

COVID-19 enfeksiyonu çok farklı klinik şekillerde karşımıza çıkabilir ve klinik tabloya birçok faktör katkıda bulunmaktadır. Yaş, eşlik eden ek hastalıklar, cinsiyet ve hamilelik gibi konakçıya özgü faktörlerin, enfeksiyonun klinik görünümünü ve şiddetini etkilediği bilinmektedir [128]. Çalışmamızda da ileri yaş, kronik hastalık varlığı, yaşa göre düzeltilmiş CCI, hipertansiyon ve koroner arter hastalığı; çok değişkenli regresyon analizindeyse ileri yaş ve komorbidite varlığı kötü klinik seyirle ilişkili bulunmuştur. Ayrıca antiviral, steroid ve antibiyotik tedavilerinin ağır hastalarda daha sık kullanıldığı görülmüştür. Antibiyotik kullanım endikasyonlarına bakıldığında ön planda klinik sepsis ve bakteriyel pnömoni tanılarıyla hastaların tedavi aldığı göze çarpmaktadır. Pandemi döneminde çeşitli yayınlarda birinci basamak sağlık hizmetlerinde antibiyotik kullanım miktarının azaldığı belirtilmekle birlikte hastane popülasyonunun değerlendirildiği çalışmalarda antibiyotik kullanımının bazı merkezlerde azaldığı bazı merkezlerdeyse arttığı göze çarpmıştır [129, 130]. Yoğun bakım hastalarında görece daha sık antibiyotik kullanılması, çalışmamızın sonuçlarıyla uyumlu olacak şekilde, literatürde kendisine yer bulmaktadır [131, 132].

COVID-19'da çeşitli biyobelirteçler tanı, prognoz ve sonuçlarla ilişkilendirilebilir. COVID-19'da en çok kullanılan biyobelirteçler arasında çeşitli proinflatuar sitokinler, LDH, AST, nötrofil sayısı, nötrofillerin lenfositlere oranı, troponinler, kreatin kinaz, miyogloblin ve D-dimer bulunmaktadır [133]. Başvuru sırasında saptanan yüksek lenfosit, trombositoz ve düşük ferritin, D-dimer, LDH ve AST düzeyleri entübasyon ve mekanik ventilasyon gerektiren COVID-19 hastalarında daha düşük ölüm riski ile ilişkilendirilmiştir [134]. Şiddetli COVID-19 vakalarında ferritin ve LDH düzeyleri, ARDS gelişimi için prognostik biyobelirteçler olarak tanımlanmıştır [135]. Bununla birlikte, bu biyobelirteçlerden herhangi birinin COVID-19'da prognozun bağımsız bir öngördürücüsü olarak tanımlanmasına yönelik kanıt sınırlıdır [136]. Literatür verileriyle uyumlu olarak çalışmamızda yoğun bakıma kabul

edilen hastalarda serviste izlenen hastalara göre tek değişkenli analizde CRP, prokalsitonin, ESR, AST, total bilirubin, kreatinin, LDH, troponin, D-dimer, fibrinojen, INR, ferritin istatistiki olarak anlamlı olacak şekilde yüksek bulunurken, lenfosit ve albumin değerleri daha düşük bulunmuştur. Çok değişkenli analizdeyse düşük lenfosit ve yüksek LDH seviyeleri anlamlı bağımsız değişkenler olarak öne çıkmıştır.

Literatürde seyrek CCA analizinin görüntüleme verileri yoluyla yeme bozukluklarının anlaşılmasından demanstaki klinik alt tiplerin sınıflandırılmasına kadar çeşitli biyomedikal alanlarda kullanıldığı görülmekte birlikte genel olarak klinik değerlendirmelerde kullanımı sınırlı kalmıştır [137, 138]. Çalışmamızda klinik ve laboratuvar verilerindeki değişkenlerin kendi aralarındaki korelasyonları denetimsiz olarak incelenmiş, birbirlerine en çok korele olan değişkenler grubu katsayılarıyla birlikte ifade edilmiştir. Bu gruplarla korele olmayan diğer alt korelasyon gruplarıysa farklı K değerleriyle sunulmuştur. Analizimizde mevcut literatür ve klinik gözlemlerimizle desteklendiği şekilde böbrek hastalığı, karaciğer fonksiyon bozukluğu ve immünosupresyon gibi klinik fenotipler laboratuvar parametreleriyle eşleşmiştir. Çok modlu verilerin olduğu veri setlerinin önümüzdeki yıllarda sayısının artacak olması, farklı veri türlerinin en etkin şekilde entegre edilmesini gerektirmektedir. Çalışmamızda vurgulandığı gibi seyrek CCA analizi, bu veri dizilerinin birleştirilmesinde etkili olup, COVID-19 gibi karmaşık bir hastalığa çok yönlü bir bakış sunmaktadır.

Bilindiği gibi patojene ait virülans faktörleri değişen doku tropizmi veya artan virülans nedeniyle klinik tabloyu ve hastalık şiddetini etkileyebilmektedir [139]. Örneğin alveoller yerine solunum mukozasında replikasyonu tercih eden bir varyant, burun akıntısı, burun tıkanıklığı, boğaz ağrısı ve öksürük gibi semptomlara, alveolleri tercih eden bir varyantsa pnömoniye ve ARDS'ye neden olabilir. Çalışmamızda alfa varyantı saptanan hastalardaki klinik seyir non-alfa gruptan farklı izlenmemiştir. Literatürde ata türe göre Alfa varyantının daha öldürücü, Delta'nın ise Alfa'dan daha öldürücü olduğuna dair kanıtların varlığına rağmen bizim çalışmamızda herhangi bir farklılık görülmemesi bizi dizi durumuyla açıklanabilir [140, 141]. Öncelikle, çalışmamızdaki viral amino asit mutasyonlarının 356 (%81,1)'sının frekansı 1'dir, 398 (%90,7) mutasyonun frekansıyla beşin altındadır. Bu durum yoğun bakım ve servis

grupları arasındaki ilişkiyi incelemeyi görece zorlaştırmaktadır. Boruta algoritması ile yoğun bakım izlemi açısından anlamlı olabilecek varyantlar değerlendirilmiş, çok değişkenli regresyon analizinde anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Ayrıca, çalışmamız ata ve Alfa varyantlarının toplumda yaygın görüldüğü dönemde yapılmıştır, oysa ki salgının ileri dönemlerinde özellikle Omicron varyantının hastalığın patogenezi ve pandeminin yayılım dinamikleriyle ilgili etkili değişikliklere yol açtığı görülmüştür. Alfa varyantının ağır enfeksiyonla ilişkili olabileceğini gösteren çalışmalarda daha yüksek hasta sayıları göze çarpmaktadır. Pascall ve ark.'nın İskoçya'da yürüttükleri 1,500 hastalık retrospektif kohort çalışmasında kurdukları generalize doğrusal modellerde Alpha varyantı için ağır hastalık kümülatif rölatif riski 1,40 olarak bulunmuştur[142]. Grint ve ark.'nın 93.153 Alfa ve 92.081 ata varyantlarını incelediği çalışmalarındaysa Alfa varyant enfeksiyonunun tüm nedenlere bağlı mortalite Hazard oranı 1,73, hastaneye yatış Hazard oranı 1.62 olarak bulunmuştur. Yoğun bakım ünitesine kabul edilen hastalar arasındaysa Alpha varyantı enfeksiyonunun ölüm ile ilişkisi saptanmamıştır [143].

Sonuç olarak bir varyant, virüsün konakçının bağışıklık savunmasından kaçmasına izin veren mutasyonlara sahip olabilir ve bu bağışıklığı olan bir popülasyonda enfeksiyonun klinik görünümü ve ciddiyeti üzerinde etki etme potansiyeline sahiptir. Örneğin Omicron varyantı, konakçıya uyum sağlamak için Delta ve diğer varyantlardan farklı bir strateji benimsemiştir: Omicron varyantı enfeksiyonu, Delta enfeksiyonundan farklı olarak spike'ın plazma membran füzyonu yoluyla hücre girişini destekleyen hücresel proteaz TMPRSS2'yi daha verimsiz kullanmış, ve ön planda endositik yolla hücre girişi gözlenmiştir [144]. Ayrıca Omicron varyantının öncül varyantlara göre alveollerde daha az çoğaldığı görülmüştür [145, 146]. Bu nedenle SARS-CoV-2 varyantlarının virülans, doku tropizmi ve COVID-19 sonrası komplikasyonlar açısından farklılıkları olabilir. Bununla birlikte, popülasyon bağışıklığının zaman içindeki değişimi, konakçı bağışıklığının ve mutasyonların SARS-CoV-2 enfeksiyonunun klinik görünümü ve ciddiyeti üzerindeki etkisini anlamayı zorlaştırmaktadır.

İnsan genetik varyantları SARS-CoV-2 ile ilişkili semptomların şiddetini etkileyebilir. COVID-19 salgını sırasında, ağır COVID-19 GWAS grubu, GenOMICC ve ISARIC grupları ve COVID-19 Konak Genetiği Girişimi gibi büyük

konsorsiyumlar, benzeri görülmemiş bir ölçekte GWAS çalışmalarıyla konakçı genetik varyantlarının SARS-CoV-2 enfeksiyonu ile ilişkisini araştırmak için uluslararası veri paylaşımlarının yapıldığı çalışmalar gerçekleştirmiştir [2, 147]. Bu çalışmalar COVID-19 ciddiyeti ile ilişkili tek nükleotid polimorfizmlerini tanımlamıştır [148]. Ancak bu genetik değişikliklerle ilişkili patolojik mekanizmalar henüz net değildir. COVID-19 Konak Genetiği Girişimi'nin en büyük GWAS'ı, hastalık duyarlılığı veya ciddiyeti ile ilişkili genetik lokusları araştırmak için çok sayıda klinik çalışmadan, mevcut biyobanka ve kohort çalışmalarından ve tüketici genetik şirketlerinden gelen verilerden elde edilen genomik verilerden yararlanmıştır [149]. Ana analizleri, hastalığın ciddiyetine ve hastane ortamına göre kategorize edilmiş 2,5 milyondan fazla nüfus kontrolünü ve 50.000'den fazla COVID-19 hastasını içermektedir; çeşitli genetik lokuslar hastalık duyarlılığı veya ciddiyeti ile ilişkilendirilmiştir. GWAS çalışmalarında şiddetli COVID-19, genel olarak, invazif olmayan yüksek akışlı oksijen cihazları veya invaziv mekanik ventilasyon ile hastaneye kaldırılmayı gerektiren, ölüme veya solunum yetmezliğine yol açan, PCR ile kanıtlanmış SARS-CoV-2 enfeksiyonu olarak tanımlanmıştır. Şiddetli hastalıkla ilişkili olduğu bildirilen ilk sinyaller, 3p21.31 ve 9q34.2 kromozomundaki genetik lokusları içermiştir [2, 150]. 3p21.31 kümesi, birçok çalışmada, COVID-19 kaynaklı solunum yetmezliği riskinin iki kat arttığı, en sağlam şekilde kopyalanan sinyaldir ve Neandertallerden miras alındığı öne sürülmektedir [2, 151]. Daha sonra, örnek sayısının artmasıyla birlikte diğer çeşitli genetik lokuslar genom çapında önem kazanmıştır [147, 149, 152]. Bu lokusların birçoğu, antiviral veya proinflamatuvar konakçı tepkisini düzenleyen proteinleri kodlayan SNP'lere yakın genleri içermektedir.

Çalışmamızda virüsün hücreye giriş noktası olan ACE2'ye, virüsün spike spoteinini işleyen ve virüsle konak hücre mebranı etkileşimini düzenleyen TMPRSS2'ye, lökosit diferansiyasyonu ile ilgili BCL11A'ya, inflamasyonun sınırlandırılmasında görevli olan DPP9'a, diyabet patogeneğinde rol oynayan ve salgın döneminde DPP4 inhibitörlerinin COVID-19 tedavisinde yeri olabileceği hipotenizi destekleyen, hava yolu inflamasyonunda etkili DPP4'e, tip-2 interferon hücre reseptörünü kodlayan IFNAR2'ye, akciğer epitelinden salınan ELF5'e, interlökin-10 reseptör proteinini kodlayan IL10RB'ye ve HLA-DRB1'ye ait varyantlar

değerlendirilmiş, Bonferroni düzeltmesi sonrasında varyantlarla ağır hastalık arasında istatistiki bir ilişki saptanmamıştır [153-159]. Ağır hastalık bulguları olan 6.000'den fazla ve hafif belirtileri olan 8,000 COVID-19 hastasında 61 aday gendeki 130 polimorfizmin ilişkisine dair 84 farklı çalışmanın değerlendirildiği yakın tarihli bir meta-analiz, ACE2'nin COVID-19'un şiddetiyle istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkisi olduğunu ortaya koymuştur [160]. Çalışmamızda değerlendirdiğimiz ACE2'ye ait rs1548474 varyantının yoğun bakım izlem grubundaki allel frekansı %38,0, servis izlem grubundaki allel frekansı %16,1 olarak bulunmuştur ($p=0,02$; $\alpha_{\text{Bonferroni}}=0,0036$). Wooster ve ark.'nın Amerika Birleşik Devletleri'ndeki yürüttükleri çalışmanın ön baskısında ACE2'ye ait 6 varyant hastalık şiddetiyle ilişkilendirilmiş, sadece rs1548474 varyantı hafif hastalık için anlamlı bulunmuştur. Varyantın hastanede yatan hastalardaki allel frekansı %19, yatmayanlardaki allel frekansı %42 olarak saptanmıştır. Fakat, dbSNP veritabanındaki polimorfizmin T>G dönüşümüyle karakterize olduğu görülürken bu çalışmada majör allelin G olarak belirlendiği görülmüştür [153].

Çalışmamızda önemli kısıtlılıklar bulunmaktadır. Özellikle viral ve insan varyantlarının analizi için örneklem grubumuzdaki hasta sayısının sınırlı olduğu varsayılabilir, bu durum çalışmayı tip-2 hataya yatkın kılmaktadır. Ayrıca çalışmamız viral varyantlar açısından ata ve Alfa varyantlarını kapsamakta, pandeminin sonraki dönemlerinde ortaya çıkan varyantlarla ilgili yorum yapamamaktadır. Ayrıca, klinik açıdan bakıldığında, çalışma pandeminin ilk günlerine tarihlenmiştir ve az sayıda hastanın COVID-19 için aşılandığı görülmüştür. Aşılama etkisini uygun bir şekilde ölçmek zor olduğundan, ve çalışma döneminde daha çok ağır hastalık için risk grubunda olan hastalar aşılandığı için, aşılanmanın ağır hastalık gelişimi üzerine etkisine yönelik yorum yapılamamıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- COVID-19 gibi kompleks hastalarda farklı veri modalitelerinin aynı anda değerlendirilmesi hastalık seyrinin daha iyi anlaşılmasına katkı sağlamaktadır.
- Klinik değişkenler değerlendirildiğinde ileri yaş, kronik hastalık varlığı, yaşa göre düzeltilmiş CCI, hipertansiyon ve koroner arter hastalığı; çok değişkenli regresyon analizindeyse ileri yaş ve komorbidite varlığı ağır hastalıkla ilişkili bulunmuştur. Antiviral, steroid ve antibiyotik tedavilerinin yoğun bakım izlem grubunda daha sık kullanıldığı görülmüştür.
- Laboratuvar sonuçları incelendiğinde yoğun bakıma izlem grubunda sevis izlem grubuna göre tek değişkenli analizlerde CRP, prokalsitonin, ESR, AST, total bilirubin, kreatinin, LDH, troponin, D-dimer, fibrinojen, INR, ferritin düzeyleri istatistiki olarak anlamlı olacak şekilde yüksek bulunurken, lenfosit ve albumin düzeyleri daha düşük bulunmuştur. Çok değişkenli analizdeyse düşük lenfosit ve yüksek LDH seviyeleri ağır hastalık için istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur.
- Seyrek CCA analizi veri dizilerinin denetimsiz olarak birleştirilmesinde etkili olup COVID-19 gibi karmaşık bir hastalığa çok yönlü bir bakış açısı sunmakta, farklı hastalık fenotiplerini ortaya çıkarabilmektedir.
- Çalışmamızda viral ve insan genetik varyantlarıyla ağır hastalık arasında istatistiki olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Çalışma dizaynının daha fazla sayıdaki hastaya sahip örneklem gruplarında tekrarlanmasının uygun olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. WHO COVID-19 dashboard. 2024 [01.05.2024]; Available from: <https://data.who.int/dashboards/covid19/cases>.
2. Severe Covid, G.G., et al., *Genomewide Association Study of Severe Covid-19 with Respiratory Failure*. N Engl J Med, 2020. **383**(16): p. 1522-1534.
3. Anastassopoulou, C., et al., *Human genetic factors associated with susceptibility to SARS-CoV-2 infection and COVID-19 disease severity*. Hum Genomics, 2020. **14**(1): p. 40.
4. Fajnzylber, J., et al., *SARS-CoV-2 viral load is associated with increased disease severity and mortality*. Nat Commun, 2020. **11**(1): p. 5493.
5. Young, B.E., et al., *Effects of a major deletion in the SARS-CoV-2 genome on the severity of infection and the inflammatory response: an observational cohort study*. Lancet, 2020. **396**(10251): p. 603-611.
6. Karim, M., I. Dunham, and M. Ghoussaini, *Mining a GWAS of Severe Covid-19*. N Engl J Med, 2020. **383**(26): p. 2588-2589.
7. Wang, F., et al., *Initial whole-genome sequencing and analysis of the host genetic contribution to COVID-19 severity and susceptibility*. Cell Discov, 2020. **6**(1): p. 83.
8. Deng, H., X. Yan, and L. Yuan, *Human genetic basis of coronavirus disease 2019*. Signal Transduct Target Ther, 2021. **6**(1): p. 344.
9. Kousathanas, A., et al., *Whole-genome sequencing reveals host factors underlying critical COVID-19*. Nature, 2022. **607**(7917): p. 97-103.
10. Butler, N., et al., *Murine encephalitis caused by HCoV-OC43, a human coronavirus with broad species specificity, is partly immune-mediated*. Virology, 2006. **347**(2): p. 410-21.
11. Witte, K.H., M. Tajima, and B.C. Easterday, *Morphologic characteristics and nucleic acid type of transmissible gastroenteritis virus of pigs*. Arch Gesamte Virusforsch, 1968. **23**(1): p. 53-70.
12. Tyrrell, D.A., et al., *Coronaviridae*. Intervirology, 1975. **5**(1-2): p. 76-82.
13. Bennett, J., R. Dolin, and M.J. Blaser, *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 8th Edition ed. 2014, Philadelphia, PA: Elsevier/Saunders.
14. Perlman, S., *Another Decade, Another Coronavirus*. N Engl J Med, 2020. **382**(8): p. 760-762.
15. Zhao, Z., et al., *Description and clinical treatment of an early outbreak of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangzhou, PR China*. J Med Microbiol, 2003. **52**(Pt 8): p. 715-720.
16. Wu, J.T., K. Leung, and G.M. Leung, *Nowcasting and forecasting the potential domestic and international spread of the 2019-nCoV outbreak originating in Wuhan, China: a modelling study*. Lancet, 2020. **395**(10225): p. 689-697.
17. Zhu, J., et al., *Epidemiological Characteristics and Clinical Outcomes of Coronavirus Disease Patients in Northwest China: High-Volume Research From Low Population Density Regions*. Front Med (Lausanne), 2020. **7**: p. 564250.

18. Huang, C., et al., *Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China*. Lancet, 2020. **395**(10223): p. 497-506.
19. Li, Q., et al., *Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia*. N Engl J Med, 2020. **382**(13): p. 1199-1207.
20. Wong, G., et al., *MERS, SARS, and Ebola: The Role of Super-Spreaders in Infectious Disease*. Cell Host Microbe, 2015. **18**(4): p. 398-401.
21. Rothe, C., et al., *Transmission of 2019-nCoV Infection from an Asymptomatic Contact in Germany*. N Engl J Med, 2020. **382**(10): p. 970-971.
22. Hoehl, S., et al., *Evidence of SARS-CoV-2 Infection in Returning Travelers from Wuhan, China*. N Engl J Med, 2020. **382**(13): p. 1278-1280.
23. Li, R., et al., *Substantial undocumented infection facilitates the rapid dissemination of novel coronavirus (COVID-19)*. medRxiv, 2020.
24. The Novel Coronavirus Pneumonia Emergency Response Epidemiology, T., *The Epidemiological Characteristics of an Outbreak of 2019 Novel Coronavirus Diseases (COVID-19) - China, 2020*. China CDC Wkly, 2020. **2**(8): p. 113-122.
25. Antia, R. and M.E. Halloran, *Transition to endemicity: Understanding COVID-19*. Immunity, 2021. **54**(10): p. 2172-2176.
26. Oran, D.P. and E.J. Topol, *The Proportion of SARS-CoV-2 Infections That Are Asymptomatic : A Systematic Review*. Ann Intern Med, 2021. **174**(5): p. 655-662.
27. Ma, Q., et al., *Global Percentage of Asymptomatic SARS-CoV-2 Infections Among the Tested Population and Individuals With Confirmed COVID-19 Diagnosis: A Systematic Review and Meta-analysis*. JAMA Netw Open, 2021. **4**(12): p. e2137257.
28. Hu, Z., et al., *Clinical characteristics of 24 asymptomatic infections with COVID-19 screened among close contacts in Nanjing, China*. Sci China Life Sci, 2020. **63**(5): p. 706-711.
29. Wang, Y., et al., *Clinical Outcomes in 55 Patients With Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Who Were Asymptomatic at Hospital Admission in Shenzhen, China*. J Infect Dis, 2020. **221**(11): p. 1770-1774.
30. Wu, Z. and J.M. McGoogan, *Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention*. JAMA, 2020. **323**(13): p. 1239-1242.
31. Yang, X., et al., *Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study*. Lancet Respir Med, 2020. **8**(5): p. 475-481.
32. Ioannidis, J.P.A., *Reconciling estimates of global spread and infection fatality rates of COVID-19: An overview of systematic evaluations*. Eur J Clin Invest, 2021. **51**(5): p. e13554.
33. Team, C.-F., *Variation in the COVID-19 infection-fatality ratio by age, time, and geography during the pre-vaccine era: a systematic analysis*. Lancet, 2022. **399**(10334): p. 1469-1488.

34. Petrilli, C.M., et al., *Factors associated with hospital admission and critical illness among 5279 people with coronavirus disease 2019 in New York City: prospective cohort study*. *Bmj*, 2020. **369**: p. m1966.
35. Stokes, E.K., et al., *Coronavirus Disease 2019 Case Surveillance - United States, January 22-May 30, 2020*. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2020. **69**(24): p. 759-765.
36. Peckham, H., et al., *Male sex identified by global COVID-19 meta-analysis as a risk factor for death and ICU admission*. *Nat Commun*, 2020. **11**(1): p. 6317.
37. Del Valle, D.M., et al., *An inflammatory cytokine signature predicts COVID-19 severity and survival*. *Nat Med*, 2020. **26**(10): p. 1636-1643.
38. Shi, S., et al., *Association of Cardiac Injury With Mortality in Hospitalized Patients With COVID-19 in Wuhan, China*. *JAMA Cardiol*, 2020. **5**(7): p. 802-810.
39. Novelli, A., et al., *HLA allele frequencies and susceptibility to COVID-19 in a group of 99 Italian patients*. *HLA*, 2020. **96**(5): p. 610-614.
40. van der Made, C.I., et al., *Presence of Genetic Variants Among Young Men With Severe COVID-19*. *JAMA*, 2020. **324**(7): p. 663-673.
41. Zhang, Q., et al., *Inborn errors of type I IFN immunity in patients with life-threatening COVID-19*. *Science*, 2020. **370**(6515).
42. Wu, Y., et al., *Incubation Period of COVID-19 Caused by Unique SARS-CoV-2 Strains: A Systematic Review and Meta-analysis*. *JAMA Netw Open*, 2022. **5**(8): p. e2228008.
43. Menni, C., et al., *Symptom prevalence, duration, and risk of hospital admission in individuals infected with SARS-CoV-2 during periods of omicron and delta variant dominance: a prospective observational study from the ZOE COVID Study*. *Lancet*, 2022. **399**(10335): p. 1618-1624.
44. Cohen, P.A., et al., *The Early Natural History of SARS-CoV-2 Infection: Clinical Observations From an Urban, Ambulatory COVID-19 Clinic*. *Mayo Clin Proc*, 2020. **95**(6): p. 1124-1126.
45. Wang, D., et al., *Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China*. *JAMA*, 2020. **323**(11): p. 1061-1069.
46. Richardson, S., et al., *Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes Among 5700 Patients Hospitalized With COVID-19 in the New York City Area*. *JAMA*, 2020. **323**(20): p. 2052-2059.
47. Surie, D., et al., *Disease Severity of Respiratory Syncytial Virus Compared with COVID-19 and Influenza Among Hospitalized Adults Aged ≥ 60 Years - IVY Network, 20 U.S. States, February 2022-May 2023*. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2023. **72**(40): p. 1083-1088.
48. Goyal, P., et al., *Clinical Characteristics of Covid-19 in New York City*. *N Engl J Med*, 2020. **382**(24): p. 2372-2374.
49. Chen, N., et al., *Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study*. *Lancet*, 2020. **395**(10223): p. 507-513.

50. Wong, H.Y.F., et al., *Frequency and Distribution of Chest Radiographic Findings in Patients Positive for COVID-19*. Radiology, 2020. **296**(2): p. E72-E78.
51. Martinelli, A.W., et al., *COVID-19 and pneumothorax: a multicentre retrospective case series*. Eur Respir J, 2020. **56**(5).
52. Miro, O., et al., *Frequency, Risk Factors, Clinical Characteristics, and Outcomes of Spontaneous Pneumothorax in Patients With Coronavirus Disease 2019: A Case-Control, Emergency Medicine-Based Multicenter Study*. Chest, 2021. **159**(3): p. 1241-1255.
53. Bao, C., et al., *Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) CT Findings: A Systematic Review and Meta-analysis*. J Am Coll Radiol, 2020. **17**(6): p. 701-709.
54. Bernheim, A., et al., *Chest CT Findings in Coronavirus Disease-19 (COVID-19): Relationship to Duration of Infection*. Radiology, 2020. **295**(3): p. 200463.
55. Xie, X., et al., *Chest CT for Typical Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Pneumonia: Relationship to Negative RT-PCR Testing*. Radiology, 2020. **296**(2): p. E41-E45.
56. Alsuliman, T., et al., *A review of potential treatments to date in COVID-19 patients according to the stage of the disease*. Curr Res Transl Med, 2020. **68**(3): p. 93-104.
57. Hammond, J., et al., *Oral Nirmatrelvir for High-Risk, Nonhospitalized Adults with Covid-19*. N Engl J Med, 2022. **386**(15): p. 1397-1408.
58. Jayk Bernal, A., et al., *Molnupiravir for Oral Treatment of Covid-19 in Nonhospitalized Patients*. N Engl J Med, 2022. **386**(6): p. 509-520.
59. Petty, L.A. and P.N. Malani, *Oral Antiviral Medications for COVID-19*. JAMA, 2022. **327**(24): p. 2464.
60. Bellon, M., et al., *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Viral Load Kinetics in Symptomatic Children, Adolescents, and Adults*. Clin Infect Dis, 2021. **73**(6): p. e1384-e1386.
61. Vetter, P., et al., *Daily Viral Kinetics and Innate and Adaptive Immune Response Assessment in COVID-19: a Case Series*. mSphere, 2020. **5**(6).
62. Kissler, S.M., et al., *Viral Dynamics of SARS-CoV-2 Variants in Vaccinated and Unvaccinated Persons*. N Engl J Med, 2021. **385**(26): p. 2489-2491.
63. Rawson, T.M., et al., *Bacterial and Fungal Coinfection in Individuals With Coronavirus: A Rapid Review To Support COVID-19 Antimicrobial Prescribing*. Clin Infect Dis, 2020. **71**(9): p. 2459-2468.
64. Venditto, V.J., et al., *Immunomodulatory Effects of Azithromycin Revisited: Potential Applications to COVID-19*. Front Immunol, 2021. **12**: p. 574425.
65. Yao, X., et al., *In Vitro Antiviral Activity and Projection of Optimized Dosing Design of Hydroxychloroquine for the Treatment of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)*. Clin Infect Dis, 2020. **71**(15): p. 732-739.
66. Andreani, J., et al., *In vitro testing of combined hydroxychloroquine and azithromycin on SARS-CoV-2 shows synergistic effect*. Microb Pathog, 2020. **145**: p. 104228.

67. Cavalcanti, A.B., et al., *Hydroxychloroquine with or without Azithromycin in Mild-to-Moderate Covid-19*. N Engl J Med, 2020. **383**(21): p. 2041-2052.
68. Frontera, J.A., et al., *Treatment with Zinc is Associated with Reduced In-Hospital Mortality Among COVID-19 Patients: A Multi-Center Cohort Study*. Res Sq, 2020.
69. Ni, Y.N., et al., *The effect of high-flow nasal cannula in reducing the mortality and the rate of endotracheal intubation when used before mechanical ventilation compared with conventional oxygen therapy and noninvasive positive pressure ventilation. A systematic review and meta-analysis*. Am J Emerg Med, 2018. **36**(2): p. 226-233.
70. Chu, C.M., et al., *Role of lopinavir/ritonavir in the treatment of SARS: initial virological and clinical findings*. Thorax, 2004. **59**(3): p. 252-6.
71. Vincent, M.J., et al., *Chloroquine is a potent inhibitor of SARS coronavirus infection and spread*. Virol J, 2005. **2**: p. 69.
72. Yamamoto, N., et al., *HIV protease inhibitor nelfinavir inhibits replication of SARS-associated coronavirus*. Biochem Biophys Res Commun, 2004. **318**(3): p. 719-25.
73. Self, W.H., et al., *Effect of Hydroxychloroquine on Clinical Status at 14 Days in Hospitalized Patients With COVID-19: A Randomized Clinical Trial*. JAMA, 2020. **324**(21): p. 2165-2176.
74. Consortium, W.H.O.S.T., et al., *Repurposed Antiviral Drugs for Covid-19 - Interim WHO Solidarity Trial Results*. N Engl J Med, 2021. **384**(6): p. 497-511.
75. Ader, F., et al., *Remdesivir plus standard of care versus standard of care alone for the treatment of patients admitted to hospital with COVID-19 (DisCoVeRy): a phase 3, randomised, controlled, open-label trial*. Lancet Infect Dis, 2022. **22**(2): p. 209-221.
76. Mehta, R.M., et al., *A shorter symptom onset to remdesivir treatment (SORT) interval is associated with a lower mortality in moderate-to-severe COVID-19: A real-world analysis*. Int J Infect Dis, 2021. **106**: p. 71-77.
77. The Lancet Infectious, D., *Unmet need for COVID-19 therapies in community settings*. Lancet Infect Dis, 2021. **21**(11): p. 1471.
78. Agrawal, U., R. Raju, and Z.F. Udhwadia, *Favipiravir: A new and emerging antiviral option in COVID-19*. Med J Armed Forces India, 2020. **76**(4): p. 370-376.
79. Bosaeed, M., et al., *Efficacy of favipiravir in adults with mild COVID-19: a randomized, double-blind, multicentre, placebo-controlled clinical trial*. Clin Microbiol Infect, 2022. **28**(4): p. 602-608.
80. Bramante, C.T., et al., *Randomized Trial of Metformin, Ivermectin, and Fluvoxamine for Covid-19*. N Engl J Med, 2022. **387**(7): p. 599-610.
81. Riva, L., et al., *Discovery of SARS-CoV-2 antiviral drugs through large-scale compound repurposing*. Nature, 2020. **586**(7827): p. 113-119.
82. Butler, C.C., et al., *Molnupiravir plus usual care versus usual care alone as early treatment for adults with COVID-19 at increased risk of adverse outcomes (PANORAMIC): an open-label, platform-adaptive randomised controlled trial*. Lancet, 2023. **401**(10373): p. 281-293.

83. Focosi, D., et al., *Convalescent Plasma Therapy for COVID-19: State of the Art*. Clin Microbiol Rev, 2020. **33**(4).
84. Group, R.C., et al., *Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19*. N Engl J Med, 2021. **384**(8): p. 693-704.
85. Kalil, A.C., et al., *Baricitinib plus Remdesivir for Hospitalized Adults with Covid-19*. N Engl J Med, 2021. **384**(9): p. 795-807.
86. Agarwal, A., et al., *A living WHO guideline on drugs for covid-19*. BMJ, 2020. **370**: p. m3379.
87. Cavalli, G., et al., *Interleukin-1 and interleukin-6 inhibition compared with standard management in patients with COVID-19 and hyperinflammation: a cohort study*. Lancet Rheumatol, 2021. **3**(4): p. e253-e261.
88. Group, R.C., *Tocilizumab in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): a randomised, controlled, open-label, platform trial*. Lancet, 2021. **397**(10285): p. 1637-1645.
89. Group, R.C., *Lopinavir-ritonavir in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): a randomised, controlled, open-label, platform trial*. Lancet, 2020. **396**(10259): p. 1345-1352.
90. Chaccour, C., et al., *Ivermectin and COVID-19: Keeping Rigor in Times of Urgency*. Am J Trop Med Hyg, 2020. **102**(6): p. 1156-1157.
91. Connors, J.M., et al., *Effect of Antithrombotic Therapy on Clinical Outcomes in Outpatients With Clinically Stable Symptomatic COVID-19: The ACTIV-4B Randomized Clinical Trial*. JAMA, 2021. **326**(17): p. 1703-1712.
92. Investigators, I., et al., *Effect of Intermediate-Dose vs Standard-Dose Prophylactic Anticoagulation on Thrombotic Events, Extracorporeal Membrane Oxygenation Treatment, or Mortality Among Patients With COVID-19 Admitted to the Intensive Care Unit: The INSPIRATION Randomized Clinical Trial*. JAMA, 2021. **325**(16): p. 1620-1630.
93. Perepu, U.S., et al., *Standard prophylactic versus intermediate dose enoxaparin in adults with severe COVID-19: A multi-center, open-label, randomized controlled trial*. J Thromb Haemost, 2021. **19**(9): p. 2225-2234.
94. Ortega-Paz, L., M. Galli, and D.J. Angiolillo, *Updated meta-analysis of randomized controlled trials on the safety and efficacy of different prophylactic anticoagulation dosing regimens in non-critically ill hospitalized patients with COVID-19*. Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother, 2022. **8**(3): p. E15-E17.
95. Lu, R., et al., *Complete Genome Sequence of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV) from the First Imported MERS-CoV Case in China*. Genome Announc, 2015. **3**(4).
96. Rota, P.A., et al., *Characterization of a novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome*. Science, 2003. **300**(5624): p. 1394-9.
97. Davies, N.G., et al., *Estimated transmissibility and impact of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 in England*. Science, 2021. **372**(6538).
98. Wibmer, C.K., et al., *SARS-CoV-2 501Y.V2 escapes neutralization by South African COVID-19 donor plasma*. Nat Med, 2021. **27**(4): p. 622-625.
99. Faria, N.R., et al., *Genomics and epidemiology of the P.1 SARS-CoV-2 lineage in Manaus, Brazil*. Science, 2021. **372**(6544): p. 815-821.

100. Twohig, K.A., et al., *Hospital admission and emergency care attendance risk for SARS-CoV-2 delta (B.1.617.2) compared with alpha (B.1.1.7) variants of concern: a cohort study*. *Lancet Infect Dis*, 2022. **22**(1): p. 35-42.
101. Sheikh, A., et al., *SARS-CoV-2 Delta VOC in Scotland: demographics, risk of hospital admission, and vaccine effectiveness*. *Lancet*, 2021. **397**(10293): p. 2461-2462.
102. *Frequently asked questions for the B.1.1.529 mutated SARS-CoV-2 lineage in South Africa*. The National Institute for Communicable Diseases, South Africa. 26 nowemer 2021].
103. *Threat Assessment Brief: Implications of the emergence and spread of the SARS-CoV-2 B.1.1. 529 variant of concern (Omicron) for the EU/EEA*. European Centre for Disease Prevention and Control [cited Nowember 29 2021].
104. *Enhancing response to Omicron SARS-CoV-2 variant*. [https://www.who.int/publications/m/item/enhancing-readiness-for-omicron-\(b.1.1.529\)-technical-brief-and-priority-actions-for-member-states](https://www.who.int/publications/m/item/enhancing-readiness-for-omicron-(b.1.1.529)-technical-brief-and-priority-actions-for-member-states). World Health Organization. Nowember 29 2021].
105. *Implications of the emergence and spread of the SARS-CoV-2 variants of concern BA.4 and BA.5 for the EU/EEA*. European Centre for Disease Prevention and Control July 4 2022].
106. *Risk assessment for SARS-CoV-2 variant V-23AUG-01 (or BA.2.86)*. UK Health Security Agency August 23 2023].
107. Jorgensen, S.B., et al., *Secondary Attack Rates for Omicron and Delta Variants of SARS-CoV-2 in Norwegian Households*. *JAMA*, 2022. **327**(16): p. 1610-1611.
108. Baker JM, N.J., O'Hegarty M, McGowan A, Teran RA, Bart SM, Mosack K, Roberts N, Campos B, Paegle A, McGee J, Herrera R, English K, Barrios C, Davis A, Roloff C, Sosa LE, Brockmeyer J, Page L, Bauer A, Weiner JJ, Khubbar M, Bhattacharyya S, Kirking HL, Tate JE, *SARS-CoV-2 B.1.1.529 (Omicron) Variant Transmission Within Households - Four U.S. Jurisdictions*, in *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2022. p. 341.
109. Pulliam, J.R.C., et al., *Increased risk of SARS-CoV-2 reinfection associated with emergence of Omicron in South Africa*. *Science*, 2022. **376**(6593): p. eabn4947.
110. Altarawneh, H.N., et al., *Protection against the Omicron Variant from Previous SARS-CoV-2 Infection*. *N Engl J Med*, 2022. **386**(13): p. 1288-1290.
111. Rossler, A., et al., *SARS-CoV-2 Omicron Variant Neutralization in Serum from Vaccinated and Convalescent Persons*. *N Engl J Med*, 2022. **386**(7): p. 698-700.
112. Sheward, D.J., et al., *Neutralisation sensitivity of the SARS-CoV-2 omicron (B.1.1.529) variant: a cross-sectional study*. *Lancet Infect Dis*, 2022. **22**(6): p. 813-820.
113. Malato, J., et al., *Risk of BA.5 Infection among Persons Exposed to Previous SARS-CoV-2 Variants*. *N Engl J Med*, 2022. **387**(10): p. 953-954.
114. Carazo, S., et al., *Protection against omicron (B.1.1.529) BA.2 reinfection conferred by primary omicron BA.1 or pre-omicron SARS-CoV-2 infection*

- among health-care workers with and without mRNA vaccination: a test-negative case-control study. *Lancet Infect Dis*, 2023. **23**(1): p. 45-55.
115. Maslo, C., et al., *Characteristics and Outcomes of Hospitalized Patients in South Africa During the COVID-19 Omicron Wave Compared With Previous Waves*. *JAMA*, 2022. **327**(6): p. 583-584.
 116. Wolter, N., et al., *Early assessment of the clinical severity of the SARS-CoV-2 omicron variant in South Africa: a data linkage study*. *Lancet*, 2022. **399**(10323): p. 437-446.
 117. Ulloa, A.C., et al., *Estimates of SARS-CoV-2 Omicron Variant Severity in Ontario, Canada*. *JAMA*, 2022. **327**(13): p. 1286-1288.
 118. Nyberg, T., et al., *Comparative analysis of the risks of hospitalisation and death associated with SARS-CoV-2 omicron (B.1.1.529) and delta (B.1.617.2) variants in England: a cohort study*. *Lancet*, 2022. **399**(10332): p. 1303-1312.
 119. Bouzid, D., et al., *Comparison of Patients Infected With Delta Versus Omicron COVID-19 Variants Presenting to Paris Emergency Departments : A Retrospective Cohort Study*. *Ann Intern Med*, 2022. **175**(6): p. 831-837.
 120. Ward, I.L., et al., *Risk of covid-19 related deaths for SARS-CoV-2 omicron (B.1.1.529) compared with delta (B.1.617.2): retrospective cohort study*. *BMJ*, 2022. **378**: p. e070695.
 121. Jassat, W., et al., *Clinical severity of COVID-19 in patients admitted to hospital during the omicron wave in South Africa: a retrospective observational study*. *Lancet Glob Health*, 2022. **10**(7): p. e961-e969.
 122. Tegally, H., et al., *Emergence of SARS-CoV-2 Omicron lineages BA.4 and BA.5 in South Africa*. *Nat Med*, 2022. **28**(9): p. 1785-1790.
 123. Faust, J.S., et al., *Excess Mortality in Massachusetts During the Delta and Omicron Waves of COVID-19*. *JAMA*, 2022. **328**(1): p. 74-76.
 124. McMahan, K., et al., *Reduced pathogenicity of the SARS-CoV-2 omicron variant in hamsters*. *Med*, 2022. **3**(4): p. 262-268 e4.
 125. Charlson, M.E., et al., *A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation*. *J Chronic Dis*, 1987. **40**(5): p. 373-83.
 126. Phan, L., et al., *ALFA: Allele Frequency Aggregator*. National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine, 2020.
 127. Kursu, M.B. and W.R. Rudnicki, *Feature Selection with the Boruta Package*. *Journal of Statistical Software*, 2010. **36**(11): p. 1 - 13.
 128. Mohan, A.A., et al., *Age and Comorbidities Predict COVID-19 Outcome, Regardless of Innate Immune Response Severity: A Single Institutional Cohort Study*. *Crit Care Explor*, 2022. **4**(12): p. e0799.
 129. Romaszko-Wojtowicz, A., et al., *Impact of COVID-19 on antibiotic usage in primary care: a retrospective analysis*. *Scientific Reports*, 2024. **14**(1): p. 4798.
 130. Fukushige, M., et al., *Effect of the COVID-19 pandemic on antibiotic consumption: A systematic review comparing 2019 and 2020 data*. *Front Public Health*, 2022. **10**: p. 946077.
 131. Sturza, F., D. Guță Ș, and G.A. Popescu, *Antibiotics Used for COVID-19 In-Patients from an Infectious Disease Ward*. *Antibiotics (Basel)*, 2023. **12**(1).

132. Maraia, Z., et al., *Epidemiological Impact on Use of Antibiotics in Patients Hospitalized for COVID-19: A Retrospective Cohort Study in Italy*. *Antibiotics (Basel)*, 2023. **12**(5).
133. Andrianto, et al., *Biomarkers of endothelial dysfunction and outcomes in coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients: A systematic review and meta-analysis*. *Microvasc Res*, 2021. **138**: p. 104224.
134. Topp, G., et al., *Biomarkers Predictive of Extubation and Survival of COVID-19 Patients*. *Cureus*, 2021. **13**(6): p. e15462.
135. Martinez Mesa, A., et al., *Acute Lung Injury Biomarkers in the Prediction of COVID-19 Severity: Total Thiol, Ferritin and Lactate Dehydrogenase*. *Antioxidants (Basel)*, 2021. **10**(8).
136. Sorrentino, S., et al., *B-Type Natriuretic Peptide as Biomarker of COVID-19 Disease Severity-A Meta-Analysis*. *J Clin Med*, 2020. **9**(9).
137. Lee, H., et al., *Multivariate association between brain function and eating disorders using sparse canonical correlation analysis*. *PLoS One*, 2020. **15**(8): p. e0237511.
138. Zhao, K., et al., *Defining Dementia Subtypes Through Neuropsychiatric Symptom-Linked Brain Connectivity Patterns*. *bioRxiv*, 2023.
139. Stolp, B., et al., *SARS-CoV-2 variants of concern display enhanced intrinsic pathogenic properties and expanded organ tropism in mouse models*. *Cell Rep*, 2022. **38**(7): p. 110387.
140. Fisman, D.N. and A.R. Tuite, *Age-Specific Changes in Virulence Associated With Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Variants of Concern*. *Clin Infect Dis*, 2022. **75**(1): p. e69-e75.
141. Saito, A., et al., *Enhanced fusogenicity and pathogenicity of SARS-CoV-2 Delta P681R mutation*. *Nature*, 2022. **602**(7896): p. 300-306.
142. Pascall, D.J., et al., *The SARS-CoV-2 Alpha variant was associated with increased clinical severity of COVID-19 in Scotland: A genomics-based retrospective cohort analysis*. *PLoS One*, 2023. **18**(4): p. e0284187.
143. Grint, D.J., et al., *Severity of Severe Acute Respiratory System Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Alpha Variant (B.1.1.7) in England*. *Clin Infect Dis*, 2022. **75**(1): p. e1120-e1127.
144. Zhao, H., et al., *SARS-CoV-2 Omicron variant shows less efficient replication and fusion activity when compared with Delta variant in TMPRSS2-expressed cells*. *Emerg Microbes Infect*, 2022. **11**(1): p. 277-283.
145. Balint, G., B. Voros-Horvath, and A. Szechenyi, *Omicron: increased transmissibility and decreased pathogenicity*. *Signal Transduct Target Ther*, 2022. **7**(1): p. 151.
146. Hui, K.P.Y., et al., *SARS-CoV-2 Omicron variant replication in human bronchus and lung ex vivo*. *Nature*, 2022. **603**(7902): p. 715-720.
147. Pairo-Castineira, E., et al., *Genetic mechanisms of critical illness in COVID-19*. *Nature*, 2021. **591**(7848): p. 92-98.
148. Feng, Z., et al., *Human Genetic Variants Associated with COVID-19 Severity are Enriched in Immune and Epithelium Regulatory Networks*. *Phenomics*, 2022. **2**(6): p. 389-403.
149. Initiative, C.-H.G., *Mapping the human genetic architecture of COVID-19*. *Nature*, 2021. **600**(7889): p. 472-477.

150. Shelton, J.F., et al., *Trans-ancestry analysis reveals genetic and nongenetic associations with COVID-19 susceptibility and severity*. Nat Genet, 2021. **53**(6): p. 801-808.
151. Zeberg, H. and S. Paabo, *The major genetic risk factor for severe COVID-19 is inherited from Neanderthals*. Nature, 2020. **587**(7835): p. 610-612.
152. Andolfo, I., et al., *Common variants at 21q22.3 locus influence MX1 and TMPRSS2 gene expression and susceptibility to severe COVID-19*. iScience, 2021. **24**(4): p. 102322.
153. Wooster, L., et al., *Polymorphisms in the ACE2 Locus Associate with Severity of COVID-19 Infection*. 2020, medRxiv.
154. Fraser, B.J., et al., *Structure and activity of human TMPRSS2 protease implicated in SARS-CoV-2 activation*. Nature Chemical Biology, 2022. **18**(9): p. 963-971.
155. Bordon, Y., *A new set of genes linked to critical COVID-19*. Nature Reviews Immunology, 2022. **22**(4): p. 208-208.
156. Pairo-Castineira, E., et al., *Genetic mechanisms of critical illness in COVID-19*. Nature, 2021. **591**(7848): p. 92-98.
157. Nag, S., et al., *DPP-4 Inhibitors as a savior for COVID-19 patients with diabetes*. Future Virol, 2023.
158. Yaugel-Novoa, M., et al., *Association of IFNAR1 and IFNAR2 with COVID-19 severity*. Lancet Microbe, 2023. **4**(7): p. e487.
159. Pietzner, M., et al., *ELF5 is a potential respiratory epithelial cell-specific risk gene for severe COVID-19*. Nature Communications, 2022. **13**(1): p. 4484.
160. Gupta, K., et al., *Systematic review and meta-analysis of human genetic variants contributing to COVID-19 susceptibility and severity*. Gene, 2022. **844**: p. 146790.