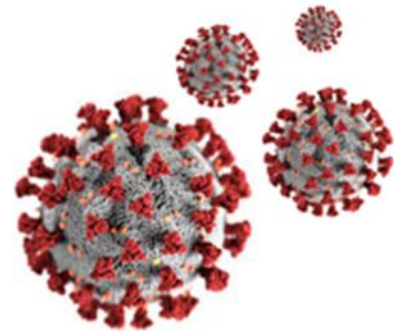
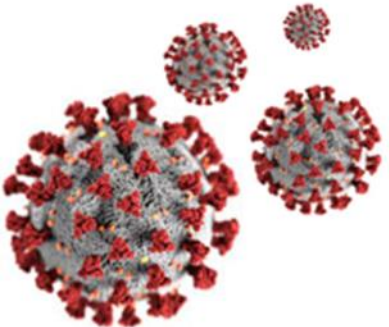
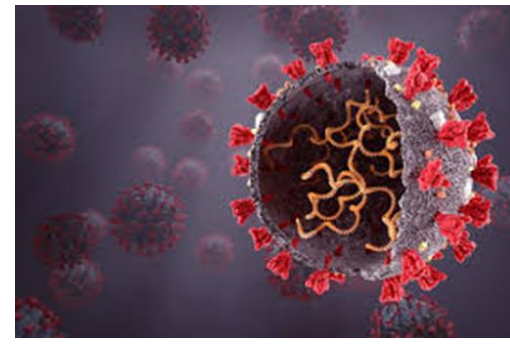


COVID-19 Hastalarında SARS COV-2 Virüs Saçılımı ve Nötralizan Antikor Düzeyleri

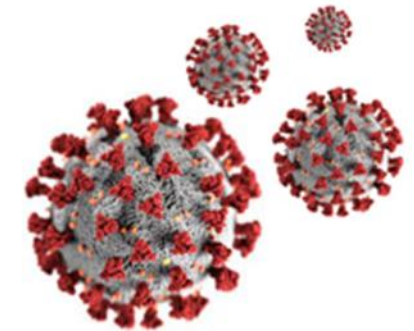
Tuğba AYHANCI¹, Hande TOPTAN², Yunus Emre ÖZER³, Serdar UZAR⁴, Hakan ENÜL⁴,
Cumhur ADIAY⁴, Fahriye SARAC⁴, Hamad DHEİR³, Mehmet KÖROĞLU¹, Mustafa
HASÖKSÜZ⁵, Mustafa ALTINDIŞ¹



Giriş

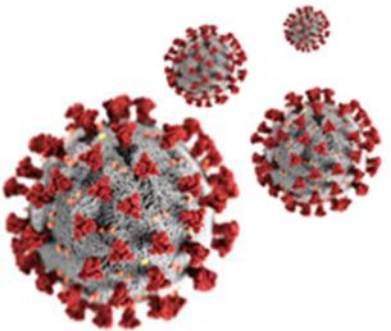


- Aralık 2019'da Çin'de ortaya çıkan ve koronavirus hastalığı-2019 (COVID-19) pandemisine neden SARS CoV-2 virusunun salgının ilk dönemlerinde enfekte ettiği insanlarda vücutta farklı yerlerde saçılımı salgın kontrolü açısından ilgi konusu olmuştur.



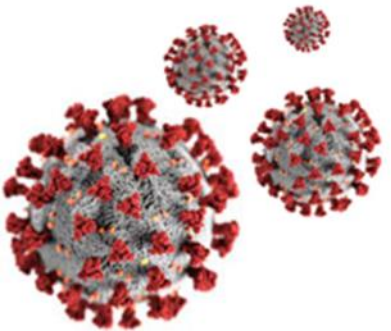
Amaç

- Bu çalışmada amaç;
- COVID-19 hastalarından alınan çeşitli klinik örneklerde SARS CoV-2 RNA'sının varlığı, virüsün saçılım profili ile
- enfeksiyonu geçiren hastalarda anti SARS CoV-2 IgG ve nötralizan antikor yanıtlarının araştırılmasıdır.



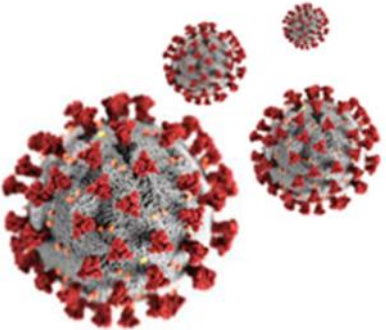
YÖNTEM

- **Bakanlık onayı:** T.C. Sağlık Bakanlığı Bilimsel Araştırma Platformu (2020-05-04T00_00_36)
- **Etik kurul onayı:** Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu (29.05.2020, sayı: 16214662/050.01.04/88)
- Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Komisyonu Başkanlığı tarafından 2020-7-25-101 numaralı proje ile desteklenmiştir.



Çalışma Grubu

- Mayıs-Haziran 2020, **toplumdan/sağlık personeli olmayan 47 COVID-19 hastası (TCH)**
- Kasım-Aralık 2020, **30 sağlık çalışanı COVID-19 hastası (SCH)**
- Hastalara ait demografik bilgiler ile biyokimyasal ve hematolojik veriler hastane bilgi yönetim sistemi üzerinden alındı.
- Semptomlar için mini anket uygulandı

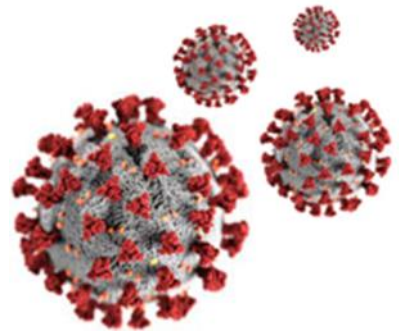


SARS CoV-2 RNA'sının araştırılması

- TCH grubu hastalardan;
- 0, 3, 7, 14, 28. gün ve 2. ayda
- orofarenks,
- nazofarenks,
- balgam
- idrar
- kan ve
- dışkı örnekleri alındı

Serum örneklerinde SARS CoV-2 IgG ve NAb düzeylerinin ve zamana göre değişimlerinin belirlenmesi

- TCH (n= 47) grubundan;
 - 0, 3, 7, 14, 28, 60, 90 ve 120. günlerde
- SCH (n= 30) grubundan;
 - 14, 28, 60, 90, 120 ve 150. günlerde



➤ **Viral RNA izolasyonu,**

- **NF, OF, balgam ve idrar örnekleri:**
- Bio-Speedy® Viral Nükleik Asit İzolasyon Kiti (Bioeksen, Türkiye)
- **Dışkı örnekleri:**
- QIAamp Viral RNA stool Mini Kit (Qiagen, Almanya)
- **Kan örnekleri:**
- QIASymphony® DSP Virus/Pathogen Kit (Qiagen, Almanya)

➤ **Moleküler testler**

- Bio-Speedy® Double Gene RT-PCR kiti (Bioeksen, Türkiye)

➤ **Anti SARS- CoV-2 IgG Antikor Tayini**

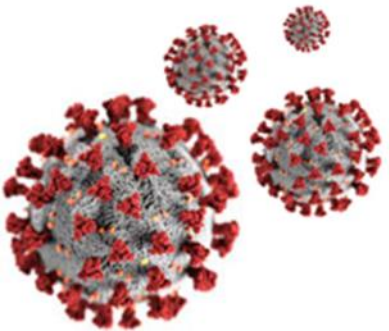
- COVID-19 IgG kiti (Dia-Pro, İtalya) (Mikro ELISA)

➤ **Nötralizan Antikor Tayini:**

- Hücre kültürü virüs nötralizasyon testi (VNT)

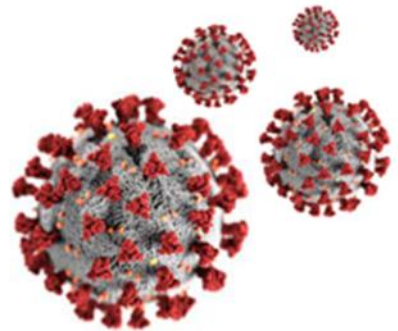
➤ **Temsili (Surrogate) Nötralizan Antikor Tayini:**

- ACE2-RBD Neutralization Assay kiti (Dia-Pro, İtalya) (Mikro ELISA)



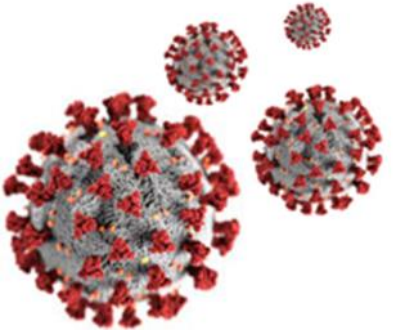
BULGULAR

- TCH grubundaki hastaların 26'sı erkek, 21'i kadın olup ortalama yaş 55
 - Hastaların %51.2'sinde komorbidite
 - 8 (%17,0) hastada birden fazla
 - En sık: DM, HT ve ürolitiasiz
 - Ciddi grupta ortalama yaş yüksek
 - Hastalığın şiddeti ile cinsiyet arasında anlamlı bir ilişki yok
 - Ancak ex olan iki hasta: erkek, 65 yaş üstü ve HT
-
- SCH grubundaki hastaların 19'u kadın, 11'i erkek, ortalama yaş 26
 - En sık saptanan semptomlar:
 - ✓ halsizlik
 - ✓ kas/eklem ağrısı
 - ✓ öksürük şikayeti
 - ✓ ateş, ses kısıklığı



Biyokimyasal ve hematolojik parametreler

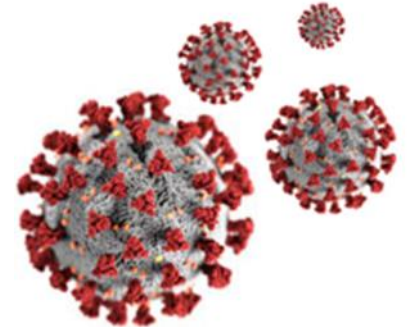
- **Ciddi hastalarda**
- Ferritin \uparrow
- CRP \uparrow
- PCT \uparrow
- lenfosit düzeyi \downarrow
- D-dimer düzeyleri yüksek ancak istatistiksel olarak anlamlı değil



SARS CoV-2 RT-PCR Bulguları

- 169 NF, 167 OF, 166 balgam, 164 idrar, 130 dışkı ve 158 kan
- toplam **954 klinik örnek**
- **SARS CoV-2**, en yüksek oranda sırasıyla
- nazofarenks (%100),
- dışkı (%65,8),
- balgam (%45,7),
- orofarenks (%41,3),
- kan (%5,3) ve
- idrar (%2,2) örneklerinde saptanmıştır.

- **Viral saçılımı:**
- solunum yolu örneklerinde 14 gün,
- dışkı örneklerinde 60 güne kadar devam ettiği gözlenmiş,
- kan örneklerinde 3. günden sonra virüs saptanmamıştır.
- **Viral yük:**
- solunum yolu örneklerinde tanı anında en yüksek düzeyde
- dışkı örneklerinde 7. günde pik yaptığı görülmüştür.



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

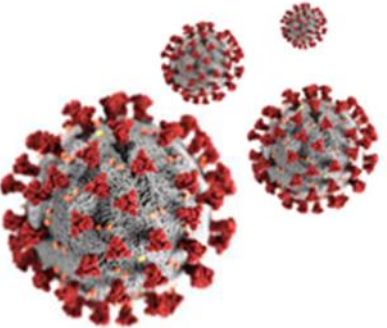
		PCR Sonuçları	Genel Hastalar (n=47) n (%)	p			PCR Sonuçları	TCH (n=47) n (%)	p
PCR Nazofarenks	1. gün	Negatif	0 (.0)	0.001	PCR İdrar	1. gün	Negatif	45 (97.8)	0.255
		Pozitif	47 (100.0)				Pozitif	1 (2.2)	
	3. gün	Negatif	21 (51.2)			3. gün	Negatif	39 (95.1)	
		Pozitif	20 (48.8)				Pozitif	2 (4.9)	
	7. gün	Negatif	23 (82.1)			7. gün	Negatif	24 (96.0)	
		Pozitif	5 (17.9)				Pozitif	1 (4.0)	
	14. gün	Negatif	24 (96.0)			14. gün	Negatif	25 (100.0)	
		Pozitif	1 (4.0)				Pozitif	0 (.0)	
	28. gün	Negatif	17 (100.0)			28. gün	Negatif	16 (100.0)	
		Pozitif	0 (.0)				Pozitif	0 (.0)	
	2. ay	Negatif	11 (100.0)			2. ay	Negatif	11 (100.0)	
		Pozitif	0 (.0)				Pozitif	0 (.0)	
PCR Orofarenks	1. gün	Negatif	27 (58.7)	0.083	PCR Dışkı	1. gün	Negatif	13 (34.2)	0.663
		Pozitif	19 (41.3)				Pozitif	25 (65.8)	
	3. gün	Negatif	32 (78.0)			3. gün	Negatif	8 (26.7)	
		Pozitif	9 (22.0)				Pozitif	22 (73.3)	
	7. gün	Negatif	22 (81.5)			7. gün	Negatif	6 (33.3)	
		Pozitif	5 (18.5)				Pozitif	12 (66.7)	
	14. gün	Negatif	24 (96.0)			14. gün	Negatif	16 (72.7)	
		Pozitif	1 (4.0)				Pozitif	6 (27.3)	
	28. gün	Negatif	17 (100.0)			28. gün	Negatif	8 (61.5)	
		Pozitif	0 (.0)				Pozitif	5 (38.5)	
	2. ay	Negatif	11 (100.0)			2. ay	Negatif	6 (66.7)	
		Pozitif	0 (.0)				Pozitif	3 (33.3)	
PCR Balgam	1. gün	Negatif	25 (54.3)	0.080	PCR Kan	1. gün	Negatif	36 (94.7)	0.406
		Pozitif	21 (45.7)				Pozitif	2 (5.3)	
	3. gün	Negatif	21 (52.5)			3. gün	Negatif	39 (97.5)	
		Pozitif	19 (47.5)				Pozitif	1 (2.5)	
	7. gün	Negatif	22 (81.5)			7. gün	Negatif	27 (100.0)	
		Pozitif	5 (18.5)				Pozitif	0 (.0)	
	14. gün	Negatif	22 (88.0)			14. gün	Negatif	25 (100.0)	
		Pozitif	3 (12.0)				Pozitif	0 (.0)	
	28. gün	Negatif	17 (100.0)			28. gün	Negatif	17 (100.0)	
		Pozitif	0 (.0)				Pozitif	0 (.0)	
	2. ay	Negatif	11 (100.0)			2. ay	Negatif	11 (100.0)	
		Pozitif	0 (.0)				Pozitif	0 (.0)	

➤ Anti SARS CoV-2 IgG (seropozitilik oranları)

- TCH grubu hastaların
- ✓ tanı anında **%41,1'inde** serokonversiyon gözlenmiş,
- ✓ 4. ayda hastaların tümü (**%100**) seropozitif
- SCH grubu hastalarda
- tanıdan 14 gün sonra **%53,3**
- 3. ayda en yüksek seropozitiflik oranı (**%82,1**) saptanmıştır

➤ Anti SARS CoV-2 IgG (antikor düzeyleri)

- TCH grubu hastalarda
- IgG antikor düzeylerinin **7. günde pik** yaptığı, 2 ay boyunca düzeylerini koruduğu ve 3. aydan itibaren düşmeye başladığı görülmüştür.
- SCH grubu hastalarda 3. ayda pik
- 14, 28, 60, 90 ve 120. günlerde TCH grubu hastalardaki antikor düzeyleri SCH grubu hastalara göre daha yüksek



➤ HÜCRE KÜLTÜRÜ NAb DÜZEYLERİ

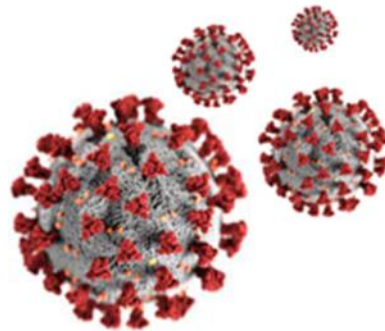
➤ TCH GRUBU HASTALARIN:

- Tanı anında %44,8
- 3. gün %80,9
- 7. gün %83,3
- 14. gün %86,9
- 28. gün %100,
- 4. ayda ise %90,9 NAb.

- NAb titreleri 28. günde pik (1/256)
- 2. aydan itibaren düşüş

➤ TEMSİLİ NÖTRALİZAN ANTİKOR DÜZEYLERİ

- SCH grubu hastaların 90. gününde alınmış örneklerin tümünde (%100) aktivite
- 6'sı (%26.1) düşük,
- 11'i (%47.8) orta,
- 6'sı (%26.1) yüksek titrede



Yöntem, örnek alma periyotları		TCH (n=47)		SCH (n=30)		p
		n	Ortanca (ÇAG)	N	Ortanca (ÇAG)	
SARS CoV-2 IgG (Elisa, cut off indeksi)	1. gün	29	0,74 [0,39-4,41]	-	-	-
	3. gün	21	5,09 [0,74-9,6]	-	-	-
	7. gün	12	9,6 [1,53-9,6]	-	-	-
	14. gün	23	9,6 [6,49-9,6]	30	1,4 [0,41-3,11]	<0.001
	28. gün	11	9,6 [9,35-9,6]	30	2,36 [1,08-3,01]	<0.001
	2. ay	11	9,6 [1,11-9,6]	30	1,47 [0,86-2,5]	0.005
	3. ay	16	9,58 [3,17-9,6]	28	2,84 [1,57-5,38]	0.008
	4. ay	11	6,96 [2,85-9,6]	29	2,1 [1,16-4,46]	0.028
	5. ay		-	28	1,29 [0,74-3,98]	-
Hücre kültürü Nötralizan Antikor Düzeyleri (serum dilüsyon oranı)	1. gün	29	1/4 [1/4-1/9]		-	-
	3. gün	21	1/16 [1/4-1/160]		-	-
	7. gün	12	1/29 [1/7-1/154]		-	-
	14. gün	23	1/128 [1/16-1/256]		-	-
	28. gün	11	1/256 [1/32-1/384]		-	-
	2. ay	13	1/48 [1/13-1/208]		-	-
	3. ay	16	1/38 [1/13-1/108]		-	-
	4. ay	11	1/28 [1/12-1/192]		-	-
Temsili (Surrogate) Antikor Düzeyleri (serum dilüsyon oranı)	3. ay		-	23	1/8 [1/2-1/32]	-

SONUÇ

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

