



T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**İNAKTİF VE mRNA SARS-CoV-2 AŞILARI SONRASI
OLUŞAN HÜCRESEL VE HÜMORAL İMMÜN
CEVABIN GÖSTERİLMESİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ A.B.D.
DR. BETÜL DÖNMEZ

DÜZCE-2022



T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**İNAKTİF VE mRNA SARS-CoV-2 AŞILARI SONRASI
OLUŞAN HÜCRESEL VE HÜMORAL İMMÜN
CEVABIN GÖSTERİLMESİ**

DR. BETÜL DÖNMEZ
TIPTA UZMANLIK TEZİ

PROF.DR. ŞÜKRÜ ÖKSÜZ

Tez Danışmanı

DÜZCE-2022

TEŞEKKÜR

Tıpta uzmanlık eğitimim-öğrenimim boyunca bu tezin hazırlanması süresince kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösteren, eğitimim boyunca ilgisini eksik etmeyip bana daima destek olan tez danışmanım sayın Prof. Dr. Şükrü ÖKSÜZ hocama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tıpta uzmanlık eğitimimde bilgi ve deneyimlerini paylaşmaktan mutluluk duyan sayın Prof. Dr. C.Elif ÖZTÜRK, sayın Prof. Dr. İdris ŞAHİN ve sayın Doç. Dr. Emel ÇALIŐKAN hocalarımıza çok teşekkür ediyorum.

Tezimin verilerini değerlendirmede bana yardımcı olan Doç. Dr. Őengül CANGÜR hocama ayrıca teşekkür ederim.

Birlikte çalışmaktan her zaman mutluluk duyduğum sevgili doktor arkadaşlarıma, hayatım boyunca her zaman yanımda olan, haklarını asla ödeyemeyeceğim beni bugünlere getiren canım annem Rukiye DÖNMEZ ve babam Osman DÖNMEZ'e, bu süreçte bana destek olan, yardımlarını esirgemeyen sevgili eşim İbrahim GÖKBOĞA'ya çok teşekkür ediyorum.

ÖZET

Amaç: Çalışmamızın amacı, CoronaVac ve BioNTech aşı uygulamalarından sonra oluşan, hücresel ve hümorale immünitenin göstergesi olan interferon-gama ile IgG antikor düzeylerinin karşılaştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamıza SARS-CoV-2 CoronaVac ya da BioNTech aşısını iki doz olarak yaptırmış ve ikinci doz üzerinden en fazla 1-4 hafta süre geçmiş, 40-60 yaş aralığında toplam 40 kişi dahil edilmiştir. CoronaVac aşısı yaptırmış 18 kişi ve BioNTech aşısı yaptırmış 22 kişinin serumlarından Anti-SARS-CoV-2 IGRA kiti ile IFN- γ yanıtı ve SARS-CoV-2 IgG II Quant Reagent kiti ile IgG antikor yanıtı çalışılmıştır.

Bulgular ve sonuç: Çalışmaya alınan aşı grupları arasında interferon-gama cevabı açısından anlamlı düzeyde fark saptanırken ($p=0,007$), IgG antikor cevabı açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$). İnterferon gama cevabı pozitif olanların oranı, BioNTech aşı grubunda (%95,5), CoronaVac aşı grubundakilerden (%55,6) anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Çalışmaya katılan gönüllülerin cinsiyet, yaş grubu, VKİ, ek hastalık varlığı ve sayısı ile supplement kullanımına göre interferon-gama değerleri açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$). Benzer şekilde IgG antikor değerleri açısından da ek hastalık sayısı dışında kalan diğer veriler arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). İki aşı grubu ek hastalık varlığına göre karşılaştırıldığında interferon-gama ve IgG yanıtlarında anlamlı düzeyde fark saptanmıştır ($p=0.001$). CoronaVac aşı grubunda ek hastalığı olan ve olmayan bireylerin interferon gamma ile IgG antikor değerleri, BioNTech aşı grubunda ölçülen değerlerden anlamlı düzeyde daha düşük bulunmuştur ($p=0.016$, $p=0,001$). COVID-19'da aşı yanıtı için antikor testleri yaygın olarak kullanılmasına rağmen, T hücre etkinliğini saptayan Anti-SARS-CoV-2 IGRA testi de güvenilir bir yöntem olarak kullanılabilir.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: SARS-CoV-2, COVID-19 aşısı, interferon-gama, antikor yanıtı, CoronaVac

ABSTRACT

Background: The aim of our study is to compare the IgG antibody levels with interferon gamma, which is an indicator of cellular and humoral immunity, which occurs after CoronaVac and BioNTech vaccine applications.

Material and Method: Our study included two doses of SARS-CoV-2 CoronaVac or BioNTech vaccine, and a maximum of 1-4 weeks passed after the second dose, and a total of 40 people aged 40-60 years were included. IFN- γ response with Anti-SARS-CoV-2 IGRA kit and IgG antibody response with SARS-CoV-2 IgG II Quant Reagent kit were studied from the sera of 18 people who had CoronaVac vaccine and 22 people who had BioNTech vaccine.

Results: While a significant difference was found between the vaccine groups included in the study in terms of interferon gamma response ($p:0.007$), no significant difference was found in terms of IgG antibody response ($p>0.05$). The rate of those with positive interferon gamma response was found to be significantly higher in the BioNTech vaccine group (95.5%) than in the CoronaVac vaccine group (55.6%) ($p<0.05$). No significant difference was found in terms of interferon gamma values according to gender, age group, BMI, presence and number of additional diseases and supplement use of the volunteers participating in the study ($p>0.05$). Similarly, in terms of IgG antibody values, no significant difference was found between the data other than the number of additional diseases ($p>0.05$). When the two vaccine groups were compared according to the presence of additional disease, a significant difference was found in interferon gamma and IgG responses ($p:0.001$). Interferon gamma and IgG antibody values of individuals with and without additional disease in the CoronaVac vaccine group were found to be significantly lower than the values measured in the BioNTech vaccine group ($p:0.016$, $p:0.001$). Although antibody tests are widely used for vaccine response in COVID-19, Anti-SARS-CoV-2 IGRA test, which detects T cell activity, can also be used as a reliable method.

KEYWORDS: SARS-CoV-2, COVID-19 vaccine, Interferon-gamma, antibody response, CoronaVac

İÇİNDEKİLER

Önsöz	ii
Türkçe Özet	iii
İngilizce Özet (Abstract)	iv
İçindekiler	v, vi, vii
Tablolar Listesi	vii
Şekiller Listesi	ix
Kısaltmalar	x, xi, xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Koronavirüsler	2
2.1.1. Koronavirüs tarihçesi	2
2.1.2. Koronavirüs taksonomisi	2
2.1.3. Koronavirüs genomu ve virolojik özellikleri	3
2.2. SARS-CoV-2 Tarihçesi	4
2.3. SARS-CoV-2 Genomu ve Virolojik Özellikleri	5
2.4. SARS-CoV-2 Varyantları	6
2.5. SARS-CoV-2 Replikasyonu	11
2.6. SARS-CoV-2'ye Karşı Oluşan İmmün Yanıt	13
2.6.1. İmmün sistem fizyolojisi	14
2.6.2. Doğal bağışıklık	14
2.6.3. Kazanılmış (Edinsel) bağışıklık.....	15

2.6.4. COVID-19 enfeksiyonunda doğal bağışıklık	22
2.6.5. COVID-19 enfeksiyonunda kazanılmış bağışıklık	23
2.7. COVID-19 patogenezi.....	25
2.8. COVID-19 Temel Klinik Özellikleri	25
2.9. COVID-19 Mikrobiyolojik Tanı Yöntemleri	26
2.9.1.Nükleik asit amplifikasyon yöntemleri (RT-PZR).....	26
2.9.2. Serolojik testler.....	27
2.9.3. CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats- Düzenli Aralıklarla Bölünmüş Kısa Palindromik Tekrarlar) temelli tanı yöntemleri.....	28
2.9.4. Hücre kültürü.....	29
2.10. COVID-19 tedavisi	29
2.10.1. COVID-19 tedavisinde kullanılan farmakoterapötikler	29
2.10.2. Antibakteriyel ve antifungal tedavi	31
2.10.3. Antikoagulan tedavi	31
2.10.4. COVID-19'da diğer olası tedavi yaklaşımları	31
2.11. COVID-19 Korunma Yöntemleri	31
2.11.1. Genel korunma yöntemleri	32
2.11.2. Aşı ile korunma	32
2.12. COVID-19 Aşıları	33
2.12.1. Protein aşıları.....	35
2.12.2. Tam virüs aşıları.....	37
2.12.3. Viral vektör aşıları.....	38

2.12.4. Nükleik asit aşıları.....	39
2.12.5. Diğer aşılar.....	40
3. GEREÇ VE YÖNTEM	41
3.1. Araştırma Tipi	41
3.2. Araştırmanın Örneklemi ve Çalışma Grubu	41
3.2.1. Çalışma grubunun numunelerinin toplanması	41
3.3. Laboratuvar Analizleri	42
3.3.1. Anti-SARS-CoV-2 Interferon Gamma Release Assay (IGRA) test prospektüsü	42
3.3.2. SARS-CoV-2 IgG II Quant (SARS-CoV-2 IgG II Kantitasyon) test prospektüsü	49
3.4. İstatistiksel Analiz	51
3.5. Araştırmanın Kısıtlılıkları	52
4. BULGULAR	52
5. TARTIŞMA.....	61
6. SONUÇLAR.....	71
7. KAYNAKLAR	73
8. EKLER	92

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Tespit edilen VOC varyantları.

Tablo 2. Tespit edilen VOI varyantları.

Tablo 3. Tespit edilen VUM varyantları.

Tablo 4. COVID-19 gelişmekte olan aşıları.

Tablo 5. CoronaVac ve BioNTech aşı grubundaki katılımcıların epidemiyolojik özellikleri.

Tablo 6. CoronaVac ve BioNTech aşıları sonrası oluşan IFN- γ ve IgG antikor yanıtlarının karşılaştırılması.

Tablo 7. CoronaVac ve BioNTech aşıları sonrası oluşan hücreyel ve hümorel immün cevabın kantitatif karşılaştırılması.

Tablo 8. Aşı sonrası oluşan hücreyel ve hümorel immün cevabın kantitatif sonuçlarının sosyodemografik veriler ile karşılaştırılması.

Tablo 9. Aşı gruplarına ve ek hastalık varlığına göre IFN- γ ve IgG antikor yanıtlarının karşılaştırılması.

Tablo 10. Aşı sonrası oluşan kalitatif interferon-gama yanıtlarının sosyodemografik veriler ile karşılaştırılması.

Tablo 11. Aşı sonrası oluşan kalitatif IgG antikor yanıtlarının sosyodemografik veriler ile karşılaştırılması.

Tablo 12. Tüm gönüllülerin ve her bir aşı grubunun IFN- γ ve IgG antikor yanıtları ile besin tüketim sıklıkları arasındaki ilişkinin gösterilmesi.

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Koronavirüs taksonomisi.

Şekil 2. Koronavirüs şematik yapısı.

Şekil 3. SARS-CoV-2 genom yapısı.

Şekil 4. CD4⁺ T ve CD8⁺ T hücrelerinin, antijen sunan hücre ve virüsle enfekte olmuş bir hücre ile etkileşimleri.

Şekil 5. İnterferonun antiviral aktivitesi.

Şekil 6. SARS-CoV-2'ye karşı immün yanıt.

Şekil 7. COVID-19 için tasarlanan aşılar.

Şekil 8. SARS-CoV-2'nin tetiklediği immün mekanizmalar.

Şekil 9. SARS-CoV-2'ye karşı immün yanıt.

Şekil 10. COVID-19 infeksiyonu serolojisi.

Şekil 11. Aşıların geliştirilme süreleri.

Şekil 12. COVID-19 hastalığı için geliştirilen aşılar.

Şekil 13. IGRA testi için kan alma tüpleri

Şekil 14. Anti-SARS-CoV-2 IGRA test prosedürü

SİMGELER ve KISALTMALAR

aAPC: Yapay antijen sunan hücreler

ACE-2: S proteinin anjiotensin dönüştürücü enzim 2'si

ARDS: Akut solunum sıkıntısı sendromu

ASH: Antijen sunucu hücreler

CoV: Koronavirüs

COVID-19: Coronavirus disease-2019

CR: Bağlantı bölgesi

CRISPR: Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (Düzenli Aralıklarla Bölünmüş Kısa Palindromik Tekrarlar)

DH: Dentritik hücre

DM: Diabetes mellitus

DMV: Çift membranlı veziküller

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

ELISA: Otomatik enzim bağlantılı immüno-sorbent tahlili

ERGIC: Endoplazmik retikulum-golgi aygıtı ara bölmesi

FDA: Amerika Gıda ve İlaç Dairesi

H-CoV: İnsan koronavirüsü

HE: Hemaglutinin esteraz

IFN: İnterferon

IGRA: Anti-SARS-CoV-2 İnterferon Gamma Release Assay

JAK1: Janus kinaz 1

MERS: Orta Doğu solunum sendromu

MERS-CoV: Orta Doğu solunum sendromu koronavirüsü

MHC: Major Histocompatibility Complex Molecules

nAb: Nötralize edici antikor

NIAID: Ulusal Alerji ve Bulaşıcı Hastalıklar Enstitüsü

NK: Doğal öldürücü hücreler

NSP: Yapısal olmayan protein

ORF: Açık okuma çerçevesi

PAMP: Patojen ilişkili moleküler paternler

PRNT: Plak redüksiyon nötralizasyon testi

PRR: Patern tanıyan reseptörler

pSTAT1: Transkripsiyon faktörü STAT1

PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu

RBD: Reseptör bağlanma alanı

RIG-I: Retinoic acid-inducible gene I

RLU: Relative light unit

RTC: Replikasyon transkripsiyon kompleksi

saRNA: self-amplifiye mRNA

SARS: Şiddetli akut solunum sendromu

SARS-CoV: Şiddetli akut solunum sendromu koronavirüsü

STAT2: Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon 2'nin aktivatörü

TLR: Toll like reseptör

TMPRSS2: Transmembran proteaz serin 2

TRAF: TNF receptor-associated factors

VKİ: Vücut kitle indeksi

VLP: Virüs benzeri parçacık

VOC: Endişe uyandıran varyantlar

VOI: Dikkate alınması gereken varyantlar

VUM: İzleme altındaki varyantlar



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Koronavirüsler (CoV), kedi, köpek, yarasa, domuz, kanatlılar ve kemirgenlerde bulunabilen, hayvanlardan insanlara bulaşabilen, solunum yolu ve gastrointestinal sistem infeksiyonlarına neden olabilen zoonotik viral patojenlerdir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 7 Ocak 2020’de etkenin insanlarda infeksiyona neden olan yeni bir koronavirüs olduğunu ortaya koymuştur. Etken virüs, Uluslararası Virüs Taksonomi Komitesi tarafından SARS-CoV-2 olarak adlandırılmış, virüsün neden olduğu hastalık ise coronavirus disease-2019 (COVID-19) olarak tanımlanmıştır (1,2).

Küresel ölçekte alınan tüm önlemlere ve aşılama çalışmalarına rağmen SARS-CoV-2 pandemisi yeni mutasyonlar ve varyantlarla yayılmaya devam etmektedir (3). Bu nedenle hem güvenilir bağışık yanıt belirteçlerine hem de bunları ölçebilen ve izleyebilen uygun laboratuvar tanı yöntemlerine ihtiyaç vardır (4).

Bu çalışmada T.C. Sağlık Bakanlığı COVID-19 aşısı takvimine göre aşısı uygulanan bireylerde, CoronaVac ve BioNTech aşılardan sonra oluşan, hücresel ve humoral immünitinin göstergesi olan interferon-gama ile IgG antikor düzeylerinin araştırılarak karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

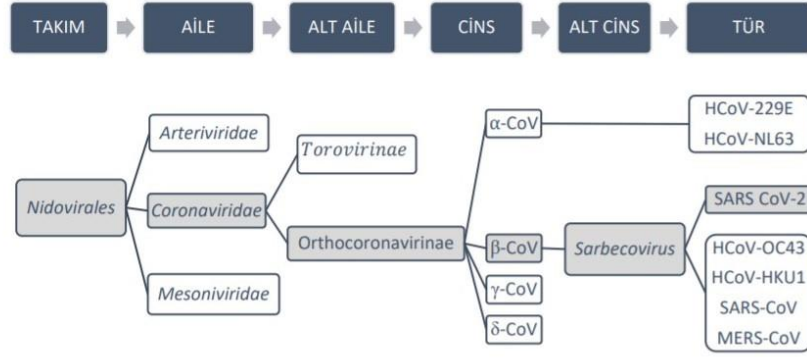
2.1. Koronavirüsler

2.1.1. Koronavirüs tarihçesi

İnsan koronavirüsleri (HCoV) ilk kez 1960’larda soğuk algınlığı olan hastalarda tanımlanmıştır (5). Şiddetli akut solunum sendromu koronavirüsü (SARS-CoV), 2003 yılında daha önceden bilinmeyen bir virüs halinde ortaya çıkmış ve yüzlerce insanın ölümüne sebep olmuştur. Eylül 2012 tarihinde ise daha önce insan ya da hayvanlarda tespit edilmemiş olan Orta Doğu solunum sendromu koronavirüsü (MERS-CoV) Suudi Arabistan’da insanlarda tanımlanmış; daha sonra ilk vakaların aslında Nisan 2012’de Ürdün’de görüldüğü belirlenmiştir (1).

2.1.2. Koronavirüs taksonomisi

RNA virüslerinden *Nidovirales* takımında *Coronaviridae*, *Arteriviridae*, *Mesoniviridae* ve *Roniviridae* aileleri bulunur. *Coronaviridae* ailesi *Orthocoronavirinae* ve *Torovirinae* olarak iki alt aileye ayrılmıştır. Koronavirüsler (CoV), *Nidovirales* takımına, *Coronaviridae* ailesine ve *Orthocoronavirinae* alt ailesine ait en büyük virus grubudur. *Orthocoronavirinae* alt ailesi dört cins ayrılmaktadır; Alfacoronavirus (α -CoV), Betacoronavirus (β -CoV), Deltacoronavirus (δ -CoV) ve Gamacoronavirus (γ -CoV) (6–9). Alfacoronavirüs cinsi içerisinde HCoV-229E ve HCoV-NL63 türleri bulunur. Betacoronavirus cinsi içerisinde ise A, B, C, D olarak 4 soy bulunur: HCoV-OC43 ve HCoV-HKU1 (A soyu), SARS-CoV (B soyu), MERS-CoV (C soyu) ve SARS-CoV-2 (2B soyu) (5). SARS-CoV-2 ise β -CoV cinsine, *Sarbecovirus* alt cinsine ait RNA virusudur. Alfacoronavirüsler ve betacoronavirüsler yalnızca memelileri enfekte edip genellikle insanlarda solunum yolu hastalığına ve hayvanlarda gastroenterite neden olur. Gamacoronavirüsler ve deltacoronavirüsler ise kuşları enfekte eder, ancak bazıları memelileri de enfekte edebilir (10). Koronavirüslerin sınıflandırılması Şekil 1’de gösterilmiştir.



Şekil 1. Koronavirüs taksonomisi (11).

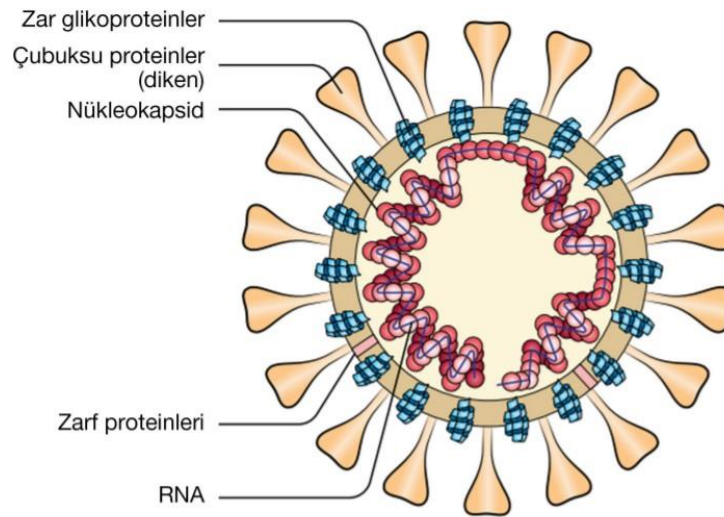
İnsanda hastalık oluşturduğu bilinen düşük ve yüksek patojenik olarak toplamda 7 CoV suşu bulunmaktadır. Bunlardan 229E, HKU1, OC43 ve NL63 düşük patojenik özellik göstermekte ve immünokompetanlarda hafif seyirli solunum yolu hastalıklarına neden olmakta iken SARS-CoV ve MERS-CoV yüksek patojenik özellik göstermekte ve sıklıkla alt solunum yollarını enfekte edip ağır pnömoni tablosuna neden olmaktadır (5,12,13).

2.1.3. Koronavirüs genomu ve virolojik özellikler

Nidovirales takımındaki tüm virüsler zarflı, segmentsiz, pozitif polariteli RNA virüsleridir (7). *Nidovirales* takımındaki virüslerin ortak özellikleri şunlardır: (14) yapısal ve yardımcı genlerden önce gelen büyük bir replikaz genine sahip korunmuş bir genomik organizasyon; (15) ribozomal çerçeve kayması ile birçok yapısal olmayan genin ekspresyonu; (16) büyük replikaz-transkriptaz poliproteininde kodlanmış birkaç benzersiz enzimatik aktivite; (17) 3' nested sub-genomic mRNA'ların sentezi ile downstream genlerinin ekspresyonu.

“Koronavirüs” terimi, CoV virionlarının elektron mikroskobu altında incelendiğinde, virüs zarından çıkan uzantılarının bir taç (Latince *korona*) görünümü vermesinden kaynaklı ortaya çıkmıştır (18). CoV çapı yaklaşık 80-120 nm olan, yuvarlak ve bazen pleomorfik virionlara sahip zarflı, pozitif polariteli, helikal simetrik, tek sarmallı bir RNA virusudur. CoV yaklaşık 26-32 kilobaz boyutunda bilinen en büyük genoma sahip RNA virüsüdür (9). Genomun büyük olması, virüsün replikasyonu sırasında konağa daha az bağımlı olmasına neden olur. CoV

replikasyonu solunum sistemi ve gastrointestinal sistem epitel hücrelerinin sitoplazmasında meydana gelir. Koronavirüsler, konak genomuna entegre olmadan RNA bağımlı RNA polimeraz (RdRp) sayesinde kendi genomlarını replike edebilirler (1). Tüm koronavirüsler arasında genomlarının organizasyonu ve ekspresyonu açısından benzerlikler mevcuttur; genom yapısı 5' UTR -lider -replikaz- S (Spike)-E (Envelop)-M (Membran)-N (Nükleokapsid)-3' UTR-poli (A) kuyruğu şeklindedir. 5' ucundaki açık okuma çerçevesi (ORF) 1a/b tarafından 16 yapısal olmayan protein (nsp1-nsp16); 3' ucundaki diğer ORF'ler tarafından ise spike (S), envelop (E), membran (M), nükleokapsid (N) yapısal proteinleri kodlanır (5). Bazı betacoronavirusler ek olarak membran proteini ve hemaglutinin esteraza (HE) sahiptir (19).



Şekil 2. Koronavirüs şematik yapısı (20).

2.2. SARS-CoV-2 Tarihçesi

İlk olarak 31 Aralık 2019 tarihinde Çin'in Hubei Eyaleti, Wuhan Şehrinde, deniz ürünleri ve canlı hayvan pazarında bulunan kişilerde meydana gelen atipik pnömoni vakaları bildirilmiştir (1). İlk COVID-19 vakası, bir haftadır süren ateş, göğüs ağrısı, öksürük, halsizlik şikayetleriyle hastaneye başvurmuştur. Avrupa'daki ilk vaka, 24 Ocak 2020 tarihinde Fransa'da, Türkiye'de ilk vaka ise 11 Mart 2020 tarihinde saptanmıştır. Salgın, DSÖ tarafından 11 Mart 2020 tarihinde de pandemi

olarak ilan edilmiştir (21,22). Yeni bir CoV olan bu izolat DSÖ tarafından önce 2019-nCoV, daha sonra SARS-CoV-2 olarak adlandırılmıştır (8).

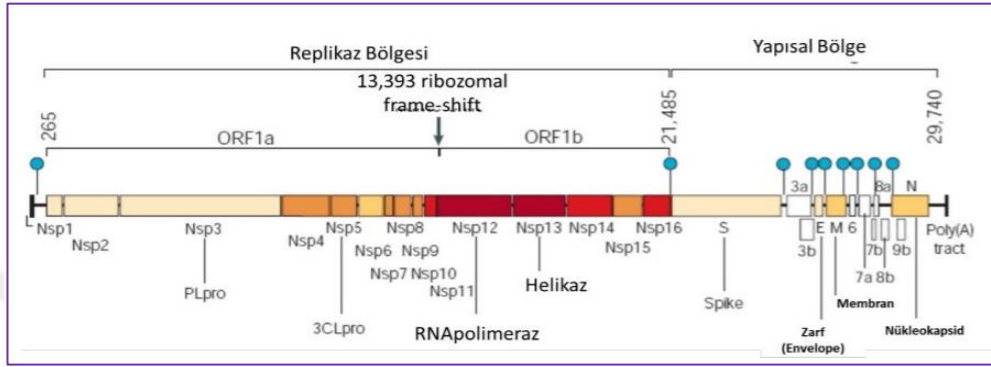
2.3. SARS-CoV-2 Genomik ve Virolojik Özellikleri

SARS-CoV-2 betacoronavirus 2b soyundandır. SARS-CoV-2 genomunda yapısal ve yapısal olmayan proteinler bulunmaktadır. ORF 1a ve ORF 1b genleri iki poliprotein (pp1a ve pp1b) üretir. Bu poliproteinler poliproteazlar tarafından işlenirler ve 16 yapısal olmayan proteini üretirler (nsp 1-16). Bu yapısal olmayan proteinlerden nsp 1 ve nsp 2 gen ekspresyonunun baskılanmasında rol oynar. Polipeptitleri bölen papain like proteinaz enzimini nsp 3, transmembran alanını nsp 3, 4 ve 6, 3C-like proteinaz enzimini nsp 5, RNA bağımlı RNA polimeraz enzimini nsp 12, helikaz enzimini nsp 13, ekzoribonükleaz ile N 7-metil transferaz enzimlerini nsp 14, endoribonükleaz enzimini nsp 15, O-metil transferaz enzimini nsp 16 kodlayarak genomun hatasız olmasını sağlar (23). Virusun genomik yapısı Şekil 3'te gösterilmiştir.

Virionda S, M, E ve N yapısal proteinleri bulunmaktadır. M proteinini ORF 3, 5, 6, E proteinini ORF 4, N proteinini ise ORF 9 geni kodlamaktadır. ORF 7a antikor benzeri bir yapı olup virusun endoplazmik retikuluma girebilmesi için gereklidir. ORF 10 ise SARS-CoV-2'ye özel olup tedavide hedef olabilir. Halen görevi bilinmemektedir (24).

S proteini konak hücre tropizmini belirleyen önemli viral proteindir. Genomda S proteini S1 ve S2 subunitlerinden oluşur. S1 alt birimi konak hücre reseptörüne bağlanmada, S2 alt birimi ise membran füzyonunda görevlidir. M proteini, virionda en bol bulunan protein olup üç transmembran bölgesine sahiptir. M proteinleri golgi aygıtında glikozile edilir. Proteinin bu modifikasyonu, virionun hücre içine füzyonunda ve proteinin antijenik özellik kazanmasında önemlidir. Ayrıca M proteini, hücre içindeki virionların yenilenmesinde önemli bir rol oynar. N proteini, genomik RNA'ya bağlanarak bir kompleks oluşturur ve daha sonra M proteini, endoplazmik retikulum-golgi aygıtı ara bölmesinde (ERGIC) bu kompleks ile etkileşime girerek virionların oluşumunu tetikler (25). M proteini Toll-like reseptör bağımlı mekanizma ile interferon-beta (IFN-beta) yolağının aktive

edilmesini sağlarken; N proteini interferon antagonisti olarak davranıp virüsün immün sistem tarafından yok edilmesini inhibe eder. E proteini; viral parçaların bir araya getirilmesi, virüs salınımı ve patogeneğinde görevlidir. Ayrıca virüsün tomurcuklanarak hücreden ayrılmasında rol oynayan önemli bir virülans faktörüdür (25,26).



Şekil 3. SARS-CoV-2 genom yapısı (27).

2.4. SARS-CoV-2 Varyantları

Virüslerin, özellikle de SARS-CoV-2 gibi RNA virüslerinin çoğalması ve yayılması sırasında genomlarındaki mutasyonlar sonucu oluşan virüslere varyant virüs denilmektedir. Mutasyonlar, tüm virüslerin doğal bir özelliğidir, bununla birlikte RNA virüsleri, DNA virüslerinden daha yüksek mutasyon oranlarına sahiptir. Koronavirüsler, RNA polimerazların içerdiği hatalı mutajenik nükleotitleri kesen enzim bulundurması nedeniyle diğer RNA virüslerinden daha az mutasyona neden olur. SARS-CoV-2 varyantları için tutarlı bir isimlendirme oluşturulmamıştır ancak genel olarak kullanılan üç ana terminoloji önerilmiştir. GISAID, Nextstrain ve Pango tarafından SARS-CoV-2 genetik soylarının adlandırılması ve izlenmesi için yerleşik adlandırma sistemleri şu anda bilimsel araştırmalarda kullanılmaktadır. Bu isimlendirme sistemleriyle SARS-CoV-2 varyantları endişe uyandıran varyantlar (VOC), dikkate alınması gereken varyantlar (VOI), izleme altındaki varyantlar (VUM) olarak gruplandırılabilir (28,29).

Variant of Concern (VOC): Endişe uyandıran varyantlar

Dünya sağlık örgütünün yapmış olduğu tanımlamaya göre VOC;

- COVID-19 epidemiyolojisinde olumsuz değişiklik oluşturan veya bulaştırıcılığı artmış,
- Virülansta artış veya klinik tabloda deęişikliğe yol ačan,
- Halk sağlığı ve sosyal önlemlerin yetersiz kaldığı, mevcut tanı, tedavi ve aşıların etkinliğinde azalma görülen varyantlardır (29).

DSÖ'ye göre şu anda belirlenmiş olan VOC varyantları alfa, beta, gama, delta ve omikron olmak üzere beş (5) tanedir (29).

Tablo 1. Tespit edilen VOC varyantları (29).

DSÖ	VOC İSİMLENDİRMELERİ			İlk saptama
	Pango	GISAID	Nextstrain	
Alfa	B.1.1.7	GRY	20I (V1)	İngiltere, Eylül 2020
Beta	B.1.351	GH/501Y. V2	20H(V2)	Güney Afrika, Mayıs 2020
Gamma	P.1	GR/501Y. V3	20J(V3)	Brezilya, Kasım 2020
Delta	B.1.617.2	G/478K.V1	21A,21I,21J	Hindistan, Ekim 2020
Omikron	B.1.1.529	GRA	21K,21L,21M	Birden çok ülke, Kasım 2021

Alfa varyantı: İlk olarak İngiltere'de görülen B.1.1.7 varyantı, S proteininde asparagin (N) aminoasidinin tirozin (Y) ile değiştirildiği pozisyon 501'deki reseptör bağlanma alanının yapısını etkileyen bir mutasyon taşır. Bu varyant ayrıca 69/70 delesyon ve P681H mutasyonuna da sahiptir. SARS-CoV-2'nin orijinal türüyle (Wuhan) karşılaştırıldığında, %30-40 daha bulaşıcıdır, klinik tablo daha ağır olup

ölüm oranları daha yüksek saptanmaktadır. Ayrıca alfa varyantının nötralizan antikordan hafif düzeyde kaçabildiği, COVID-19 aşılarının ise bu varyanta karşı etkin olduğu belirtilmektedir (30).

Beta varyantı: İlk olarak Güney Afrika'da görülen B.1.351 varyantı, S proteininde K417N, E484K, N501Y bölgeleri olmak üzere birden fazla mutasyona sahiptir. B.1.1.7 varyantından farklı olarak 69/70'de delesyon içermez. Orjinal virus ve alfa varyantına göre bulaşma hızı daha yüksek, hastalığın ciddiyeti daha ağırdır. Antikorlardan kaçabilmesinden dolayı aşı etkinliği düşüktür (30).

Gama varyantı: İlk olarak Brezilya'da tanımlanan P.1 varyantı, S proteinin reseptör bağlanma alanında K417T, E484K ve N501Y mutasyonlarına ve beta varyantı ile bazı eş mutasyonlara sahiptir. Bu varyantdaki bazı mutasyonların, doğal enfeksiyon veya aşılama yoluyla üretilen antikorların virüsü tanıma ve nötralize etme kabiliyetini etkileyebileceğine dair kanıtlar vardır. Virusun bulaş hızı artmıştır, hastalık ciddiyetine etkisi ise net bilinmemektedir (30).

Delta varyantı: İlk olarak Hindistan'da Aralık 2020 tarihinde tespit edilen B.1.617.2 varyantı, spike proteinindeki 19R, (G142D), 156del, 157del, R158G, L452R, T478K, D614G, P681R, D950N mutasyonlarına sahiptir. Delta varyantı daha bulaştırıcıdır ve hastalık şiddetini artırıp artırmadığı net değildir. Delta varyantı mevcut COVID-19 aşılara karşı orta düzeyde dirençli bulunmuştur (30).

Omikron varyantı: SARS-CoV-2'nin B.1.1.529 (Omicron) yeni bir çeşidi ilk olarak 24 Kasım 2021 tarihinde Güney Afrika tarafından Dünya Sağlık Örgütü'ne bildirilmiştir. Omikron bulaşıcılığı artırma, terapötiklere direnç sağlama veya enfeksiyon veya aşı kaynaklı bağışıklıktan kısmen kurtulma potansiyeline sahip çok sayıda mutasyona sahiptir. A.B.D.'de ilk vaka 1 Aralık 2021 tarihinde tespit edilmiştir (31).

Variant of Interest (VOI): Dikkate alınması gereken varyantlar

Dünya sağlık örgütünün tanımına göre VOI; klasik hastalık bulgularından farklı seyir geliştirecek ve toplumda birden çok COVID-19 vaka kümeleri oluşturan ya da birden

fazla ülkede saptanan varyantlardır. Bu varyantların bulaştırıcılık, klinik seyir, ilaç ve aşı yanıtları izlem altında tutulmaktadır. Lambda ve mü olarak iki gruba ayrılır (29).

Tablo 2. Tespit edilen VOI varyantları (29).

VOI İSİMLENDİRMELERİ				
DSÖ	Pango	GSIAID	Nextstrain	İlk saptama
Lambda	C.37	GR/452Q.V1	21G	Peru-Aralık 2020
Mü	B.1.621	GH	21H	Kolombia-Ocak 2021

Variants Under Monitoring (VUM): İzleme Altındaki Varyantlar

Dünya sağlık örgütüne göre fenotipik veya epidemiyolojik etki kanıtı şu anda belirsiz olan ancak gelecekte bir risk oluşturabileceğine dair bazı belirtilere sahip olan VUM varyantları, yeni kanıtlar ortaya çıkana kadar izlem gerektirmektedir. İzlenmesi gereken varyant olarak kategorize edilen bu varyantlara Epsilon, Zeta, Eta, Teta, Iota, Kappa isimleri verilmiştir (29).

Tablo 3. Tespit edilen VUM varyantları (29).

VUM İSİMLENDİRMELERİ			İlk saptama
DSÖ	Pango	GISAID/Nextstrain	
Epsilon	B.1.427/ B.1.429	GH/452R.V121C	ABD, Mart 2020
Zeta	P.2	GR/484K.V2 20B/S.484K	Brezilya, Nisan 2020
Eta	B.1.525	G/484K.V321D	Çeşitli ülkeler, Aralık 2020
Theta	P.3	GR/1092K.V121E	Filipinler, Ocak 2021
Iota	B.1.526	GH/253G.V121F	ABD, Kasım 2020
Kappa	B.1.617.1	G/452R.V321B	Hindistan, Ekim 2020

Hafif şiddette COVID-19 enfeksiyonu ile ilgili mutasyonlar:

Bu mutasyonlar;

- ORF8 proteininde L84S mutasyonu
- NSP6 proteininde L37F mutasyonu
- ORF3a proteininde G196V mutasyonu
- NSP4 proteininde F308Y mutasyonu
- Nükleokapsid fosfoproteininde S197L mutasyonudur (32).

Ağır şiddette COVID-19 enfeksiyonu ile ilgili mutasyonlar:

Bu mutasyonlar 7 genden kaynaklıdır. Bunlar;

- Yüzey (S) glikoproteininde L54F, D614G ve V1176F mutasyonları
- RNA'ya bağımlı RNA polimeraz enziminde A97V ve P323L mutasyonları
- ORF3a proteininde Q57H ve G251V mutasyonları
- Nükleokapsid fosfoproteininde P13L, S194L, R203K, G204R ve I292T mutasyonları
- ORF6 proteininde I33T, NSP3 proteininde S1197R ve T1198K mutasyonlarıdır (32).

2.5. SARS-CoV-2 Replikasyonu

SARS-CoV-2 virusunun konakçı hücreye girişi, S proteininin anjiyotensin dönüştürücü enzim-2 (ACE-2) reseptörüne bağlanmasıyla, daha sonra hücresel katepsin L ve hücre yüzeyi ilişkili transmembran proteaz serin 2 (TMPRSS2) tarafından proteolize uğrayıp S1/S2 kısımlarına ayrılması sonucu gerçekleşir. TMPRSS2, plazma membran yüzeyinde füzyonu kolaylaştırırken; katepsin L, endozomlarda SARS-CoV-2 S proteinini etkinleştirir. S proteininin reseptör bağlayıcı domaini ACE-2 reseptörünün ekstraselüler peptidaz domaini ile tanınır enfeksiyon oluşur (33,34).

Virus solunum yoluyla vücuda girdikten sonra, vasküler endotelial hücreler ve alveolar makrofajlar virüsün ilk hedefleridir. Hasta bireylerin öksürme, hapşırma yoluyla ortaya çıktıkları damlacıklarla diğer kişilerin temas etmesi sonrasında bu kişilerin ellerini ağız, burun veya göz mukozasına götürmesi yoluyla da bulaş meydana gelebilmektedir. Asemptomatik bireylerin solunum yolu salgılarında da virüs tespit edilebildiğinden bulaştırıcı olabilmektedirler (35). Virüs diğer organlarda da ACE-2 reseptörü olan yerlere bağlanabilir ve semptomlar oluşabilmektedir (36). Koronavirüsün konakçıdaki yaşam döngüsü 5 adımda gerçekleşir:

a. Bağlanma ve giriş

SARS-CoV-2 replikasyonu virüsün S proteininin hücre yüzeyindeki reseptöre bağlanmasıyla başlamaktadır. S protein-reseptör etkileşimi, koronavirüsün bir konak türünü enfekte etmesi için ana belirleyicidir ve virüsün doku tropizmini belirler. Birçok koronavirüs hücresel reseptörü olarak peptidazları kullanır. Örneğin; HCoV-229E aminopeptidaz N (APN), HCoV-NL63 ve SARS-CoV ACE-2, MERS-CoV

dipeptidil peptidaz 4 (DPP-4), HCoV-OC43 ve HCoV-HKU1 ise 9-O-asetilsalisilik asiti reseptör olarak kullanır (7). Koronavirüsler reseptörlerine bağlandıktan sonra, endositoz veya membran füzyonu yoluyla konakçı hücrelere girerler (37).

b. Replikaz Proteininin Ekspresyonu ve Replikasyon Transkripsiyon Kompleksinin Birleştirilmesi

Koronavirüs replikasyonunda ikinci adım, virion genomik RNA'sından replikaz geninin translasyonudur. Replikaz geni, iki eş terminal poliproteini, pp1a ve pp1ab'yi ifade eden rep1a ve rep1b olmak üzere iki büyük ORF'yi kodlar (7). Pp1a ve pp1ab'nin proteolitik enzimlerce parçalanması sonucu 16 yapısal olmayan protein (nsp) oluşmaktadır. Pp1a nsp 1-11, pp1ab nsp 1-16'yı oluşturmaktadır. Bu esnada virüsün replikasyon ve transkripsiyonu için hücre içerisinde virüs tarafından replikaz-transkriptaz kompleksi (RTC) oluşturulur. Nsp 3, 4 ve 6 koronavirüs RTC'lerinin birleştirildiği ve sabitlendiği çift membranlı veziküller (DMV) oluşturmak için hücresel membranın yeniden düzenlenmesini indüklemektedir. Nsp'lerin çoğu RNA sentezi için uygun bir ortam oluşturmak amacıyla RTC içinde birleşir ve sonuç olarak subgenomik RNA'ların replikasyonu ve transkripsiyonundan sorumludur (7).

c. Genom Replikasyon ve Transkripsiyonu

Viral replikaz komplekslerinin translasyonunu RNA sentezi takip eder. Viral RNA sentezi sonucu hem genomik hem de subgenomik RNA'lar üretilir. Subgenomik RNA'lar replikaz poliproteininin üretiminde kullanılan yapısal ve yardımcı genler için mRNA'lar olarak görev yapmaktadır. Hem genomik hem de subgenomik RNA'lar, negatif iplikli ara ürünler yoluyla üretilir. Replikasyon basamağındaki tüm bu işlemler hücre sitoplazmasındaki DMV'lerde gerçekleşmektedir (7).

d. Yapısal Proteinlerin Translasyonu

Viral replikasyon ve RNA sentezinin ardından subgenomik RNA'ların translasyonu ile majör yapısal proteinler olan S, E, M ve N proteinleri üretilir. Bu proteinler ERGIC'e doğru hareket ederler. S proteinlerinin homotrimerleri konakçı

reseptörlerine bağlanmadan sorumludurlar. M proteininin üç adet transmembran alanı membran eğriliğini destekler ve nükleokapsid bağlanır. E proteini, virüs salınmasında ve viral patogeneizde rol oynar. N proteini koronavirüs RNA genomuna bağlanır ve viral RNA'nın replikasyonunda rol oynamaktadır. Aynı zamanda bir interferon (IFN) antagonistidir (38).

e. Virion Birleştirilmesi ve Salınımı

Yapısal proteinler üretildikten sonra endoplazmik retikulum veya golgi zarına yerleştirilir. Genomik RNA ve nükleokapsid proteinin kombinasyonu ile nükleokapsid oluşturulur. Daha sonra viral partiküller M proteininin yönetimiyle, ERGIC'e hareket ederler. Sonunda, viral partikülleri içeren veziküller virüsü serbest bırakmak için plazma zarı ile birleşir. Birleşmeyi takiben, virionlar veziküller içinde hücre yüzeyine taşınır ve ekzositoz ile salınır (39).

2.6. SARS-CoV-2'ye Karşı Oluşan İmmün Yanıt

SARS-CoV-2 virüsü ile bireyin immün sistemi arasında hastalığın klinik seyri açısından yakın ilişki bulunmaktadır. Bazı kişilerde COVID-19 hastalığı asemptomatik seyrederken; bazı kişilerde pnömoni, solunum yetmezliği gibi ciddi komplikasyonlar görülebilmektedir (40). Doğal bağışıklık, virüslere karşı gelişen bağışık yanıtta ilk savunma mekanizması olup SARS-CoV-2 için de bu bağışık yanıt diğer koronavirüslere benzer şekilde gerçekleşir. Kazanılmış bağışıklık, virüsle enfekte hücreleri inhibe eden aktif CD8⁺ sitotoksik T hücreleri ve virüse spesifik antijenlere karşı antikor üreten B hücreleri yoluyla SARS-CoV-2'ye karşı savunmada önemli bir rol oynar (41). COVID-19 enfeksiyonunda B hücre yanıtı, semptomlar başladıktan yaklaşık 1 hafta sonra Th hücre yanıtı ile birlikte görülür (37). SARS-CoV-2'nin S ve N proteinleri, CD4⁺ T ve CD8⁺ T hücreleri tarafından tanınan epitoplara sahiptir (42). Sağlıklı bir immün sisteme sahip kişilerde COVID-19 enfeksiyonunda, SARS-CoV-2 virüs spesifik T hücreleri ve nötralize edici antikorlar, virüs yayılmadan önce enfekte olmuş hücreleri ortadan kaldırebilmektedir. Bu kişilerde alveolar makrofajlar nötralize virüsleri ve apoptotik hücreleri tanıyıp fagositoze eder. Böylece hastalık, minimum akciğer hasarına yol açarak iyileşme ile sonuçlanır (37).

2.6.1. İmmün sistem fizyolojisi

İmmün sistem, bir canlıda enfeksiyonlara karşı savunmayı sağlayan, patojenleri ve tümör hücrelerini tanıyıp onları yok etmeye çalışan mekanizmalar bütünüdür. Doğal ve kazanılmış bağışıklık olarak iki kısma ayrılır (43).

2.6.2. Doğal bağışıklık

Doğal immünite, enfeksiyonlara karşı ilk koruyucu engel olup aynı türdeki bireyler arasında farklılık gösterebilmektedir. Deri ve mukoz membranın sağlamlığı mikroorganizmaların vücuda girişini engeller. Doğal bağışıklığın başlıca yapıtaşları; epitel tabakası, kompleman sistemi, fagositik hücreler ve sitokinlerdir. Yine doğal bağışıklığın hücresel bileşenleri; nötrofil, monosit/makrofaj, mast hücreleri, doğal öldürücü (NK) hücreleri, eozonofil, bazofil ve dentritik hücreler iken çözünür molekülleri ise kompleman proteinleri, akut faz proteinleri (CRP, haptoglobulin, fibrinojen, serum amiloid A gibi) ve antimikrobiyal peptitlerdir (defensin gibi).

Doğal bağışıklık antijene özgül olmayıp immünolojik bellek oluşturmaz, enfeksiyondan çok kısa bir süre içinde meydana gelir. Doğal bağışıklığın hedefi olan mikrobiyal moleküllere, aynı tip mikroorganizma üzerinde bulunmaları nedeniyle moleküler patern adı verilir. Bu patojen ilişkili moleküler paternler (PAMP) patern tanıyan reseptörler (PRR) sayesinde tanınır. PAMP'ların PRR'ye bağlanması proinflamatuvar sitokinlerin salgılanması ve inflamasyonun başlamasına sebep olur. PRR, genetik olarak kodlanır ve somatik rekombinasyon gözlenmez (lenfosit reseptörleri ise lenfositlerin olgunlaşması esnasında reseptör genleri arasında rastgele somatik rekombinasyon sonucu oluşur ve bu nedenle tanıdığı antijenik çeşitlilik çok daha fazladır). Çeşitli PRR molekülleri bulunmakla birlikte önemli bir kısmını Toll like reseptör (TLR) grubu oluşturur. Doğal bağışıklık yanıt reseptörleri belli bir hücre tipinin bütün elemanlarının hücre yüzeyinde bulunurken edinsel immün sistemin reseptörleri klonal olarak dağılmıştır ve her klon farklı reseptör taşır. Doğal bağışıklık, ayrıca edinsel bağışıklığın etkili biçimde gelişmesini sağlayacak şekilde farklılaşmasını sağlar (44,45).

Doğal bağışıklık aynı etkenle her karşılaşmada benzer yanıt oluştururken, edinsel bağışıklık her karşılaşmada çok daha etkili bir yanıt oluşturur. Doğal

bağışıklık mikroorganizma dışında konağın kendi hücrelerine karşı reaksiyon vermemektedir. Doğal bağışıklığın en önemli özelliklerinden biri de, mikroorganizma için hayati öneme sahip ve mikroorganizmanın enfeksiyöz bölgelerini tanımasıdır. Bu durum mikroorganizmada oluşabilecek bir mutasyon sonucu doğal dirençten kaçışını önleyecektir (44).

Doğal immün yanıtın temel mekanizması olan inflamasyon, doku hasarına karşı konağın homeostazını korumak için meydana gelen sistemik ve hücrel yanıttır. Kızarıklık, şişlik, ağrı gibi bulgular oluşur. Fagositik hücreler olay bölgesine göç ederler. Bölgeye ilk nötrofiller daha sonra makrofajlar gelir. Lökosit ve integrinlerin etkisiyle nötrofil ve makrofajların, damar endoteline yapışıp inflamasyon bölgesine girmesine diapedez denir. Antijenlerin sitoplazma içine alınıp yok edilmesine de fagositoz denir. Nötrofil, makrofaj, dentritik hücre ve mast hücreleri fagositoz yapabilir. Fagosit yüzeyinde bulunan TLR ile mikroorganizma yüzeyinde bulunan PAMP'ların etkileşimi sonucu mikroorganizma yakalanır. Zardaki aktin-miyozin sistemi uyarılıp mikroorganizma psödopodlarla hücre içine alınır. Fagozom ve lizozom birleşip içerdiği proteolitik enzimlerle mikroorganizma sindirilir. Bu olaya oksijenden bağımsız öldürme denir. Fagositoz sırasında oksijen ve glukoz tüketiminde artış olup oksijen bağımlı öldürme olayı da meydana gelebilmektedir (44).

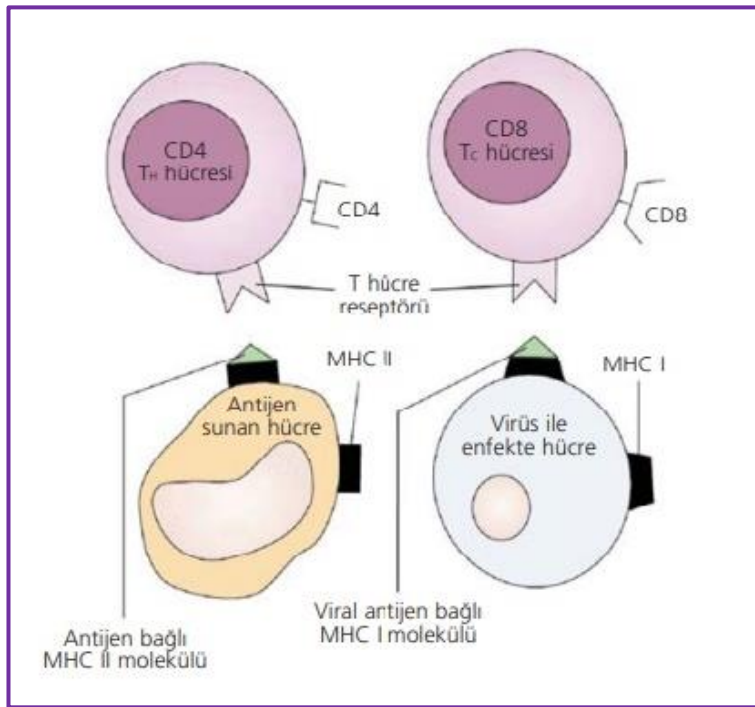
2.6.3. Kazanılmış (Edinsel) bağışıklık

Konağın doğal bariyerlerini aşan mikroorganizmalar edinsel yanıt ile karşılaşılır. Doğal bağışıklığın aksine edinsel bağışıklığın reseptörleri klonal dağılım gösterdiği için özgüllüğü çok daha fazla gelişmiştir ve immünolojik bellek oluşturur. Özgül antijen tanıma, lenfositlerin iki yüzey proteininin görevidir. Bunlar, B hücrelerinin membrana bağlı antikoru ve T lenfosit üzerindeki T hücre reseptörleridir. Edinsel immüitenin temel özelliği, organizmaya ait ve yabancı antijenler arasında ayırım yapabilmesidir. Bunun için önemli olan moleküller; hücre yüzeyi doku uygunluk kompleks molekülleridir (*Major Histocompatibility Complex Molecules*, MHC) (46). MHC molekülleri peptid antijenlerini T lenfositlerinin tanınması için gösteren membran proteinleridir (44). Edinsel immün sistemin primer hücreleri T ve B lenfositleridir. B lenfositler protein, lipid, karbonhidratları tanırken;

T lenfositler sadece MHC molekülleri ile kendisine sunulan peptitleri tanıyabilir. Edinsel bağışıklık kişinin enfeksiyonu doğal olarak geçirmesi ya da gebelikte plasentadan geçen antikolar aracılığıyla doğal yolla kazanılabilirken; aşı ya da hiperimmünglobulinlerin verilmesiyle yapay yolla da kazanılabilir. Edinsel bağışıklık T lenfosit aracılığı ile gelişen hücresel, B lenfosit aracılığıyla gelişen hümoral yanıt olarak ikiye ayrılır (45).

Hücresel immün yanıt

MHC molekülleri, insanda 6. kromozomda yer alan *insan lökosit antijenleri* (HLA) gen kompleksinin ürünü olup iki gruba ayrılır: MHC-I ve MHC-II. Bu moleküllerden MHC-I tüm çekirdekli hücrelerde bulunurken; MHC-II başlıca makrofajlar, dentritik hücreler ve B lenfositler gibi antijen sunan hücreler üzerinde bulunur. Edinsel immün yanıt ekzojen ve endojen olarak iki yolla başlayabilir. MHC-I moleküllerinin $CD8^+$ T hücrelerine antijen sunması endojen yol, MHC-II moleküllerinin $CD4^+$ T hücrelerine antijen sunması ekzojen yol olarak bilinmektedir. MHC-I molekülleri ile $CD8^+$ T hücreleri, MHC-II molekülleri ile $CD4^+$ T hücrelerine antijen sunması sonucu hücresel immün yanıt başlamış olur (43,45) (Şekil 4).



Şekil 4. $CD4^+$ T ve $CD8^+$ T hücrelerinin, antijen sunan hücre ve virüsle enfekte olmuş bir hücre ile etkileşimleri (43).

MHC molekülleri yalnızca peptit yapıları bağlar ve üzerinde bu peptitlerin yerleştiği tek bir kovuk bulunur. Hücre içinde viral proteinler, tümör antijenleri gibi antijenik peptitler (AgP) transporter-associated with antigen processing (TAP) tarafından endoplazmik retikuluma taşınırlar. Bu antijenik peptitler, MHC-I molekülünün kovuğuna bağlanıp CD8⁺ T hücrelerine antijen sunarak aktive ederler. Aktive olan CD8⁺ T hücreleri de sitotoksik T hücrelerini (Tc) oluşturur. Tc hücrelerinin görevi, yüzeyinde MHC-I+AgP taşıyan hücreleri tanıyıp bağlanmak ve öldürmektir (45).

Antijen sunucu hücreler (ASH) tarafından endoplazmik retikulumda sürekli sentezlenen MHC-II moleküllerinin ekspresyonu hem yapısal ve hem de makrofajların varlığında interferon-gamma (IFN- γ) ile indüklenebilir (47). Makrofajlar normalde az sayıda MHC-II molekülleri taşıdığı için antijen sunucu hücre olarak sayılmazken IFN- γ etkisi ile güçlü bir antijen sunumu yapabilirler. Hücre dışındaki bakteri gibi ekzojen antijenler, antijen sunan hücreler tarafından fago-lizozomlarda parçalanarak küçük peptitlere ayrılır. Bu antijenik peptitler MHC-II moleküllerindeki kovuğa yerleşir ve naif Th (Th0) hücrelerine sunulur. Naif Th hücre aktivasyonu için önce Th hücre yüzeyindeki CD4+TCR ile ASH yüzeyindeki MHC-II+AgP kompleksinin birleşmesi, daha sonra yine Th üzerindeki CD28 ile ASH üzerindeki B7 molekülünün birleşmesi ve DH'ler tarafından sitokin salgılanması gereklidir. DH'ler tarafından salgılanan sitokinler Th hücre yanıtının yönünü belirler. Örneğin, hücre içi bakteri ve viruslar ile aktive olunca Th0 hücrelerini Th1'e dönüştürecek olan IFN- γ ve IL-12; helmintler ile aktive olunca Th2'ye dönüştürecek IL-4 ve IL-10; bazı hücre dışı bakteri ve mantar ile aktive olunca Th17'ye dönüştürecek olan TGF- β , IL-6, IL-21 gibi sitokinleri salgılar (44,45).

Hümmoral İmmün Yanıt

Hümmoral immünite, antikorlar aracılığıyla hücre dışı mikroorganizmaların ve toksinlerin yok edilmesini sağlayan sistemdir. B lenfositlerin görev aldığı spesifik bir antikor yanıtıdır. Hümmoral immün yanıt dalak, lenf düğümü ve mukozal lenfoid dokulardaki antijene özgül B lenfositlerin, antijeni tanınması sonucu başlar. Naif B lenfositleri, hücre zarına bağlı antijen reseptörü olan IgM ve IgD antikorlarını eksprese eder. Yüzeylerinde farklı reseptörlere sahip her B hücresi, bir klon

oluşturup yüzeyindeki reseptöre uygun antijen bağlandıktan sonra aktive olmaktadır. Belirli bir antijen tarafından belli bir B hücre klonunun seçilmesine klonal çoğalma denir. B lenfositlerin aktivasyonu, antijene özgül hücrelerin çoğalmasına ve bunların antikor sentezleyen plazma hücrelerine farklılaşmasına sebep olur. Bu farklılaşma sırasında B hücreleri farklı mikroorganizmalarla savaşmak için farklı ağır zincir izotiplerine aracılık eden antikorlar üretebilir. Bu olaya ağır zincir izotip değiştirme denir. Bir antijene tekrar tekrar maruz kalma sonucu mikroplara bağlanıp nötralize etme yeteneği gelişmiş, yüksek afiniteye sahip antikorların üretilmesine afinite olgunlaşması denir. Farklı antijenlere karşı B hücre yanıtları T hücre yardımı gerektirme durumuna göre T-bağımlı ve T-bağımsız olarak sınıflandırılır (44,45).

Vücuda antijenin ilk kez girişi ile ortaya çıkan yanıtta primer immün yanıt denir. Primer immün yanıtta naif B hücrelerinin seçimi, aktivasyonu ve proliferasyonu gerçekleşmesi için uzun süre gerekir. Primer immün yanıt oluşma süresi (lag periyodu) 5-10 gün sürer. Primer yanıtta üretilen antikor miktarı az olup majör antikor tipi düşük afiniteye sahip IgM'dir. Bellek B hücresinin antijenle yeniden karşılaşmasında sekonder immün yanıt meydana gelir. Sekonder immün yanıtta ise yardımcı T lenfositlerin sayısı ve aktivitesi artar, afinite olgunlaşması ile izotip değişimi meydana gelir. Sekonder yanıtta genellikle lag periyodu 1-3 gün sürer. Bellek B hücrelerinin çoğunda izotip değişimi gerçekleştiği için genelde IgG, IgA, IgE ekspres ederler (44,45).

Sitokinler

Sitokinler, lökositlerin ve diğer hücrelerin hareketini, proliferasyonunu ve diferansiyasyonunu düzenleyen, çözünür, düşük molekül ağırlıklı (20-30 kD) immünmodülatör proteinlerdir. Uyarılan hücrelerden kısa sürede salgılanır ama depolanmazlar. İkinci habercilerle, çoğunlukla tirozin kinazlarla kendilerine özgül reseptörlere bağlanarak otokrin, parakrin, endokrin özellikler gösterebilirler. Genel olarak lenfoid sistem ve diğer bazı hücrelerin çoğalması, yara iyileşmesi, hematopoez, embriyogenez ve sinir sisteminin gelişimi, akut faz cevabı, hipofiz hormonlarının sentezi, antiviral etkinlik gibi fonksiyonlara sahiptirler (43,45,48).

Fonksiyonlarına göre; doğal bağışıklıkta görevli (IL-1, IL-6, IL-12, TNF- α ,

IFN α/β , IFN- γ), edinsel bağışıklıkta görevli (IL-1, IL-4, IL-6, IL-10, IFN- γ), hematopoezi düzenleyici (IL-3, IL-7, IL-15), kemotaksisi sağlayan (IL-8) olarak gruplandırılabilirler (49).

İnterferonlar

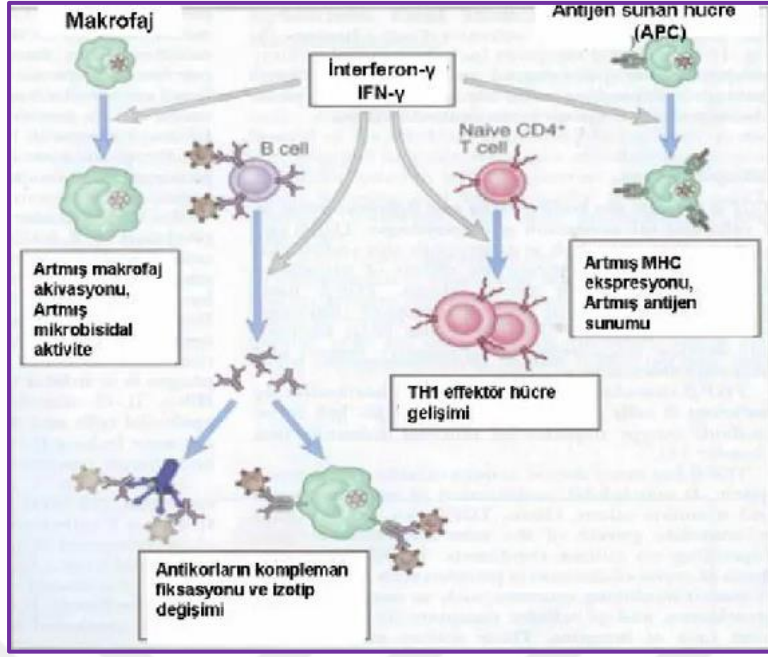
İnterferon (IFN) ailesi, hücrelerimizi virüslere ve riketsia, malarya gibi hücre içi parazitlere karşı koruyan, hücreler arasındaki iletişim için kullanılan bir sitokin grubudur. İnterferon aracılı antiviral yanıtlar, viral enfeksiyona karşı konak savunmasında merkezdir. İnterferonlar patojenlere karşı savunma mekanizmalarını tetiklemek için doğuştan gelen ve adaptif immün yanıt arasında önemli bir bağlantı görevi görür (50). Bakteriyel toksinler, kompleks polisakkaridler ve bazı kimyasal maddeler IFN üretimini indükleyebilir. IFN'ler bağlandıkları reseptör alt tipine göre üç kategoride sınıflandırılır: Tip I IFN, Tip II IFN ve Tip III IFN. Tip I IFN'nin IFN- α , IFN- β , IFN- ϵ , IFN- κ , IFN- ω , IFN- δ , IFN- τ gibi 13 alt tipi bulunurken; Tip II IFN'nin γ (gama) alt tipi, Tip III IFN'nin λ (lambda) alt tipi mevcuttur (51,52).

Tip I IFN 143 aminoasit içerir ve insanda 9. kromozomdaki genlerden üretilmiştir (53). Bu grubun üyesi olan IFN- α 'nın çok sayıda alt tipi olup insan vücudunda en fazla IFN-alfa 2 bulunur (54). IFN- β için insanın 9. kromozomunda tek bir gen bulunur. IFN- β proteini 145 aminoasit içerir ve IFN β -1a, IFN β -1b olarak iki alt tipi bulunur (55).

Tip I IFN'ler, virüs replikasyonunu inhibe edebilen moleküllerin upregülasyonu yoluyla enfekte doku ve çevresindeki hücrelerde doğrudan antiviral yanıt oluştururlar (56). Tip I IFN'ler viral infeksiyonlarda oldukça hızlı üretildikleri için, NK hücre aktivasyonu ile doğal bağışıklığı da aktive ederler (57). NK hücre aktivasyonu ise, Tip I IFN'lerin dentritik hücreler üzerinde hareket edip IL-18 üretmesi sonucu TLR ligandın stimülasyonu ile meydana gelir (58). Tip I IFN ve tip II IFN reseptörleri, en az iki farklı alt birimden oluşan çok zincirli bir yapıya sahiptir. Tip I IFN reseptörü IFNAR1 ve IFNAR2 alt birimlerinden meydana gelirken tip II IFN reseptörü IFNGR1 ve IFNGR2 alt birimlerine sahiptir. IFNAR1 alt birimi yapısal olarak tirozin kinaz 2 ile ilişkiliyken, IFNAR2 janus kinaz 1 (JAK1) ile ilişkilidir. IFNGR1 JAK1 ile birleşirken, IFNGR2 JAK2 ile birleşir (52).

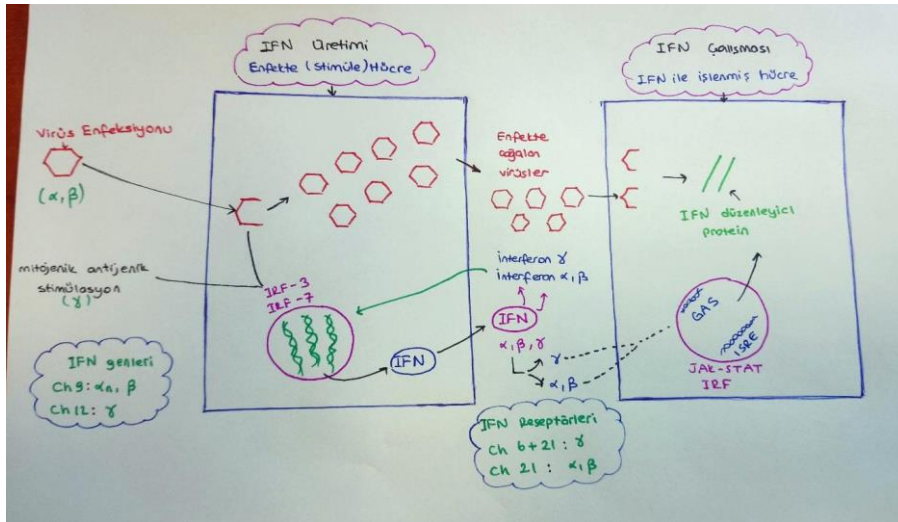
Tip I IFN reseptörü ile JAK'ların aktivasyonu, STAT2 (sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon 2'nin aktivatörü) ve STAT1'in tirozin fosforilasyonuna neden olur. Daha sonra ISGF3 (IFN ile uyarılan gen faktör 3) STAT1-STAT2-IRF9 (IFN düzenleyici faktör 9) kompleksi oluşur. Bu kompleks çekirdeğe gidip DNA'daki gen transkripsiyonunu başlatmak için IFN ile uyarılan yanıt elemanlarını (ISRE) bağlar (52).

Tip II interferon olarak bilinen IFN- γ ilk olarak antiviral aktiviteye sahip çözünebilir bir makromolekül olarak keşfedilmiştir (59). IFN- γ insanın 12. kromozomunda tek bir gen olarak bulunur. IFN- γ proteini glikozillenmiş olup 146 aminoasit içerir (53) Çok sayıda hücrel aktivite üzerinde etkisi olan, geniş spektrumlu antiviral ve antimikrobiyal fonksiyonlara sahip immün düzenleyici bir sitokindir (59). IFN- γ fitohemaglutinin tarafından indüklenen CD4⁺ T ve CD8⁺ T hücreleri, plasmositoid dentritik hücre, NK hücresi ve makrofajlar tarafından üretilir (50). İmmün yanıt esnasında primer olarak üretilen IFN- γ doğal ve edinsel immün yanıt arasında bir bağlantı görevi görür. IL-15, IL-12, IL-18 ve Tip I IFN, NK hücrelerini uyararak IFN- γ üretimini aktive etmektedir (60). Üretilen IFN- γ makrofaj, dentritik hücre gibi antijen sunucu hücrelere antijen sunumu gerçekleştirir. NK hücresinden IFN- γ üretimi STAT4 fosforilasyonuna bağlıdır. CD4⁺ Th1 aracılı bağışıklığın efektör bir sitokini olan IFN- γ , JAK/STAT yolu aracılığıyla makrofajların en güçlü aktivatörüdür. IFN- γ , IFNGR dimerik reseptörüne bağlanınca JAK1 ve JAK2 fosforile olup transkripsiyon faktörü STAT1'i (pSTAT1) fosforile ederek çekirdeğe gider, virüs replikasyonunun azalmasıyla sonuçlanan birkaç geni indükler. Çekirdekte pSTAT1, interferon ile aktive genlerin transkripsiyonunu başlatmak için γ -interferon ile aktive edilen bölge (GAS) olarak adlandırılan DNA dizilerine bağlanır (61). İnterferon gamanın fonksiyonları immün yanıt regülasyonu, fagositler hücre aktivasyonu, Th1 ve makrofaj aktivasyonu, hücrel immünite artışı, Th2 ve B lenfosit inhibisyonu, sitotoksik lenfositleri üretmek ve NK hücre aktivitesini arttırmaktır (43).



Şekil 5. İnterferon gamanın fonksiyonları (47).

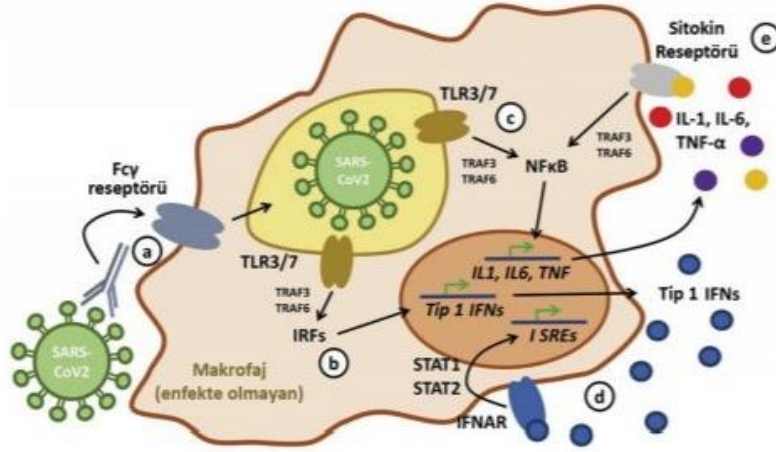
Tip III IFN (IFN- λ) molekülü ilk olarak 2003'te keşfedilmiş olup IFN- λ 1, λ 2, λ 3 ve λ 4 olarak dört gruba ayrılır. Bu IFN ile ilişkili sitokinler ise IL-10, IL-29, IL-28A ve IL-28B'dir. Tip III IFN iki zincirden oluşan farklı bir hücre yüzeyi reseptörüne (IFNLR1, IL-10R β) sahiptir. Bu reseptörler epitel hücresi ve nötrofillerde bulunur (62).



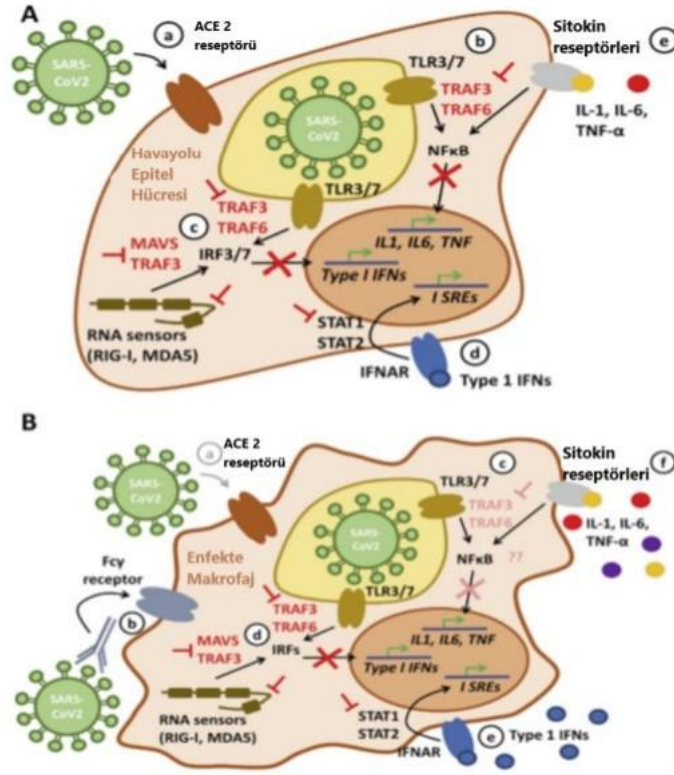
Şekil 6. İnterferonun antiviral aktivitesi (50).

2.6.4. COVID-19 enfeksiyonunda doğal bağışıklık

Viral patojenlere karşı gelişen doğal bağışıklığın temel hücreleri makrofajlar ve dendritik hücrelerdir (63). SARS-CoV-2 virüsü için doğal immün yanıt, virüsün çift sarmallı RNA'sının konak hücreindeki spesifik patojen tanıma reseptörleri (PRR) tarafından, patojenle ilişkili moleküler model (PAMP) olarak tanınmasıyla başlar. PRR, SARS-CoV-2'nin endozomal RNA'sını TLR 3/7 aracılığıyla tanırken; sitoplazmik RNA'sını retinoic acid-inducible gene I (RIG-I) ve melanoma differentiation-associated protein 5 (MDA-5) aracılığıyla tanımaktadır (64,65). Bu tanıma olayı, nükleer translokasyonlarının eşlik ettiği sinyalleşme kaskadının, yani nükleer faktör-kappa B'nin (NF- κ B) ve IRF3'ün aktivasyonuna yol açar. Bu faktörler, Tip I/III IFN, TNF- α , IL-1, IL-6, IL-18 ekspresyonunu indükler ve giriş bölgesinde COVID-19 enfeksiyonuna karşı ilk savunma hattını oluşturur (66) (Şekil 7).



Şekil 7. Enfekte olmayan makrofajda SARS-CoV-2'ye karşı immün yanıt (37).



Şekil 8. SARS-CoV-2'nin tetiklediği immün mekanizmalar (64).

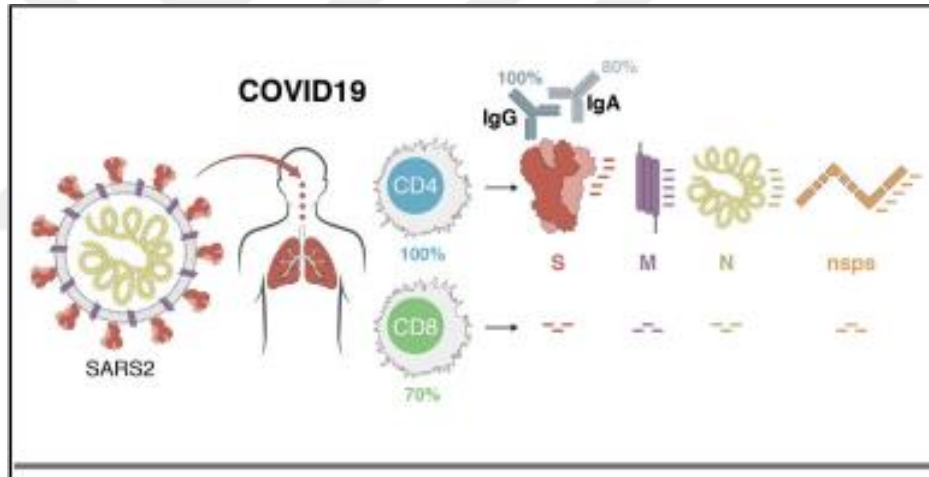
SARS-CoV-2 virusunun bu immün tanıma mekanizmalarını baskılamak için bazı mekanizmaları mevcuttur. Virüs, IRF3 translokasyon ve aktivasyonunu sağlayan mitochondrial antiviral-signaling protein (MAVS)'ı inhibe edebilmektedir. Ayrıca TLR 3/7'nin uyarılmasında esas rolü olan TNF receptor-associated factors (TRAF) 3 ve 6'yı da inhibe edebilmektedir (64). Son olarak SARS-CoV-2 virüsü Tip I IFN yanıtlarını da inhibe etmektedir. Tüm bu mekanizmalar sonucu virüs doğal bağışıklık yanıtından kaçmaya çalışır (63).

2.6.5. COVID-19 enfeksiyonunda kazanılmış bağışıklık

T hücre yanıtı, diğer solunum yolu enfeksiyonlarında olduğu gibi SARS-CoV-2'nin kontrolünde önemli bir koruyucu role sahiptir (67). Fare modellerinde CD4⁺ T hücrelerinin azalması viral klirensi geciktirmiş ve hastalığın şiddetini arttırmıştır (68). SARS-CoV-2'ye özgül CD8⁺ T hücreleri antikor yokluğunda bir fare modelinde koruyucu olmuştur. T hücre hafızası uzun ömürlü olup enfeksiyondan dört (4) yıl sonra bile tespit edilebilmiştir (69). SARS-CoV-2 için S, M, N proteinleri ve diğer ORF'ler dahil olmak üzere bir dizi antijene karşı T hücre yanıtları gözlenmiştir

(70). Yapılan çalışmalarda IFN'lerin konakçı ACE-2 ekspresyonunu arttırdığı bulunmuştur. Tip I ve III IFN'ler insan bronşiyal epitel hücrelerinde SARS-CoV-2 replikasyonunu kısıtlamaktadır (71).

SARS-CoV-2'ye özgü T hücreleri, asemptomatik veya hafif COVID-19 enfeksiyonu olan kişilerde tespit edilmiştir (72). COVID-19 enfeksiyonu sırasında $CD8^+$ T hücrelerinin ve ciddi vakalarda bellek $CD4^+$ T hücrelerinin sayısının önemli ölçüde azaldığı görülmüştür. Ayrıca COVID-19 hastalarında $CD8^+$ T hücrelerinin normalden daha az miktarda IL-2, IFN- γ ve granzim B ürettiği bulunmuştur (73). Şiddetli COVID-19 vakalarında lenfopeni görülür ve yoğun bakım ünitelerindeki hastaların T hücrelerinde programlanmış hücre ölümü proteini (PD-1) ekspresyonu daha yüksektir (74). Hastalık ilerledikçe proinflamatuvar sitokinler (özellikle IL-6) artmakta ve buna bağlı T lenfositler tükenmektedir (75).



Şekil 9. SARS-CoV-2'ye karşı immün yanıt (70).

T hücre yanıtları DH'ler ve makrofajların antijen sunumuyla başlar (37). SARS-CoV-2, diğer koronavirüslere benzer şekilde MHC-I ve MHC-II moleküllerini inhibe ederek antijen sunumunu azaltır, böylece T hücre aracılı bağışıklık yanıtını da inhibe eder. Her hasta farklı humoral yanıt kinetiğine sahip olsa da hastaların çoğu, hastalığın başlangıcından yedi (7) gün sonra antikor geliştirir (76). COVID-19'a özgü antikorların gelişmediği bazı kişilerde nükleokapsid ve membran proteinlerine karşı hafıza T hücresi yanıtı saptanmıştır (72). T hücre yanıtını belirleyen önemli bir

faktör, antijen seçimidir. Bu nedenle aşı uygulamaları için antijen seçimi dikkatli bir değerlendirme gerektirir (77).

2.7. COVID-19 patogenezi

SARS-CoV-2 virusu alt solunum yollarını enfekte eder ve insanlarda pnömoniye neden olur. Ancak hastalık ilerledikçe solunum fonksiyon bozukluğu ve ölümcül bir hiperinflamasyon meydana gelebilir. COVID-19 hastalığı üç evreye ayrılır:

1.Saptanabilir virüslü veya virüssüz asemptomatik bir evre

2.Üst solunum yolu tutulumu ile şiddetli olmayan semptomatik faz

3.Hipoksi, akciğerlerde 'buzlu cam' görünümü ve yüksek viral yük ile akut solunum sıkıntısı sendromuna (ARDS) ilerleme ile ciddi, ölümcül bir hastalık (78).

COVID-19 hastalığının ana ölüm sebeplerinden biri ARDS'dir ve SARS-CoV, MERS-CoV infeksiyonlarındakine benzer immünopatojenik özelliklere neden olduğu görülmektedir. ARDS'nin ana özelliklerinden biri sitokin fırtınasıdır. Sitokin fırtınası, immün efektör hücreler tarafından proinflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin salgılanmasından kaynaklanan kontrolsüz sistemik bir inflamatuvar yanıtıdır (78). SARS-CoV-2 ile enfekte olan hastalarda lökositoz, anormal solunum bulguları ve plazma proinflamatuvar sitokin seviyelerinde artış görülebilmektedir. COVID-19 infeksiyonunda serumda IL1- β , IL1RA, IL7, IL8, IL9, IL10, G-CSF, GM-CSF, IFN- γ , IP10, MCP1, MIP1 α , MIP1 β , PDGF- β , TNF- α gibi kemokin ve sitokin seviyelerinde artış tespit edilmiştir (78).

2.8. COVID-19 Temel Klinik Özellikleri

SARS-CoV-2 virusunun inkübasyon süresi ortalama 4-6 gündür. Hastalığın seyri asemptomatik bir tablodan ölümle sonuçlanabilen tablolara kadar değişiklik gösterebilir. Hastalarda başlangıçta en sık görülen semptomlar yorgunluk, ateş, kuru öksürük, nefes darlığı ve miyalji iken; daha az görülen semptomlar ise burun tıkanıklığı, burun akıntısı, kusma ve ishaldir (79). Aynı zamanda titreme, baş ağrısı, boğaz ağrısı, tat ve koku duyusunda kayıp da görülebilmektedir. İleri yaşta (≥ 80) olan kişiler ile hipertansiyon, diyabet, kardiyovasküler hastalık, kanser ve kronik

akciğer hastalıkları gibi sistemik hastalığı olan kişilerde mortalite oranı daha yüksektir (80). Hastalık ilerledikçe, özellikle yoğun bakım ünitesine kabul edilen kritik hastalarda şok, sepsis, akut kalp hasarı, akut böbrek hastalığı ve çoklu organ yetmezliği gibi komplikasyonlar ortaya çıkma eğilimindedir. Koagülopati ve trombositopeni de COVID-19 enfeksiyonu için kanama ve tromboz riskini artıran yaygın komplikasyonlardandır (81).

2.9. COVID-19 Mikrobiyolojik Tanı Yöntemleri

COVID-19 salgını ile mücadelede virüsü taşıyan semptomatik ve/veya asemptomatik tüm bireylerin, en kısa sürede ve doğru şekilde tespit edilmesini sağlayan tanı yöntemleri kullanılmaktadır. SARS-CoV-2 için inkübasyon süresi ortalama 5,2 gün olup klinik bulgular başlamadan önceki asemptomatik evrede de virüs atılımının gerçekleşebildiği bilinmektedir. Alt solunum yolu örneklerinde viral yük, üst solunum yolu örneklerinden daha yüksek olup özellikle bronkoalveoler lavaj ve balgam örneklerinde yüksek pozitiflik saptanır. Üst solunum yolu örneklerinde en fazla pozitiflik orofaringeal ve nazofaringeal örneklerin birlikte alındığı örneklerde tespit edilmektedir (26). T.C. Sağlık Bakanlığı COVID-19 rehberine göre olası vaka tanımına (82) uyan hastaların tanısı için çeşitli test yöntemleri bulunmaktadır (83);

- Nükleik asit amplifikasyon yöntemleri (RT-PZR)
- Serolojik testler
- CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats- Düzenli Aralıklarla Bölünmüş Kısa Palindromik Tekrarlar) temelli tanı yöntemleri
- Hücre kültürü

2.9.1. Nükleik asit amplifikasyon yöntemleri (RT-PZR)

COVID-19 tanısında solunum sistemi örneklerinde SARS-CoV-2 RNA' sının gerçek zamanlı revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PZR) ile gösterilmesi altın standart yöntemdir. Gerçek zamanlı PZR ile, hastalardan alınan solunum yolu örneklerinden virüsün genomunda yer alan ve nükleotid dizilimi bilinen farklı bölgelerin saptanıp çoğaltılması amaçlanır. Bu amaçla çoğaltılacak hedef DNA dizisini içeren kalıp DNA, kalıp DNA'nın komplementeri olacak şekilde

seçilmiş yaklaşık 20 bazlık sentetik kısa tek zincirli DNA molekülleri, oligonükleotid primerler, termostabil Taq polimeraz enzimi ve kopyalanan genetik materyale bağlanma özelliğine sahip boyalar kullanılmaktadır. Hastadan alınan örnekte viral nükleik asitin bulunması durumunda bu nükleik asidin çok sayıda kopyası elde edilmekte, floresan boya veya probalar yardımıyla eş zamanlı olarak belirlenebilmektedir. RT-PZR kantitatif sonuç veren ve özgüllüğü yüksek bir testtir (83).

2.9.2. Serolojik testler

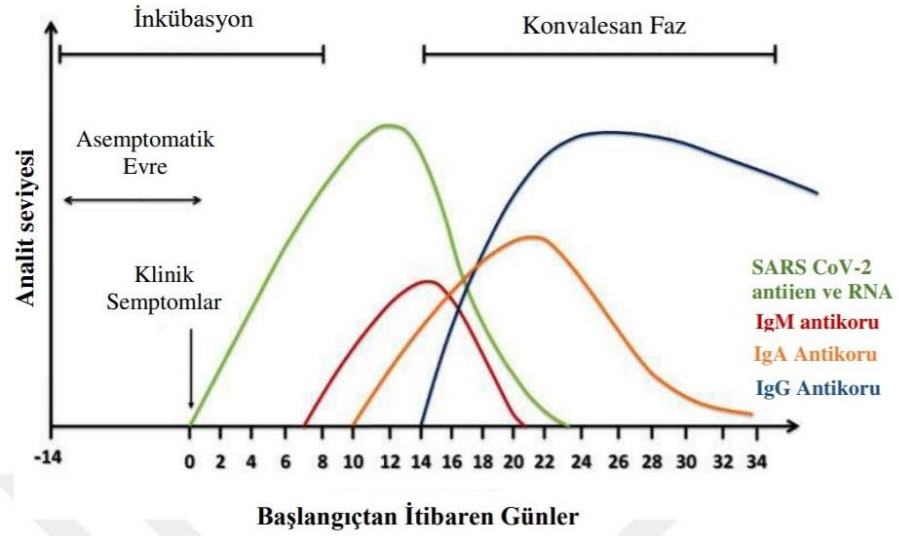
Serolojik test yöntemleri daha çok viral nükleik asidin saptanamadığı asemptomatik olguların tespitinde, infeksiyonu geçiren kişilerde bağışıklık yanıtın izlenmesi amacıyla ve SARS-CoV-2'ye yeniden maruz kalabilecekleri ortamlarda çalışanların (örn. sağlık çalışanları) işe dönüş kararında kullanılabilir (39). Antijen saptayan hızlı tanı testleri, solunum yolu örneğinde SARS-CoV-2 tarafından eksprese edilen viral proteinlerin varlığının saptanması temeline dayanır. Tespit edilen antijenler yalnızca virüs replike olduğunda oluşacağı için akut enfeksiyonun tanımlanmasında kullanılır. COVID-19 tanısında diğer test kategorisi IgM, IgA, IgG ve total antikorları kanda tespit eden serolojik testlerdir. SARS-CoV-2 vücuda alındıktan sonra virüse karşı antikor yanıtının gelişmesi bir hafta sürebileceği için bu antikor testleri virüsle karşılaşmış olan veya temaslı bireyleri izlemek için, aşı çalışmalarında verilen yanıtı değerlendirmek için kullanılabilir (25,26). SARS-CoV-2'nin yapısal N ve S proteinlerinin antijenik bölgelerine karşı vücutta gelişen antikorları saptamaya yönelik farklı serolojik testler vardır. N glikoproteini, SARS-CoV-2'nin çoğalmasında görevli olup hastalarda ilk 14 gün içerisinde serum ve idrarda en yüksek seviyede tespit edilen proteindir. Bu nedenle erken tanıda kullanılan önemli bir antijenik yapıdır ve daha yüksek duyarlılığa sahiptir. SARS-CoV-2'nin bir diğer antijenik yapıdaki proteini olan S proteini ise virüsün konak hücrede ilgili reseptörlere tutunmasını sağlar. S proteinine karşı oluşan antikorların tespiti, hastalığın tanısından çok nötralizan antikor ve aşı çalışmalarında kullanılır. Ayrıca rekombinant teknolojiyle üretilmiş N ve S antijenini birlikte içeren ticari serolojik test kitleri de geliştirilerek Amerika Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) onayıyla kullanıma sunulmuştur (83,84).

Güvenilir antikor testleri farklı amaçlarla kullanılabilir (82). Bunlar:

1.NAAT testlerinin negatif olduğu ve COVID-19 infeksiyonu ile kuvvetli epidemiyolojik ilişkisi olan olgularda akut ve/veya konvalesan fazda alınan serum örneklerinde

2.Atak hızı ve salgının şiddetinin retrospektif olarak değerlendirilmesinde (İzleme ve değerlendirmede UTS kayıtlı valide testler kullanılabilir.)

3.Seroprevalans çalışmalarında kullanılır.



Şekil 10. COVID-19 infeksiyonu serolojisi (85).

2.9.3. CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats- Düzenli Aralıklarla Bölünmüş Kısa Palindromik Tekrarlar) temelli tanı yöntemleri

Bakterilerin faj ve plazmid gibi yabancı genomik yapılardan kendilerini korumak için oluşturdukları edinsel immün sistem olarak tanımlanan CRISPR/Cas sistemi temelde; yabancı genomik materyalin özgün bir bölgesini hedefleyen bir rehber RNA dizisi (gRNA) ve efektör Cas (CRISPR-associated nuclease) proteinlerinden oluşur. Testin prensibi hastadan alınan üst solunum yolu örneklerinden viral RNA'nın izolasyonu, uygun primerler vasıtasıyla tanı için hedeflenmiş gen bölgelerinin amplifikasyon yöntemleri ile çoğaltılması, seçilen uygun efektör Cas proteini ve hedef gen bölgesine komplementer rehber RNA ile

amplifikasyon ürününün bir araya getirilmesi sonucunda test sonucunun test stripleri üzerinden okunmasına dayanmaktadır (83). Günümüzde FDA tarafından acil kullanım izni verilerek onaylanmış iki adet CRISPR temelli COVID-19 tanı testi vardır. DETECTR, Cas12 proteini üzerinden DNA'nın tanımlanmasını sağlayan bir yöntemdir. SHERLOCK ise 2017 yılında geliştirilen Cas13 proteini tabanlı, nükleik asit temelli tanımlama sistemidir (86).

2.9.4. Hücre kültürü

Virüs kültüründe, kısaca Dulbecco'nun modifiye Eagle ortamı (DMEM) ile 37°C'de %5 CO₂ ve %2 cenin sığır serumu ile desteklenmiş Vero hücreleri nazofaringeal ve orofaringeal örneklerin aşılması için kullanılır. Üç günlük aşılardan sonra COVID-19 için spesifik sitopatik etkiler gözlemlenir. Kim ve ark.'nın yapmış olduğu bir çalışmada SARS-CoV-2'ye özgü morfolojiyi gözlemlediklerini ve virüs partikül boyutunun 70-90 nm olduğunu, virüsün özellikle veziküllerde gözlemlendiğini bulmuşlardır. Hücre kültürü virüsün kendisini göstermek için çok faydalı olmakla birlikte oldukça zahmetli, yüksek konsantrasyonda virüs içermesi sebebiyle riskli ve biyogüvenlik düzeyi-3 imkanına sahip laboratuvarlarda çalışılması gereken, rutin tanıda kullanılmayan bir yöntemdir (87,88).

2.10. COVID-19 Tedavisi

SARS-CoV-2, 11 Mart 2020'de DSÖ tarafından küresel bir salgın olarak ilan edilen COVID-19 hastalığı etkenidir. COVID-19 hastalığının tedavisi sınırlı verilere dayanmaktadır ve klinik veriler ortaya çıktıkça hızla gelişmektedir. COVID-19 hastalarının tedavisinde kullanılan farmakoterapötikler; antiviral ilaçlar, antibiyotikler, sistemik kortikosteroidler ve anti-inflamatuvar ilaçlar, nöraminidaz inhibitörleri, RNA sentez inhibitörleri ve konvelesan plazma tedavisidir (89,90).

2.10.1. COVID-19 tedavisinde kullanılan farmakoterapötikler

SARS-CoV-2'ye karşı kullanılan farmakolojik tedavilerde viral yapı ve genom hedeflenmektedir. Kullanılan bazı tedavi seçenekleri şöyle özetlenebilir:

Klorokin ve Hidroksiklorokin: Klorokin ve hidroksiklorokin, lupus eritematozus, romatoid artrit ve sıtmanın tedavisinde sıklıkla kullanılan ilaçlardır. COVID-19 için

klorokin ve hidroklorokin kullanımını destekleyen veriler, ciddi advers etkileri sebebiyle oldukça sınırlı ve tartışmalıdır (90).

Favipravir: Favipiravir 2014 yılında Japonya’da influenzanın tedavisi için geliştirilmiş bir nükleotid analogudur. Virüsün RNA bağımlı RNA polimerazını inhibe ederek viral replikasyonu durdurur. En sık görülen advers etkisi karaciğer enzimlerinde artış görülmesidir. COVID-19 olgularında 2x1600 mg yükleme, 2x600 mg idame toplam 5 (beş) gün, ağır pnömonili olası/kesin olgularda toplam 10 gün önerilmektedir (90).

Lopinavir/Ritonavir (LPV/r): Bir proteaz inhibitörü olan LPV/r HIV-1 enfeksiyonu tedavisinde yaygın kullanılmaktadır. COVID-19 tanısı alan gebelerde risk faktörü varsa veya ağır seyir söz konusu ise tedavi olarak kullanımı önerilmiştir. LPV/r’nin kullanıldığı durumlarda; en sık gastrointestinal, hepatotoksik yan etkiler ve ciddi ilaç etkileşimleri olduğunu unutmamak gerekir (90).

Remdesivir: Remdesivir monofosfat yapısında yeni bir nükleotid analogu, geniş spektrumlu bir antiviral ilaçtır. Virusun RNA bağımlı RNA polimerazını inhibe eder. Remdesivir, virüsün RNA polimerazına yüksek düzeyde selektif olduğu için toksik yan etki olasılığı düşüktür (90).

Kortikosteroid: Güçlü bir anti-inflamatuvar ve anti-fibrotik ilaç olarak görev yapan metilprednizolon, düşük dozlarda uzun sitokin yanıtı önleme potansiyeline sahiptir. Kortikosteroidler yoğun bakım ve mekanik ventilasyon gerektiren prognozu kötü, ağır hastalarda kullanılabilir (90).

Tosilizumab: Tosilizumab, IL-6’yı inhibe eden monoklonal antikordur. COVID-19 enfeksiyonu sırasında proinflamatuvar sitokin fırtınası ve çoklu organ yetmezliği ile karakterize ölümcül bir tablo gelişebilmektedir. Bu tabloyu önlemek için bir immünsüpresif olan tosilizumab kullanılabilir (90).

İnterferonlar (IFN- α , IFN- β) ve Ribavirin: İnterferonlar genellikle ribavirin ya da LPV/r ile kombine olarak kullanılan bir farmakolojik ajandır (90).

COVID-19 tedavisinde β -D-N4-hidroksisitin (NHC), Dihidroorotat dehidrojenaz (DHODH) Merimepodib N-(2-hidroksipropil)-3-trimetilamonyum kitosan klorür

(HTCC), Peptidomimetik inhibitörler (11a ve 11b) ve nelfinavir, JAK inhibitörleri (Barisitinib, ruxolitinib, memolitininib ve oclacitinib) ,Kimerik monoklonal antikor (Siltuximab) potansiyel tedavi edici drug olarak araştırılmaktadırlar (91).

2.10.2. Antibakteriyel ve antifungal tedavi

Özellikle yoğun bakımda tedavi alan kritik durumdaki hastalar sekonder bakteriyel ya da fungal enfeksiyonlara yatkın olarak kabul edilmektedir. Prokalsitonin seviyesinin arttığı durumlarda ampirik antibiyotik tedavisi başlanabilmektedir. Mantar enfeksiyonlarında *Aspergillus spp.* enfeksiyonlarının tedavisi için vorikonazol, *Candida spp.* tedavisinde flukonazol önerilmektedir (91).

2.10.3. Antikoagulan tedavi

Hemen hemen tüm ağır ve kritik hastalarda antikoagulan tedavinin morbidite ve mortalite üzerine olumlu etkisi bulunmuştur. Pulmoner tromboemboli komplikasyonun önlenmesi amacıyla kontrendikasyonu olmayan hastalarda düşük molekül ağırlıklı heparin önerilmektedir (91).

2.10.4. COVID-19’da diğer olası tedavi yaklaşımları

Plazma tedavisi (immünplazma): Konvalesan plazma tedavisi 1900’lü yılların başından beri bilinen eski bir yardımcı tedavi yöntemidir. İspanyol gribi salgınında (1918 yılında) tedavide kullanılmıştır (90). SARS-CoV-2'ye karşı kendi nötralize edici antikorlarımızın (nAb) adaptif transferine dayalı bir yaklaşımdır (91).

D Vitamini: D vitamini, mikrobiyal enfeksiyon ve ölüm riskini azaltan birçok mekanizmaya sahiptir. D vitamini ayrıca kısmen doğal bağışıklık sisteminin neden olduğu sitokin fırtınasını azaltarak hücresel bağışıklığı da artırmaktadır (90).

C Vitamini: C vitamini insan vücudunda önemli roller oynayan bir besin ögesidir. Birçok çalışma, C vitamininin viral bağışıklık yanıtında yer alan T lenfositleri ve NK hücrelerinin gelişimini ve olgunlaşmasını olumlu etkilediğini göstermiştir (90).

2.11. COVID-19 Korunma Yöntemleri

COVID-19 pandemisi, acil ve çok önemli bir halk sağlığı sorunudur. 30 Ocak 2020 tarihinde DSÖ, COVID-19'un uluslararası endişe verici acil bir durum olduğunu ilan etmiş ve Mart 2020 tarihinde durumun ciddiyetini vurgulamak ve herkesi önlem almaya teşvik etmek için küresel bir salgın olarak nitelendirmiştir. COVID-19 hastalığıyla ilgili bilimsel çalışmalar/kanıta dayalı bilgiler arttıkça tedavisi, salgının yönetimi ve korunmayla ilgili öneriler de sık sık güncellenmektedir.

Salgının kontrol altına alınmasında önemli basamaklar; korunma, olguların tedavisi, temaslı takibinin yapılması, karantina, izolasyon ve aşı uygulamalarının yapılmasıdır. Hastalıktan korunmanın en önemli yolu virüse maruz kalmamaktır. Bulaşı önlemek için, sağlıklı, asemptomatik veya hasta olan herkesin korunma önlemlerine sıkı sıkıya uyması büyük önem taşımaktadır (92). Bu önlemler genel korunma yöntemleri ve aşı ile korunma yöntemleri olarak anlatılacaktır.

2.11.1. Genel korunma yöntemleri

Herkes tarafından belirlenen ve bilimsel geçerliliği kabul edilmiş aşağıdaki kurallara uyulması salgının önlenmesi için çok önemlidir.

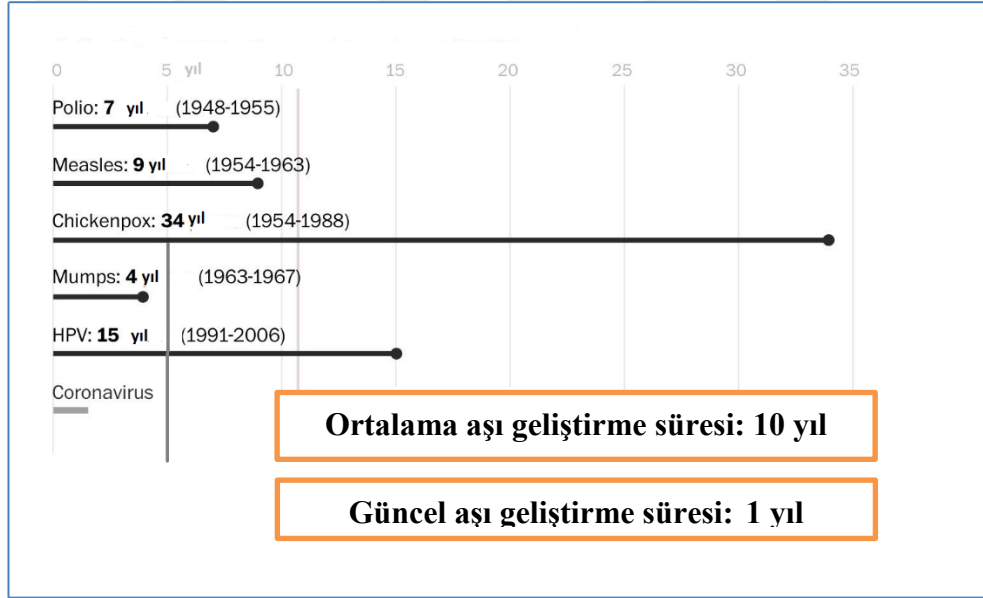
Genel korunmanın başlıca kuralları:

- Kişiler arası sosyal mesafenin korunması (en az 1 metre)
- Kapalı alanlarda maske takılması ve maskenin belirli aralıklarla değiştirilmesi
- El hijyenine önem verilmesi
- Hasta insanlarla temastan kaçınılması
- Hasta insanlarla temas ettikten sonra ellerin yıkanması (82).
- Ateş, öksürük, nefes darlığı gibi semptomlar baş gösterdiğinde mutlaka hekime başvurulmalıdır (93).

2.11.2. Aşı ile korunma

SARS-CoV-2 virusunun neden olduğu salgın 21. yüzyılın en önemli sağlık sorunudur. Virüsün yüksek bulaşıcılığı, ülkelerin sağlık sistemi üzerine olumsuz etkisi ve hastalığın efektif tedavilerinin olmaması bu hastalığa karşı etkin ve güvenilir bir aşı geliştirilmesinin önemini göstermektedir. Ayrıca pandeminin sona

ermesi için gereken toplum bağışıklığına ancak aşularla ulaşılacağı düşünülmektedir. Bu bağlamda yapılan çalışmalar neticesinde 2020 yılı başlarında SARS-CoV-2'ye karşı insanlarda uygulanabilen aşı üretilmiştir. COVID-19 pandemisi öncesinde herhangi bir patojene karşı aşı geliştirilmesi ortalama 10-15 yıl sürmekte iken SARS-CoV-2 aşısının geliştirilmesi ortalama 12-18 ay sürmüştür (94) (Şekil 11). COVID-19 salgın sürecini anlamak için önemli iki temel epidemiyolojik parametre; kontrol önlemlerinin yokluğunda bir salgının erken üstel büyüme oranı olarak tanımlanan erken salgın büyüme hızı ve temel üreme sayısı R0'dır. SARS-CoV-2 için rapor edilen temel üreme sayısı (R0) 2,5-3,5 olarak göz önüne alındığında virüsün transmisyonunun durması için toplumun %60-%72'sinin aşılanmasına ihtiyaç olduğu hesaplanmıştır (95).



Şekil 11. Aşıların geliştirilme süreleri Kaynak (90)' dan uyarlanmıştır.

2.12. COVID-19 Aşuları

İdeal bir aşının, bağışıklık sisteminin hem hümorale hem de hücreli yolunu aktive etmesi beklenir. SARS-CoV-2 için ortaya çıkan veriler de, hastalıktan korunmada hem hümorale hem de hücreli bağışıklığın önemini göstermiştir. Yapılan çalışmalarda aşı ile indüklenen nötralize edici antikor (nAb) seviyelerinin COVID-19 enfeksiyonu geçirilmesinden sonra oluşan antikor seviyelerine benzer olduğu görülmüştür. Nötralize edici antikora ek olarak, CD4⁺ T ve CD8⁺ T hücresi yanıtları da COVID-19 enfeksiyonunda koruyucu rol oynar (96).

Aşı çalışmalarında SARS-CoV-2 virüsünün çeşitli bölgeleri hedef alınmıştır. Bu hedefler; SARS-CoV-2 yüzey zarfına gömülü olan S, M, E, N proteinleri olmak üzere dört ana yapısal proteini, bu yapısal proteinlere ek olarak, 16 yapısal olmayan protein (nsp1-16) ve 9 yardımcı proteini içermektedir (97).

Spike (S) proteini

SARS-CoV-2 virüsünün S proteini yaklaşık 1.300 aminoasitlik tek bir polipeptit zinciri öncüsü olarak sentezlenen tip 1 füzyon proteinidir ve yarı kararlıdır. S proteini S1 ve S2 olarak iki alt birimden oluşmaktadır. Bunlardan S1 subüniti N-terminal domain (NTD) ve reseptör bağlanma alanını (RBD) içerir. S2 subüniti ise füzyon peptidi (FP), bağlantı bölgesi (CR), heptad tekrarı 1 (HR1), heptad tekrarı (HR2) ve merkezi sarmalı (CH) kısımlarını içerir. SARS-CoV-2 virüsü konakçının ACE-2 reseptörlerine RBD yoluyla bağlanır ve S1 subüniti S proteininden ayrılır. Daha sonra S2 subüniti virüs-konak membran füzyonu için yeniden düzenlenir. S1 subünitinin RBD bölgesi COVID-19 aşılarının önemli bir hedef bölgesidir (98).

Reseptör bağlanma alanı (RBD)

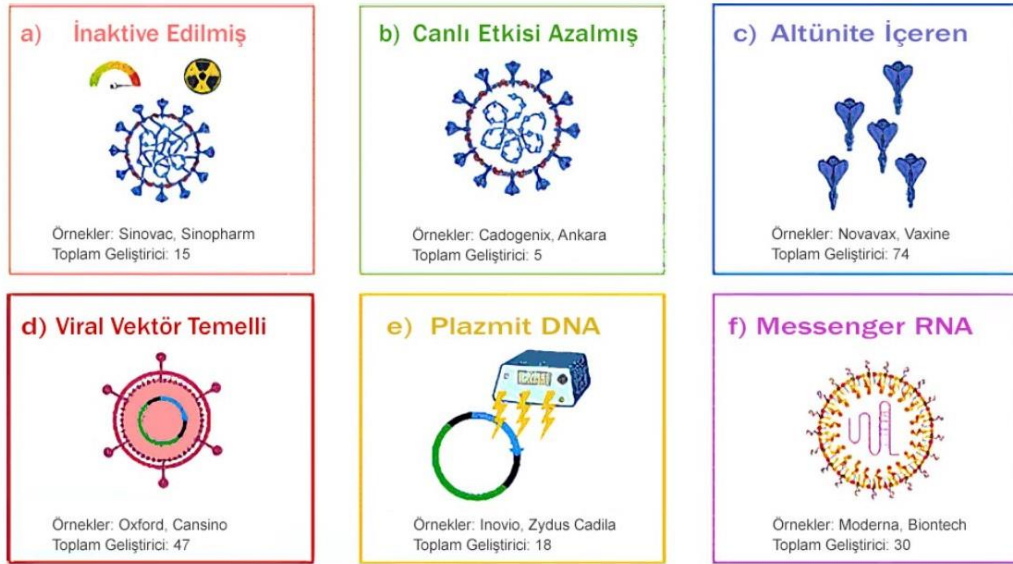
RBD, kendi alt alanındaki bir reseptör bağlama motifi (RBM) aracılığıyla konak reseptörüne bağlanır. Çoğu SARS-CoV-2 nAb RBD'ye bağlanır ve RBD-hACE2 etkileşimini bloke eder, böylece virüsün bağlanmasını engeller. RBD ayrıca SARS-CoV, MERS-CoV ve SARS-CoV-2 çalışmalarında gösterildiği gibi T hücresi tepkileri için epitoplara içerir. Bugüne kadar, COVID-19 için RBD bazlı aşılarda klinik deneylere girmiştir. Bununla birlikte, RBD'nin aşılarda kullanımı, küçük moleküler boyutu ve monomer, dimer, trimer gibi karışık formları nedeniyle sınırlı immünojenisiteye neden olmaktadır. Bu dezavantajı engellemek için geliştirilen stratejiler arasında antijen boyutunun artırılması yer almaktadır (97).

M ve E proteinleri

S proteininden farklı olarak, M ve E proteinleri muhtemelen immün hücre tanıma için küçük moleküler boyutları nedeniyle, humoral tepkiler için zayıf immünojeniktirler. Bu nedenle, M ve E proteinleri SARS-CoV-2'ye karşı tek başına aşı hedefleri olarak araştırılmamıştır (97).

Nükleokapsid (N) proteini

SARS-CoV-2 virüsünün N proteini, en bol bulunan viral proteindir ve SARS-CoV-2 için oldukça immünojeniktir. Antikor yanıtları için önemli bir hedeftir, ayrıca T hücresi epitoplarını içerir. İyileşmiş hastalarda N proteinine karşı oluşmuş antikorlar bol miktarda ve S proteinine karşı olanlardan daha uzun ömürlüdür (42,99). Potansiyel hedefi olarak N proteini eksprese eden aşılardan, COVID 19'dan koruma sağlamadığını ve aksine artan pulmoner eozinofil infiltrasyonu ve Th2 hücresi yoluyla enfeksiyon kaynaklı pnömoniye arttırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Bu nedenle, N proteininin SARS-CoV-2 aşılarda dahil edilmesi, viral klirens ve immünopatogenezi karmaşıklaştırır ve COVID-19 için N protein bazlı aşı bildirilmemiştir (97,100,101).



Şekil 12. COVID-19 hastalığı için geliştirilen aşılardan altı farklı tür (102).

2.12.1. Protein aşılardan

Protein aşılardan bakteriyel veya viral olabilmektedirler. Bakteriyel protein aşılardan, tüm patojen preparatlarının saflaştırılmasıyla yapılabilirken; viral protein aşılardan, rekombinant genetik mühendisliği gerektirir. COVID-19 aşılarda rekombinant olarak üretilen SARS-CoV-2'nin viral yüzey proteinleri kullanılmaktadır. Seçilen antijenleri kodlayan genler böcek, bakteri, maya ve memeli hücreleri dahil olmak üzere çeşitli ekspresyon sistemleri kullanılarak klonlanır veya

sentezlenir, eksprese edilir ve saflaştırılıp kullanılır. Protein aşuları iyi bir güvenlik profiline sahip olmaları nedeniyle bağışıklığı baskılanmış hastalarda kullanılabilir. Düşük immünojeniteye sahip olmalarından dolayı birçoğunun etkisini arttırmak için bakteri veya sentetik kaynaklı adjuvanlara ihtiyaç duyulur. (103). Protein aşularının alt grubunda protein alt birim aşuları, VLP/nanopartikül aşuları ve peptit aşuları bulunur. Adimmune, Medigen, Vaxine, Batı Çin Hastanesi Sichuan üniversitesi tarafından geliştirilmekte olan protein aşuları mevcuttur (104).

- **Protein alt birim aşuları**

Protein alt birim aşuları, patojenin genetik materyalini içermeyen yalnızca protein kısmını bulunduran bir aşı türüdür. Bu aşuları hazırlamak için öncelikle aşuya dahil edilecek antijenik hedef bölgesi belirlenmelidir. Bu aşular virüsün S proteinine ya da RBD bölgesine odaklanırlar. Aşının avantajları, immüno-supresif kişilere uygulanabilir, tüm virüs aşularına kıyasla üretilmesi kolay, nispeten güvenli ve iyi tolere edilmesidir. Dezavantajları ise düşük immünojenitesi, koruyuculuğunun sürdürülmesi için birkaç rapel gerektirmesidir. Bu nedenle, adjuvanlar genellikle alt birim aşularla birlikte kullanılırlar (105,106). Örneğin, Clover Biopharmaceuticals ve Queensland Üniversitesi, memeli hücrelerinde eksprese edilen S protein alt birim trimer aşısı yapmak için "Trimer-Tag" teknolojisini kullanmıştır (107). Aynı zamanda Queensland Üniversitesi de, moleküler klemp tekniği kullanılarak prefüzyon yapısında 'kilitlenmiş' spike proteini kullanarak rekombinant protein alt birim aşısı geliştirmiştir (108).

- **Virüs Benzeri Partikül/Nanopartikül aşuları**

Virüs benzeri parçacıklar (VLP), yapay olarak üretilmiş nanopartiküller olup protein aşularının bir alt kümesidir. VLP'ler virüsün kapsid proteinlerinin tamamı veya bir kısmından oluşan, belirli bir uzaysal konformasyonda kendi kendine birleşen partiküllerdir (42,109). VLP'ler koronavirus yapısını taklit eder ancak genetik materyalden yoksun olduğu için replikasyon yapılamaz. Bu nedenle en güvenli aşılardan biri kabul edilmektedir. Nanopartikül aşuları güçlü hücrel ve humoral immün yanıt oluşturabilirler ancak üretimleri zordur (105,110). Geliştirilen nanopartikül aşularından bazıları, Medicago Inc, SpyBiotech/Serum Institute of India

aşılarıdır (111). Novavax (NVX-CoV2373) aşısı ise hem bir protein alt birim aşısı hem de virüs benzeri partikül aşısı olarak tanımlanmıştır, ancak üreticiler buna "rekombinant nanopartikül aşısı" adını vermektedir (112).

- **Sentetik Peptit Aşıları**

Peptid aşıları, proteinin yalnızca minimal immünojenik peptid dizisi kullanılarak, T hücre yanıtının indüksiyonu temeline dayanmaktadır (113). Peptid aşıları korunmuş epitoplara seçerek belirli bir patojenin birden çok suşuna karşı geniş spektrumlu bağışıklığı indükleyebilir (114). Peptit aşıları genellikle zayıf immünojeniktir. Bu nedenle taşıyıcı proteinler veya adjuvanlar gerektirebilirler (115). Covaxx, University of Nebraska Medical Center, Vector Institute peptit aşıları geliştirilmiştir (42).

2.12.2. Tam virüs aşıları

- **İnaktif Aşılar**

Bu aşı prensip olarak SARS-CoV-2 virüsünün laboratuvar ortamında üretilip, inaktif hale getirilmesiyle geliştirilmiştir (94). Canlı SARS-CoV-2 virüsleri beta-propionilakton ile inaktive edilir ancak immünojen olarak görev yapan virüs partikülünün bütünlüğü korunur. Aşının üretimi genetik temelli aşılar göre (mRNA ve vektör) daha uzun sürer çünkü canlı virüs kültürlerinde yetiştirilmeli ve sonra inaktive edilmelidir. Aşı ile indüklenen yanıt genellikle daha zayıf olsa da, daha kolay kullanılır, daha ucuz ve güvenlidir. CoronaVac (SinoVac), Sinopharm, Bharat/Biotech (Covaxin) aşıları geliştirilmiş olan bazı inaktif aşılarıdır (42,104,116). Türkiye'de Erciyes Üniversitesi Aşı Araştırma ve Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi tarafından geliştirilen Turkovac aşısının Faz 3 klinik çalışmaları devam etmektedir (117).

- **Zayıflatılmış canlı aşı**

Zayıflatılmış canlı aşılar, virüsün çoğalabilen ancak hastalığa neden olmayan zayıflamış bir formunu kullanır (94). Bu aşıda, in vitro/in vivo geçiş veya ters genetik mutagenез yoluyla zayıflatılan virüs, patojenik olmayan veya zayıf patojenik hale gelir. Aşının avantajı, doğal enfeksiyona benzer bir bağışıklık sağlaması

nedeniyle yüksek oranda immünojenik olup adjuvanlara ihtiyaç duymaz. Aşının dezavantajı ise, insanların dışkılarıyla SARS-CoV-2 atılabileceği ve muhtemelen aşılanmamış bireylere SARS-CoV-2 bulaşmasına yol açabileceği endişesidir. Zayıflatılmış canlı aşular, soğuk zincire mutlak ihtiyaç gibi bazı sınırlamalara sahiptir. Ayrıca bebekler ve immünesüpresif kişilerde kullanımı uygun değildir (118). Codagenix ve Hindistan Serum Enstitüsü, RSV ve influenza ile ilgili önceki deneyimleri temel alarak kodon optimizasyon teknolojisini kullanarak zayıflatılmış canlı SARS-CoV-2 aşısı çalışmaları yapmaktadır (119). Türkiye’de ise Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi/Acıbadem Labmed Sağlık Hizmetleri A.Ş tarafından kodon deoptimize zayıflatılmış canlı aşı çalışmaları yapılmaktadır (105).

2.12.3. Viral vektör aşuları

Viral vektör aşularında gen teknolojileri ile virüslerin taşıdığı genetik materyalin bir kısmı, başka bir virüsün içerisine yerleştirilmekte ve bu virüs vücuda enjekte edilmektedir. Vektör olarak kullanılan virüsler arasında en sık adenovirüs, Modifiye Vaccinia Virus Ankara (MVA) ve kızamık virüsü bulunur. Adenovirüslere SARS-CoV-2 spike protein geni eklenerek insanda bağışıklık oluşturması amaçlanmıştır. Adenoviral vektörler, E1A ve E1B erken replikasyon genlerinden yoksun olduğu için virüs çoğalamaz. Antijenler immünizasyondan sonra konak hücreler tarafından üretilir. Viral vektörlerin iki kategorisi vardır; hücreler içinde hala çoğalabilenler ve anahtar genler devre dışı bırakıldığı için çoğalamayanlar. Replike viral vektör aşular güvenli olma eğilimindedir. Ancak vektöre karşı mevcut bağışıklık aşının etkinliğini azaltabilir. Kızamık vektörü tabanlı üretilen Institut Pasteur/Themis/ Pittsburg Univ CVR/Merck Sharp&Dohme, yeni onay alan Ebola aşısı bu aşuya örnektir. Non-replike viral vektör aşuları, antijeni kodlayan genlerin replikasyon yeteneği ortadan kaldırılmış bir virüse eklenmesi yolu ile geliştirilen aşılardır. Oxford/AstraZeneca, Gameleya Enstitüsü (Sputnik V), Johnson&Johnson ve CanSino bu aşı türündeki aşılardandır (106,112,120).

Viral vektör aşularının avantajları hücresel ve hümoral bağışıklığı güçlü ve uzun ömürlü uyarmaları, mukozaya uygulanabilmeleri, maliyetinin az olması ve kolay geliştirilmeleridir (105). Oxford/AstraZeneca aşısı SARS-CoV-2’nin vahşi tip S proteinlerini kodlayan genlerinin non-replikatif şempanze adenovirüsüne

(ChAdOx1) aktarılması ile elde edilmiş bir aşıdır. Bu aşı Birleşik Krallık, Brezilya ve Amerika Birleşik Devletleri'nde damar içi pıhtılaşma yan etkisi nedeni ile kullanımı sınırlandırılmıştır. Sputnik V (Gam-COVID-Vac) aşısı Rusya'da Gameleya Enstitüsü'nün geliştirdiği bir aşıdır. Johnson&Johnson (Ad26.COV2.S) adenovirus Tip 26'nın vektör olarak kullanıldığı başka bir aşıdır (42,116).

2.12.4. Nükleik asit aşıları

- **DNA Aşıları**

İmmünojenleri kodlayan rekombinant bir plazmidten oluşur. DNA aşısı, vektör olarak DNA plazmitleri kullanılarak konakçının hücrelerine immünojenik antijenleri kodlayan genleri veya bunların parçalarının doğrudan enjeksiyon, gen tabancası veya elektroporasyon yoluyla verilmesiyle meydana gelir. DNA plazmitleri vücuda bir kez girdikten sonra, hücreyi geçici olarak hedef protein üretmeye teşvik eder (121,122). Bu şekilde DNA aşıları hem humoral hem de hücre aracılı immün yanıtı verimli bir şekilde indüklemeyi hedefler. Güney Kore'de Genexine, Hindistan'da Zydyus Cadila, Japonya'da AnGes, A.B.D.'de Inovio gibi DNA temelli aşılar geliştirilme aşamasındadır (42,104). Türkiye'de ise Ege üniversitesinin prelinik aşamada DNA aşı çalışmaları bulunmaktadır (94).

- **RNA Aşıları**

RNA aşılarının mRNA ve self-amplifiye mRNA (saRNA) olarak iki türü mevcuttur. mRNA aşısında SARS-CoV-2 virüs genomunun spike proteinini kodlayan kısmı, lipid nanopartiküller içerisinde insan vücuduna enjekte edilmesi yöntemi ile immün yanıt oluşmaktadır. Üretilen bu antijenik yapıları da antijen sunan hücreler algılayarak immün sisteme sunar ve spike proteinlerine karşı antikor gelişimine neden olurlar. Self-amplifiye RNA (saRNA) aşıları, RNA yapısal proteinleri yerine ilgili antijeni kodlamak için modifiye edilmiş alfavirüs türevi RNA replikonlarıdır (42,116,123).

mRNA aşıları SARS-CoV-2 aşısının ilk örneklerindedir. Pfizer/BioNTech (BNT162b2) ve Moderna (mRNA-1273) aşıları kullanıma girmiş olan mRNA aşılarındandır. Pfizer/BioNTech aşısı, Almanya-A.B.D şirketlerinin ortak katkıları ile geliştirilen bir aşıdır. Moderna aşısı, Ulusal Alerji ve Bulaşıcı Hastalıklar Enstitüsü

(NIAID) tarafından üretilmiştir. Imperial College London ve yan kuruluşu VacEquity Global Health, S proteinini kodlayan bir saRNA aşısı geliştirmektedir (42).

2.12.5. Diğer aşılar

- **Yapay Antijen Sunan Hücreler**

Yapay antijen sunan hücreler (aAPC), antijene özgü T hücre yanıtlarını uyarabilen immünoterapötik ajanlardır. Çin’de Shenzhen Geno-Immune Medical Institute, bir aAPC (NCT04299724) yaklaşımı ile devam eden bir klinik çalışma yürütmektedir (42).

COVID-19 hastalığı için geliştirilmiş veya geliştirilmekte olan aşılar aşağıdaki tablodaki gibi sınıflandırılır (Tablo 4).

Tablo 4. SARS-CoV-2 aşılarının sınıflandırılması (94).

Aşı türü	Aşı alt türü	Örnek aşı
Protein bazlı aşılar	Protein alt birimi aşıları	Novavax
	Virüs benzeri partikül aşıları	Icosavax, Max-Planck Institute, Spybiotech, Medicago Inc.
	Sentetik peptid aşıları	Covaxx, University of Nebraska Medical Center, Vector Institute
Tam virüs aşıları	İnaktif virüs aşıları	CoronaVac/CoronaVac, Sinopharm, Bharat Biotech
	Zayıflatılmış canlı virüs aşıları	Codegenix, Mehmet Ali Aydınlar University/ Acıbadem Labmed Health Services A.S.
Viral vektör aşıları	Replike viral vektör aşıları	Institut Pasteur
	Non-replike viral vektör aşıları	AstraZenaca/Oxford, Sputnik V, Johnson & Johnson, CanSino Biologics
Nükleik asit aşıları	DNA aşıları	Osaka University, Inovio Pharmaceuticals
	RNA aşıları	Pfizer/Biontech, Moderna
Diğer aşılar	Diğerleri	Ose Immunotherapeutics
	aAPC	Shenzhen Geno-Immune Medical Institute

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamıza başlamadan önce Düzce Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 20.09.2021 tarihli 2021/195 karar numarası ile izin alınmıştır. (Bkz. Ek 2) Ayrıca araştırma için T.C. Sağlık Bakanlığında da onay alınmıştır. Bu araştırma “SARS-CoV-2 inaktif ve mRNA aşuları sonrası oluşan hücresel ve humoral immün cevabın gösterilmesi” proje başlığı ve 2021.04.01.1187 proje numarası ile Düzce Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.

3.1. Araştırma Tipi

Bu çalışma, SARS-CoV-2 CoronaVac (CoronaVac Life Sciences, Beijing, Çin) inaktif aşısı ve Pfizer/BioNTech (BNT162b2) (Pfizer, Inc; Philadelphia, Pennsylvania) mRNA aşı uygulamaları sonrası sağlıklı gönüllülerde IFN- γ ölçümü ile hücresel bağışıklığın, IgG ölçümü ile humoral bağışıklığın gösterilmesi amacıyla yapılmış prospektif ve kesitsel bir araştırmadır.

3.2. Araştırmanın Örneklemi ve Çalışma Grubu

Çalışmamıza gönüllü olarak, ilgili anket formunu dolduran, SARS-CoV-2 CoronaVac (CoronaVac Life Sciences, Beijing, Çin) inaktif aşısı ve Pfizer/BioNTech (BNT162b2) (Pfizer, Inc; Philadelphia, Pennsylvania) mRNA aşısını iki (2) doz olarak yaptırmış ve ikinci doz üzerinden en fazla 1-4 hafta süre geçmiş, 40-60 yaş aralığında, COVID-19 hastalığı geçirmemiş, her bir grupta 29’ar kişi olmak üzere toplam 58 kişi dahil edilmiştir. Ancak beyanında COVID-19 hastalığı geçirmediğini ifade edip anket formunda COVID 19 hastalığı geçirdiğini belirten iki gönüllü ise çalışma dışı bırakılmıştır. Çalışmaya dahil edilen kişilere ait sosyodemografik veriler, çalışmacı tarafından gönüllülere anket yapılarak elde edilmiştir. Gönüllülere yapılan COVID-19 anketi Ek-1’de sunulmuştur.

3.2.1. Çalışma grubunun numunelerinin toplanması

Çalışmaya katılmak için gönüllü olan bireylerde interferon-gamma düzeyini ölçmek amacıyla, kitleri temin ettiğimiz firma tarafından gönderimi sağlanan vidalı kapaklı lityum heparinli kan tüplerine ve tarafımızca temin edilen vacutainer uyumlu

lityum heparinli tüplere kan örnekleri alınmıştır (Şekil 13). Firma tarafından temin edilen lityum heparinli kan alma tüplerine alınan numunelerde hemoliz olması neticesinde, 16 kişinin interferon-gama sonuçları Anti-SARS-CoV-2 Interferon Gamma Release Assay (IGRA) (EUROİMMUN, Türkiye) kitinin validasyon kriterlerine göre geçersiz kabul edilmiş ve bu gönüllüler çalışma dışı bırakılmıştır. Çalışma dışı bırakılan 18 gönüllünün 11'i CoronaVac, 7'si Pfizer/BioNTech aşısı yaptırmıştır. Sonuç olarak çalışma grubu 40 kişiden oluşmaktadır.



Şekil 13. IGRA testi kan alma tüpleri (Mavi kapaklı tüp firma tarafından temin edilen lityum heparinli kan alma tüpü, yeşil kapaklı tüp ise tarafımızca temin edilen vacutainer uyumlu lityum heparinli kan alma tüpü).

3.3. Laboratuvar Analizleri

Gönüllülerden toplanan bütün kan numuneleri çalışma yapılincaya kadar -20°C'de saklanmıştır. Çalışmaya başlamadan önce, saklanan kan örneklerinin sıcaklıkları oda ısısına getirilmiştir. CoronaVac aşısı yaptırmış 18 kişi ve BioNTech aşısı yaptırmış 22 kişinin serumlarından Anti-SARS-CoV-2 Interferon Gamma Release Assay (IGRA) (Euroimmun, Türkiye) kiti ile IFN- γ hücresel yanıtı ve SARS-CoV-2 IgG II Quant Reagent Kit (Abbott Diagnostics, İrlanda) ile SARS-CoV-2 IgG antikor hüморal yanıtı çalışılmıştır.

3.3.1. Anti-SARS-CoV-2 Interferon Gamma Release Assay (IGRA) test kit prospektüsü

Kit, bir numune çalışmak için kullanılan üç stimülasyon tüpünden oluşmaktadır.

Stimülasyon tüpleri, plazma elde etmek için tam kan alımında kullanılır. Ardından, plazmada salınan interferon-gama konsantrasyonu ölçülür.

Test prensibi

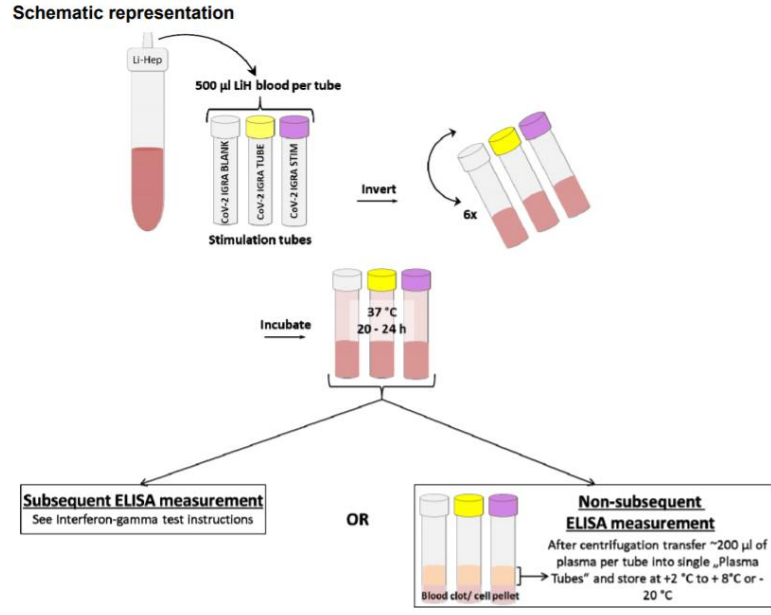
1.Tüp: CoV-2 IGRA BLANK, şeffaf kapaklı (BLANK): Bu stimülasyon tüpü, bağışıklık hücreleri için aktive edici bileşen içermez. Bu nedenle, hiçbir interferon-gama salgısı indüklenmez. Bu şekilde elde edilen plazma, bireysel interferon-gama belirlenmesi için kullanılır.

2.Tüp: CoV-2 IGRA TUBE, sarı kapaklı (TUBE): Bu stimülasyon tüpü, SARS-CoV-2 spike proteininin S1 alanının bileşenleri ile kaplanmıştır.

3.Tüp: CoV-2 IGRA STIM, mor kapaklı (STIM): Bu stimülasyon tüpü, spesifik olmayan bir interferon-gama sekresyonuna neden olan bir mitojen ile kaplanmıştır. Bu şekilde elde edilen plazma, numunenin yeterli miktarda ve yeterli aktive olma kabiliyetine sahip bağışıklık hücreleri içerip içermediğini doğrulamak için kullanılır.

Anti-SARS-CoV-2 Interferon Gamma Release Assay (IGRA) testi için gerekli ek malzemeler ve ekipmanlar

- Kalibre edilmiş pipetler (10-100-1000 µl'lik)
- Pipet uçları (mavi)
- Stimülasyon tüplerinin dik konumda 37°C'de inkübasyonu için inkübatör
- Santrifüj
- Stimülasyondan sonra interferon-gama konsantrasyonu hemen ölçülemediyse, stimüle edilen plazmanın saklanması için polipropilen vidalı kapaklı mikrotüpler
- Interferon-gama ELISA cihazı (Euroimmun, Almanya)



Şekil 14. Anti-SARS-CoV-2 IGRA test prosedürü (Kit prospektüsünden alınmıştır).

İnterferon gama salgılanması için heparinize tam kanda bağışıklık hücrelerinin uyarılması prosedürü:

1. Her tam kan örneği başına bir SARS-CoV-2 IGRA stimülasyon tüp seti (1x CoV-2 IGRA BLANK, 1x CoV-2 IGRA TUBE, 1x CoV-2 IGRA STIM) oda sıcaklığına (18°C-25°C) getirilir.

2. Tam kanı eşit şekilde karıştırmak için tam kanla birlikte lityum-heparin kan alma tüpü dikkatlice yana yatırılır.

3. Stimülasyon tüplerinin kapakları çıkarılıp her tüpe 500 µl tam kan eklenir.

Bu işlem yapılırken bir setin farklı stimülasyon tüpleri arasında antijen taşınmasını önlemek için pipet ucu değiştirilir.

Tam kan şu sırayla pipetlenir:

- CoV-2 IGRA BLANK
- CoV-2 IGRA TUBE

- CoV-2 IGRA STIM
4. Stimülasyon tüpleri karşılık gelen kapaklarla sıkıca kapatılır.
 5. Tüpün duvarlarını veya tabanını tamamen kaplamak için dolu stimülasyon tüpleri altı defa ters çevirilir. Vortekslenmez.
 6. Stimülasyon tüpünün tüm yüzeyi tam kanla kaplanmalıdır. Aksi takdirde, doldurulmuş stimülasyon tüpleri tekrar ters çevirilir.
 7. Karıştırdıktan sonra, stimülasyon tüpleri sıkıca kapatılır ve $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de dik konumda 20-24 saat süreyle inkübe edilir.
 8. İnkübasyon süresi dolan stimülasyon tüpleri etüvden çıkarılır.
 9. Stimülasyonu durdurulduktan sonra örneklerdeki interferon-gama konsantrasyonu Euroimmun Interferon-gamma ELISA cihazı kullanarak belirlenir.

ELISA ölçümü stimülasyondan hemen sonra yapılamazsa plazmanın saklanması:

Dolu stimülasyon tüplerini 12.000 xg'de 10 dakika boyunca santrifüjlenir. Her bir stimülasyon tüpü için, plazmayı (yaklaşık 200 μl) üstten dikkatlice ayrılıp yeni bir vidalı kapaklı polipropilen mikrotüpe (plazma tüpü) aktarılır. Plazmanın kan pıhtısı bileşenleriyle kontaminasyonu önlenir. Plazma $+2^{\circ}\text{C}$ - 8°C arasında 28 güne kadar ve -20°C 'de üç aya kadar stabildir.

Stimüle edilmiş plazma numuneleri ile manuel çalışma yapılması:

Santrifüjlemenin ardından plazma numuneleri numune tamponunda 1/5 oranında seyreltilir. Tüpe önce numune tamponu pipetlenir ve vortekslenerek iyice karıştırılır.

Interferon-gamma ELISA aşamasında kullanılacak malzemelerin listesi

- Antikorlarla kaplı mikrolaka kuyucukları
- Kalibratör 1 (liyofilize) 1 ml
- Kalibratör 2 (liyofilize) 1 ml
- Kalibratör 3 (liyofilize) 1 ml
- Kalibratör 4 (liyofilize) 1 ml

- Kalibratör 5 (liyofilize) 1 ml
- Kalibratör 6 (liyofilize) 1 ml
- Kontrol 1 (liyofilize) 1 ml
- Kontrol 2 (liyofilize) 1 ml
- Biotin (biotin işaretli anti-interferon-gama antikoru) 12 ml
- Enzim konjugat (peroksidaz işaretli streptavidin) 12 ml
- Numune tamponu 100ml
- Yıkama tamponu 100 ml
- Kromojen/substrat solüsyonu (TMB/H₂O₂) 12 ml
- Stop solüsyonu (0,5 M sülfirik asit) 12 ml
- İlgili stimülasyon tüpü seti
- Otomatik mikropilaka yıkayıcı
- Mikropilaka okuyucu (450 nm dalga boyunda)
- Distile su

Reaktiflerin hazırlanması ve stabilitesi

Tüm reaktifler kullanımdan yaklaşık 30 dakika önce oda sıcaklığına getirilmelidir.

Kaplanmış kuyucuklar: Kullanıma hazırdır.

Kalibratörler ve kontroller: Lot-spesifiktir. Kalibratörler, kullanımdan yaklaşık 10 dakika önce 1ml deiyonize su ile sulandırılır, ters çevrilir ve baş aşağı halde iyice karıştırılır. Kullanmadan önce liyofilizatın suda tamamen çözüldüğünden emin olunur. Gerekirse kapakta kalan sıvıyı tüpe aktarmak için numune kısa süre santrifüjlenir. Sulandırılmış kalibratörleri ve kontroller kullanımdan hemen sonra -20°C’de dondurulur ve oda sıcaklığında uzun süre beklemesinden kaçınılır. Sulandırılmış kalibratörleri ve kontrolleri yeniden kullanırken, kullanmadan önce yavaşça oda sıcaklığına getirmeli (oda sıcaklığında en az 30 dakika ısıtılmalı) ve iyice karıştırılmalıdır. Sulandırılmış kalibratörler -20°C’de üç aya kadar stabildir. Altı defaya kadar dondurulabilir ve çözündürülebilirler.

Biotin: Lot-spesifik ve kullanıma hazırdır. Kullanmadan önce iyice karıştırılır.

Enzim konjugat: Lot-spesifik ve kullanıma hazırdır. Kullanmadan önce iyice karıştırılır.

Numune tamponu: Kullanıma hazırdır. Kullanmadan önce iyice karıştırılır.

Yıkama tamponu: Yıkama tamponu x10 konsantredir. Konsantre tamponda kristalleşme meydana gelirse +37°C'ye kadar ısıtılır ve seyretmeden önce iyice karıştırılır. Gereken hacim temiz bir pipet ucu kullanarak alınır ve deiyonize ya da distile suyla 1/10 oranında seyreltilir.

Kromojen/substrat solüsyonu: Kullanıma hazırdır. İçindekiler ışığa karşı duyarlı olduğundan dolayı, kullanımdan hemen sonra tüp kapatılmalıdır.

Durdurma solüsyonu: Kullanıma hazırdır.

Test Prosedürü

Kantitatif bir testin gerçekleşebilmesi için, 1 den 6 ya kadar olan kalibratörler, iki kontrol ve plazma numuneleri kullanılır.

1. Numune inkübasyonu: Her bir mikropalak kuyucuğuna, pipetleme şemasına göre kalibratörlerden, kontrollerden ve seyreltilmiş numunelerden (numune tamponunda 1/5 oranında) 100 µl transfer edilir. Kuyucuklar kapatılır ve oda sıcaklığında (18°C-25°C) 120 dakika inkübe edilir.

2. Yıkama: Reaktif kuyucukları 450 µl kullanıma hazır yıkama tamponu ile beş kez yıkanır. Her yıkama döngüsünde, yıkama tamponunu her bir kuyucuğun içinde 30-60 saniye (sn) bekletilir ve sonrasında kuyucuklar boşaltılır. Yıkadıktan sonra tüm kalıntı yıkama tamponunu çıkarmak için mikropalakayı açık yüzü aşağı bakacak şekilde kurutma kağıdı üzerine hafifçe vurarak tüm sıvı boşaltılır.

3. Biyotin inkübasyonu: Her bir mikropalaka kuyucuğuna 100 µl biyotin pipetlenir. Oda sıcaklığında (18°C-25°C) 30 dakika inkübe edilir.

4. Yıkama: Kuyucuklar boşaltılır. Yukarıda tarif edildiği gibi tekrar yıkama yapılır.

5. Konjugat inkübasyonu: 100 µl enzim konjugatı her bir mikropalak kuyucuğuna pipetlenir. Kuyucuklar kapatılıp oda sıcaklığında (18°C-25°C) 30 dakika inkübe edilir.

6. Yıkama: Kuyucuklar boşaltılır. Yukarıda tarif edildiği gibi tekrar yıkama yapılır.

7. Substrat inkübasyonu: 100 µl kromojen/substrat solüsyonu her bir

mikroplak kuyucuğuna pipetlenir. Oda sıcaklığında (18°C-25°C) doğrudan güneş ışığı alması engellenerek 20 dakika inkübe edilir.

8. Durdurma: 100 µl durdurma solüsyonu, kromojen/substrat solüsyonunun uygulandığı aynı hızda ve aynı sırayla her bir mikroplak kuyucuğuna pipetlenir.

9. Ölçüm: Renk yoğunluğunun fotometrik ölçümü, 450 nanometre (nm) dalga boyunda, 620-650 nm arasında bir referans dalga boyunda ve durdurma solüsyonunun eklenmesinden 30 dakika içinde yapılmalıdır. Solüsyonun homojen dağıldığından emin olmak için mikroplak ölçümden önce hafifçe çalkalanır.

Testin Değerlendirilmesi ve sonuçların yorumlanması

Kantitatif: Hasta numunelerindeki analit konsantrasyonunun bulunabileceği standart eğri, altı kalibratör için ölçülen optik dansite değerlerinin, karşılık gelen konsantrasyonlara (doğrusal/logaritmik) göre çizilmesi sonucu elde edilir. Standart eğrinin bilgisayar kontrollü hesaplanması için, değerlendirme prosedürü “4 Parametrelili Marquardt” veya “kübik bağ interpolasyonu” seçilmelidir. Hesaplamalarda, standart eğriden elde edilen değerler 5 ile çarpılarak 1/5’lik standart dilüsyon dikkate alınmalıdır.

BLANK’ın plazmasındaki interferon-gama konsantrasyonu, bireysel interferon-gama arka planını temsil eder. Bu nedenle, TUBE ve STIM koşullarından elde edilen plazmanın interferon-gama konsantrasyonundan çıkarılmalıdır. BLANK’ın bu çıkarımı, her tam kan numunesinin TUBE ve STIM koşulları için ayrı ayrı yapılmalıdır.

BLANK çıkarıldıktan sonra, STIM koşulundaki interferon-gama konsantrasyonu, verilen tam kan örneğindeki bağışıklık hücrelerinin miktarı ve stimülasyon yeteneğinin yeterli olabilmesi için BLANK değerinden yeterince yüksek olmalıdır.

Biz de numunelerimizi laboratuvarımızdaki Robonik washwell PLATE ELISA washer (İndia) otomatik yıkama cihazı ve Robonik Readwell Touch Automatic ELISA Plate Analyser (İndia) okuma cihazını kullanarak mikroelisa yöntemi ile çalıştık. Çıkan sonuçları kitleri temin ettiğimiz firmaya (Euroimmun,

Almanya) gönderdik. Göndermiş olduğumuz mikroelisa okuyucu sonuçlarımızdaki optik dansite değerleri otomatize IGRA assay reader sistemine yüklenmiştir. 1/5 dilüsyonlu çalıştığımız için assay otomatik olarak hesaplanmış değeri ortaya koyarken 5 ile çarpmıştır. TUBE stimülasyon tüpünden BLANK değerinin çıkartılması ile elde edilen kantitatif sonuçlar interferon-gama düzeyini göstermektedir. Plazma fraksiyonundaki IFN- γ konsantrasyonu, otomatik enzim bağlantılı immünosorbent tahlili (ELISA) cihazı ile mililitre başına uluslararası birimler (IU/mL) cinsinden ölçülmüştür.

Sonuçları yorumlarken interferon-gama düzeyi <100 mIU/ml olarak çıkan sonuçlar “**no contact SARS-CoV-2**” ;100-200 mIU/ml olarak çıkanlar “**borderline**”; >200 mIU/ml olarak çıkanlar “**contact SARS-CoV-2**” olarak değerlendirildi.

Testin validite kriterleri

- Testin geçerlilik kriterlerine göre BLANK <400 mIU/ml, STIM-BLANK >400 mIU/ml, Kalibratör 1 minimum 0,5 mIU/ml ve Kalibratör 6 maksimum 2060 mIU/ml olmalıdır.
- BLANK değerinin 400 mIU/ml'den yüksek olması durumu; paralel bir enfeksiyonda veya otoimmün hastalıkta da ortaya çıkabilir. Hastaların klinik durumu değerlendirilmelidir, özel bir hasta grubunda çalışma yapılması halinde bu durum hastaların kliniği ile ilişkili olabilmektedir.
- STIM değerinin 400 mIU/ml'den düşük olması durumu; bağışıklık baskılanması nedeniyle meydana gelebilir. Çalışma grubu ve tedavi durumları, kullanılan ilaçların göz önünde bulundurulması gerekir.

Anti-SARS-CoV-2 IGRA kitinin yukarıda belirtilen validite kriterlerine uygun olarak çalışmamız gerçekleştirilmiştir.

3.3.2. SARS-CoV-2 IgG II Quant (SARS-CoV-2 IgG II Kantitasyon) test prospektüsü

Testin kullanım amacı

SARS-CoV-2 IgG II Quant test kiti, ARCHITECT i2000SR ELİSA cihazı

aracılığıyla insan serumu veya plazmasında SARS-CoV-2'ye karşı oluşmuş olan IgG antikorlarının kalitatif ve kantitatif olarak saptanmasını amaçlayan bir kemilüminesan mikropartikül immünolojik tetkikidir (CMIA). SARS-CoV-2 IgG II Quant testi klinik tablo veya diğer laboratuvar testleriyle birlikte COVID-19 enfeksiyonunun tanısında yardımcı olarak kullanılır. Bu tetkik ayrıca SARS-CoV-2'nin spike RBD'sine karşı IgG antikorlarını kantitatif olarak ölçerek, enfekte kişilerin bağışıklık durumunu değerlendirme ve COVID-19 aşısı olan kişilerde antikor yanıtını izlemede yardımcı olarak kullanılır (124,125).

Testin çalışma prosedürü

Numune, SARS-CoV-2 antijen kaplı paramanyetik mikropartiküller ve tetkik dilüenti birleştirilir ve inkübe edilir. Numunede bulunan SARS-CoV-2 IgG antikorları SARS-CoV-2 antijen kaplı mikropartiküllere bağlanır. Karışım yıkanır. Bir reaksiyon karışımı oluşturmak için anti-insan IgG akridinyum işaretli konjugat eklenir ve inkübe edilir. Bir yıkama döngüsünden sonra, Pre-Trigger ve Trigger çözeltileri eklenir. Ortaya çıkan kemilüminesan reaksiyon bağlı ışık birimi relative light unit (RLU) olarak ölçülür. Numunedeki SARS-CoV-2'ye karşı oluşan IgG antikorlarının miktarı ile optik sistem tarafından saptanan RLU'lar arasında doğrudan bir ilişki vardır.

Kullandığımız kitler

SARS-CoV-2 IgG II Quant Reagent Kit (Abbott Diagnostics, İrlanda)

SARS-CoV-2 IgG II Quant Calibrator Kit (Abbott Diagnostics, İrlanda)

SARS-CoV-2 IgG II Quant Control Kit (Abbott Diagnostics, İrlanda)

SARS-CoV-2 IgG II Quant tetkiki uygulanmadan önce ARCHITECT i2000SR ELİSA cihazı System üzerine kurulmuştur. Test kitinin kalibratörleri, kontrolleri cihazda çalışıldıktan sonra sisteme cut-off değerini girilmiştir.

Kit İçeriğindeki Reaktifler

Mikropartiküller: Sürfaktanlı TRIS tampon sıvısında saflaştırılmış SARS-CoV-2 rekombinant antijen kaplı mikropartiküller. Minimum konsantrasyon: %0,0675 katı madde. Koruyucu maddeler: ProClin 950 ve sodyum azid.

Konjugat: Sürfaktanlar ve protein (sığıır) stabilizatörü ile MES tampon sıvısında akridinyum işaretli anti-insan IgG (fare, monoklonal) konjugatı. Minimum konsantrasyon: 6 ng/mL. Koruyucu maddeler: ProClin 300 ve antimikrobiyal ajanlar.

Dilüent: Protein (sığıır) stabilizatörlü MES tampon sıvısı. Koruyucu maddeler: ProClin 300 ve ProClin 950.

Sonuçların değerlendirilmesi

SARS-CoV-2 IgG II Quant testi kalibrasyonu ve sonuçlarını değerlendirmek için 4 Parametrelili Lojistik Eğrisine uygun veri azaltma yöntemi (4PLC, Y-ağırlıklı) kullanılır.

Sonuçları yorumlarken kullanıldığımız cut-off değeri: **50,0** arbitrary units (AU/MI)'dir.

< 50,0 AU/MI Negatif

≥ 50,0 AU/MI Pozitif olarak kabul edilir (126).

Rapor Edilebilir Aralık

Kantitasyon limiti (LoQ) ve tespit limiti (LoD) için temsili verilere dayanarak sonuç bildirme aralıkları CLSI EP34, 1. revizyonda belirtilen tanımlara göre aşağıda sunulmuştur (127).

Analitik Ölçüm Aralığı (AMI): 21 – 40.000

Genişletilmiş Ölçüm Aralığı (EMI): 40.000 – 80.000

Rapor Edilebilir Aralık: 6,8 – 80.000

3.4. İstatistiksel Analiz

Çalışmadaki tüm verilerin türüne göre uygun tanımlayıcı istatistikler

(ortalama, standart sapma, medyan, çeyrekler arası genişlik, yüzde) hesaplandı. Sürekli nicel değişkenlerin normallik varsayım kontrolü Shapiro Wilk testiyle, grup varyanslarının homojenliği ise Levene testiyle incelendi. Sürekli nicel değişkenlerin gruplar arası karşılaştırmasında Kruskal Wallis (post hoc Dunn testi), Independent samples t ve Mann-Whitney U testleri uygulanırken, farklı kategorik değişkenlerin de etkisini birlikte incelemek için Nonparametric two-way ANOVA (post hoc Hochberg test) uygulandı. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkiler Pearson Chi-Square, Fisher Freeman Halton (post hoc Bonferroni test) ve Fisher Exact testleriyle incelendi. Nicel değişkenler arasındaki ilişkiler Spearman korelasyon analiziyle değerlendirildi. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.5. Araştırmanın Kısıtlılıkları

Araştırma bütçesindeki kısıtlılıklardan dolayı hasta sayısı arttırılamamış ve tekrarlayan numunelerde interferon-gama ve IgG antikor testleri çalışılamamıştır. Çalışmamızın sınırlamaları arasında, küçük örneklem büyüklüğünden dolayı ilgili populasyonların temsil edilmemesi yer almaktadır. Ayrıca çalışmaya dahil edilen kişilerin pandemi başlangıcından itibaren serum antikor düzeyleri düzenli takip edilmediği için COVID-19 hastalığı geçirip geçirmediği sonucuna gönüllülerin kendi beyanları ile karar vermek bir diğer kısıtlayıcı faktördür. Kitleri temin ettiğimiz firmanın göndermiş olduğu tüplerle çalıştığımız 16 gönüllünün sonuçları değerlendirme dışı bırakılmıştır.

4. BULGULAR

Çalışmaya Ekim 2021 ve Aralık 2021 tarihleri arasında, Düzce Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde, daha önce COVID-19 hastalığı geçirmemiş, iki doz CoronaVac ve BioNTech SARS-CoV-2 aşılarını yaptırmış olan gönüllüler dahil edildi. Çalışmaya katılan gönüllülerin %47,5'i kadın %52,5'i erkek ve medyan yaşı 56 [18] idi. Gönüllüler CoronaVac ya da BioNTech aşılarını olma durumlarına göre iki gruba ayrıldı. Çalışmaya alınan kişiler epidemiyolojik olarak yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi (VKİ), supplement kullanımı ve diyabetes mellitus, hipertansiyon, tiroid bozuklukları, astım,

aterosklerotik kalp hastalığı, otoimmün hastalık, allerji, immüsupresyon gibi demografik özellikler ve ek hastalıkların varlığı ile sayısı açısından incelendi. İncelenen gruplar yaş ve cinsiyet açısından homojendi. VKİ değeri, suplement kullanımı açısından aşı grupları arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$). Ancak ek hastalıkların sayısı açısından aşı grupları arasında anlamlı bir fark saptandı. CoronaVac aşı grubunda birden fazla ek hastalığı olanların oranı (%50), BioNTech aşı grubundakilerin oranından (%0) anlamlı düzeyde daha yüksekti ($p<0,05$). CoronaVac ve BioNTech aşı grubundaki katılımcıların epidemiyolojik özellikleri Tablo 5'te gösterilmiştir.

Tablo 5. CoronaVac ve BioNTech aşı grubundaki katılımcıların epidemiyolojik özellikleri.

Özellik	CoronaVac		BioNTech		Toplam		P	
	n	%	n	%	n	%		
Cinsiyet	Kadın	11	61,1	8	36,4	19	47,5	0,119
	Erkek	7	38,9	14	63,6	21	52,5	
Yaş ¹	56,5 [4,5]		56 [12,3]		56 [18]		0,160	
VKI ²	30,9±6,2		27,7±2,9		29,1±4,8		0,056	
Ek hastalık varlığı	Yok	6	33,3	14	63,6	20	50,0	0,057
	Var	12	66,7	8	36,4	20	50,0	
Ek hastalık sayısı	Yok	6	33,3	14	63,6	20	50,0	0,001
	Bir	3	16,7	8	36,4	11	27,5	
Suplement kullanımı	Birden çok	9	50,0	0	0,0	9	22,5	0,999
	Evet	2	11,1	2	9,1	4	10,0	
	Hayır	16	88,9	20	90,9	36	90,0	

¹Medyan [Çeyrekler arası genişlik], ² Ortalama ± Standart sapma

Çalışmamıza katılan gönüllülerden sadece bir kişide IgG antikor yanıtı negatif olarak saptanmıştır. IgG antikor yanıtı negatif olarak saptanan kişide DM, HT ve kanser hastalıkları varlığı saptanmıştır. İnterferon gama cevabı CoronaVac aşısı olan gönüllülerden dört kişide negatif, yine CoronaVac aşısı olan dört ve BioNTech aşısı olan bir kişi olmak üzere toplamda beş kişide

borderline, kalan 31 kişide ise pozitif olarak saptanmıştır. İnterferon gama cevabı negatif olan kişilerde DM, HT, kanser, tiroid bozuklukları gibi hastalıklar mevcuttu, bir hastaya böbrek nakli yapılmıştı ve tamamına CoronaVac aşısı uygulanmıştı. Çalışmaya alınan aşı grupları arasında interferon gama cevabı açısından anlamlı düzeyde fark saptanırken ($p=0,007$), IgG antikor cevabı açısından anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$). İnterferon gama cevabı pozitif olanların oranı, BioNTech aşı grubunda (%95,5), CoronaVac aşı grubundakilerden (%55,6) anlamlı düzeyde daha yüksek bulundu ($p<0,05$). IgG antikor cevabı pozitif olanların oranı, BioNTech aşı grubunda %100 olarak saptanırken, CoronaVac aşı grubunda %94,4 olarak saptandı ve iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$) (Tablo 6).

Tablo 6. CoronaVac ve BioNTech aşıları sonrası oluşan IFN- γ ve IgG antikor yanıtlarının karşılaştırılması.

İmmün yanıt tipi	CoronaVac		BioNTech		Toplam		p	
	n	%	n	%	n	%		
IFN- γ	Pozitif	10	55,6	21	95,5	31	77,5	0,007
	Negatif	4	22,2	0	0,0	4	10,0	
	Borderline	4	22,2	1	4,5	5	12,5	
IgG antikor	Pozitif	17	94,4	22	100,0	39	97,5	0,450
	Negatif	1	5,6	0	0,0	1	2,5	

Her iki aşı grubundaki immün yanıtlar kantitatif olarak değerlendirildiğinde ise, IFN- γ ve IgG antikor yanıtı BioNTech aşı grubunda, CoronaVac aşı grubunda ölçülen değerlerden anlamlı düzeyde daha yüksek saptanmıştır ($p<0,001$, $p<0,001$) (Tablo 7).

Tablo 7. CoronaVac ve BioNTech aşıları sonrası oluşan hücresel ve hümoral immün cevabın kantitatif karşılaştırılması.

İmmün yanıt tipi	CoronaVac		BioNTech		p
	Medyan	ÇAG	Medyan	ÇAG	
IFN- γ değeri	324	962	2392	2154	<0,001
IgG antikor değeri	761	691	6830	6679	<0,001

ÇAG: Çeyrekler arası genişlik

Çalışmaya katılan gönüllülerin cinsiyet, yaş grubu, VKİ, ek hastalık varlığı ve sayısı ile supplement kullanımına göre interferon gama değerleri açısından anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$). Benzer şekilde IgG antikor değerleri açısından da ek hastalık sayısı dışında kalan diğer veriler arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Ayrıca VKİ değeri ile interferon gama ($r=-0,213$ $p=0,187$) ve IgG antikor ($r=-0,266$ $p=0,097$) değerleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı. IgG antikor değeri birden fazla ek hastalığı olanlarda, bir adet ek hastalığı olan ve ek hastalığı olmayanlara göre anlamlı düzeyde daha düşük saptandı ($p=0,030$) (Tablo 8).

Tablo 8. Aşı sonrası oluşan IFN- γ ve IgG antikor cevabının kantitatif sonuçlarının sosyodemografik veriler ile karşılaştırılması.

		IFN- γ			IgG antikor		
		Medyan	ÇAG	P	Medyan	ÇAG	P
Cinsiyet	Kadın	1389	2331	0,936	1086	6715	0,105
	Erkek	1276	1941		4001	7007	
Yaş grubu	≤50	1991	1838	0,835	7174	12524	0,148
	>50	1096	2168		2329	3458	
	Normal	2317	2174		4001	12571	
VKi	Kilolu	1280	1949	0,514	4138	6904	0,303
	Obez	653	2159		1754	4062	
	Morbid obez	1238	874		1055	1170	
Ek hastalık varlığı	Yok	1294	2171	0,718	4014	7600	0,134
	Var	1188	1986		1118	5334	
Ek hastalık sayısı	Yok	1294	2171	0,349	4014	7600	0,030
	Bir	1280	1580		4138	6705	
	Birden fazla	781	1370		849	949	
Supplement kullanımı	Evet	1374	2214	0,948	761	3658	0,281
	Hayır	1278	2055		3627	6591	

ÇAG: Çeyrekler arası genişlik

Aşı grupları arasında ek hastalık varlığına göre interferon gamma yanıtı karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde fark saptandı ($p=0,001$). CoronaVac aşı grubunda ek hastalığı olan ve olmayan bireylerin interferon gamma değeri, BioNTech aşı grubunda ölçülen interferon gamma değerinden anlamlı düzeyde daha düşük saptandı ($p=0,016$, $p=0,001$). Ancak her bir aşı grubunda ek hastalık varlığına göre IFN- γ değerleri benzer bulundu ($p=0,231$ $p=0,872$).

Aşı grupları arasında ek hastalık varlığına göre IgG antikor yanıtı karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde fark saptanmıştır ($p=0,001$). CoronaVac aşı grubunda ek hastalığı olan ve olmayan bireylerin IgG antikor değeri, BioNTech aşı grubunda ölçülen IgG antikor değerinden anlamlı düzeyde daha düşük saptanmıştır ($p=0,017$, $p=0,004$). Ancak her bir aşı grubunda ek hastalık varlığına göre IgG antikor değerleri benzer bulunmuştur ($p=0,983$ $p=0,473$) (Tablo 9).

Tablo 9. Aşı gruplarına ve ek hastalık varlığına göre IFN- γ ve IgG antikor yanıtlarının karşılaştırılması.

Aşı grubu	Ek hastalık varlığı	IFN- γ yanıtı		IgG antikor yanıtı		p
		Medyan	ÇAG	Medyan	ÇAG	
CoronaVac	Yok (n=6)	230	201	745,5	2085	0,001
	Var (n=12)	665,5	1295,5	773	820	
BioNTech	Yok (n=14)	2413,5	1223	6829,5	9395	
	Var (n=8)	2359,5	1311	5935,5	8723,5	

ÇAG: Çeyrekler arası genişlik

İnterferon gama ve IgG antikor yanıtları kalitatif olarak değerlendirildiğinde, cinsiyet, yaş grubu, VKİ, suplement kullanımı, ek hastalık varlığı ve sayısına göre aralarında anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,005$) (Tablo 10 ve 11).

Tablo 10. Aşı sonrası oluşan kalitatif interferon-gama yanıtlarının sosyodemografik veriler ile karşılaştırılması.

Özellik	İnterferon gama yanıtı								p	
	Pozitif		Negatif		Borderline		Toplam			
	n	%	n	%	n	%	n	%		
Cinsiyet	Kadın	14	45,2	3	75,0	2	40,0	19	100,0	0,558
	Erkek	17	54,8	1	25,0	3	60,0	21	100,0	
Yaş grubu	≤50	9	29,0	1	25,0	1	20,0	11	100,0	0,999
	>50	22	71,0	3	75,0	4	80,0	29	100,0	
VKİ	Normal	6	19,4	0	0,0	1	20,0	7	100,0	0,393
	Kilolu	16	51,6	2	50,0	1	20,0	19	100,0	
	Obez	6	19,4	1	25,0	3	60,0	10	100,0	
Ek hastalık varlığı	Morbid obez	3	9,7	1	25,0	0	0,0	4	100,0	0,738
	Yok	16	51,6	1	25,0	3	60,0	20	100,0	
Ek hastalık sayısı	Var	15	48,4	3	75,0	2	40,0	20	100,0	0,124
	Yok	16	51,6	1	25,0	3	60,0	20	100,0	
Suplement kullanımı	Bir	9	29,0	0	0,0	2	40,0	11	100,0	0,656
	Birden fazla	6	19,4	3	75,0	0	0,0	9	100,0	
Suplement kullanımı	Evet	3	9,7	0	0,0	1	20,0	4	100,0	0,656
	Hayır	28	90,3	4	100,0	4	80,0	36	100,0	

Tablo 11. Aşı sonrası oluşan kalitatif IgG antikor yanıtlarının sosyodemografik veriler ile karşılaştırılması.

	Özellik	IgG antikor yanıtı						p
		Pozitif		Negatif		Toplam		
		n	%	n	%	n	%	
Cinsiyet	Kadın	18	46,2	1	100,0	19	100,0	0,475
	Erkek	21	53,8	0	0	21	100,0	
Yaş grubu	≤50	11	28,2	0	0	11	100,0	0,999
	>50	28	71,8	1	100,0	29	100,0	
VKİ	Normal	7	17,9	0	0	7	100,0	0,525
	Kilolu	19	48,7	0	0	19	100,0	
	Obez	9	23,1	1	100,0	10	100,0	
	Morbid obez	4	10,3	0	0	4	100,0	
Ek hastalık varlığı	Var	19	48,7	1	100,0	20	100,0	0,999
	Yok	20	51,3	0	0	20	100,0	
Ek hastalık sayısı	Yok	20	51,3	0	0	20	100,0	0,225
	Bir	11	28,2	0	0	11	100,0	
	Birden fazla	8	20,5	1	100,0	9	100,0	
Supplement kullanımı	Evet	4	10,3	0	0	4	100,0	0,999
	Hayır	35	89,7	1	100,0	36	100,0	

Çalışmaya alınan gönüllülere uygulanan anket formu ile ilgililerin beslenme alışkanlıkları değerlendirilmiştir. CoronaVac aşı grubundaki gönüllülerin interferon-gama değeri ile diğer bazı besinlerin tüketim sıklığı arasında negatif yönde anlamlı ilişki bulunmuştur ($r=-0,512$ $p=0,043$). Bu ilişki dışında, tüm gönüllülerin ya da her bir aşı grubunun ölçülen interferon-gama ve IgG antikor değerleri ile probiyotik-prebiyotik, karbonhidrat, fast-food ve diğer bazı besinlerin tüketim sıklıkları arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 12).

Tablo 12. Tüm gönüllülerin ve her bir aşı grubunun IFN- γ ve IgG antikor yanıtları ile besin tüketim sıklıkları arasındaki ilişkinin gösterilmesi.

Özellik		Probiyotik- prebiyotik	KH	Fast- food	Diğer bazı besinler*	
CoronaVac	IFN- γ	r	-0,251	-0,093	-0,372	-0,512
		p	0,316	0,714	0,468	0,043
	IgG antikor	r	-0,280	0,000	0,169	-0,410
		p	0,261	1,000	0,749	0,114
BioNTech	IFN- γ	r	0,115	0,027	-0,075	0,046
		p	0,610	0,906	0,837	0,843
	IgG antikor	r	-0,155	0,023	-0,241	-0,132
		p	0,490	0,920	0,503	0,570
Genel	IFN- γ	r	0,170	0,231	0,227	0,070
		p	0,295	0,151	0,398	0,680
	IgG antikor	r	0,062	0,293	0,206	0,056
		p	0,706	0,066	0,444	0,741

r: Korelasyon katsayısı * : Tereyağı, zeytinyağı, yumurta KH: Karbonhidrat

5. TARTIŞMA

SARS-CoV-2, hâlâ tüm dünyayı tehdit eden ve çok hızlı yayılabilen bir virüstür. Virüsün yol açtığı COVID-19 hastalığı asemptomatik seyredebileceği gibi başta solunum yolları olmak üzere birçok dokuda ciddi patolojilere yol açmakta ve ARDS, solunum yetmezliği, makrofaj aktivasyon sendromu, yaygın tromboemboli, çoklu organ hasarına kadar ilerleyebilen yaygın sistemik komplikasyonlara sebep olabilmektedir. Semptomatik tedavi ve yoğun bakım desteği ile hastaların büyük çoğunluğunun iyileşebilse de spesifik tedavisi henüz bulunamamıştır. SARS-CoV-2 virüs yayılımının etkin ve kalıcı şekilde kontrolünün sağlanması için aşı ile oluşturulacak bağışık yanıtı ihtiyaç duyulmaktadır (128).

İnsan vücudu bir patojen ile karşılaştığında doğal ve edinsel bağışıklık sistemleri devreye girer. Doğal bağışıklık sisteminin deri ve mukozal epitelyal bariyer, kompleman, antimikrobial peptidler, kemokin ve sitokinler gibi humoral faktörler ile monosit/makrofaj, polimorfonükleer lökositler, dendritik hücreler, NK hücre gibi hücresel kısımdan oluşan farklı bileşenleri mevcuttur. Doğal bağışıklık öğeleri vücudu karşılaştığı tehditlere karşı ilk kale olarak savunma ve daha sonra oluşacak yanıtı yönlendirme görevine sahiptir. Bu yanıtın iyi tarafı hazırda olması ve tehditleri genel olarak gruplandırıp yanıt oluşturmalarıdır. Edinsel bağışıklık yanıtı ise özgül, bellek özelliği sayesinde yineleyen karşılaşmalarda giderek daha hızlı ve daha güçlü yanıt verme becerisine sahip olan bağışıklık yanıtıdır. Bu yanıtta görev alan hücreler ise T ve B lenfositlerdir. Aşılarla da edinsel bağışıklık sistemi uyarılarak hastalıklar önlenmeye çalışılır (3,129). Çünkü aşıların, bulaşıcı hastalıkların önlenmesi ve kontrol altına alınmasında en etkili ve ekonomik yol olduğu kanıtlanmıştır (130).

COVID-19 hastalığında bağışıklık tepkilerini anlamak çok önemlidir. COVID-19 pandemisinde sorumlu etken olan SARS-CoV-2 virüsü için uygulanmakta olan aşılarla birlikte halen pek çok farklı tipte aşı çalışması devam etmektedir (131,132). Bağışıklık yaşlanması bireyleri enfeksiyona karşı daha duyarlı hale getirir. Şiddetli COVID-19 vakaları bu popülasyonda daha sık görüldüğünden, güçlü immünojenik aşı tasarımları özellikle yaşlı yetişkinler için gereklidir (133). Norveç'te yapılan bir çalışmada SARS-CoV-2 aşı etkisinin yaşlı popülasyonda bir

miktar azalmış olduğu saptanmıştır (134). şiddetli COVID-19 riski en yüksek olan 80 yaş ve üzeri kişilere, yeryüzündeki farklı ülkelerde aşılama için öncelik verilmiştir (135). Ülkemizde de benzer şekilde bağışıklık sisteminin ileri yaşlarda zayıflamasından ve şiddetli COVID-19 riskinin artmasından dolayı, T.C. Sağlık Bakanlığı aşı uygulamalarında yaşlı popülasyonu öncelikli grup olarak belirlemiş ve aşı takvimini buna göre planlamıştır (136).

Küresel ölçekte alınan tüm önlemlere ve aşılama çalışmalarına rağmen SARS-CoV-2 pandemisi yeni mutasyonlar ve varyantlarla yayılmaya devam etmektedir (3). Bu nedenle hem güvenilir bağışıklık koruma korelasyonlarına hem de bunları ölçebilen ve izleyebilen uygun laboratuvar araçlarına ihtiyaç vardır (4). Bu çalışmada T.C. Sağlık Bakanlığı COVID-19 aşı uygulama programına göre aşı uygulanan bireylerde, mRNA ve inaktif aşılar sonrası oluşan ve hücresele ve hümorele immünitening göstergesi olan interferon-gama ve IgG düzeylerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmamıza katılan gönüllüler epidemiyolojik olarak yaş, cinsiyet, VKİ, supplement kullanımı, aterosklerotik kalp hastalığı, otoimmün hastalık, allerji, immünsupresyon, diyabetes mellitus, tiroid hastalıkları, hipertansiyon, kanser gibi ek hastalıkların varlığı ve sayısı açasından incelendi. SARS-CoV-2 aşı uygulaması sonrası oluşan hücresele ve hümorele immün yanıtı araştırdığımız çalışmamıza dahil edilen gönüllülerin % 47,5'i kadın, % 52,5'i erkek idi ve medyan yaşı 56 [18] idi. İleri yaş, solunum yolu viral enfeksiyonları sırasında hastalığın ciddiyeti için yaygın bir komorbiditedir. Mevcut literatürde yaşlılarda antikor yanıt oranı ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda da yaşlı popülasyonda yaşla birlikte antikor seviyesinde düşüşler tespit edilmiştir. Benzer şekilde T hücre yanıtı da yaşla birlikte değişmektedir (67,137). Collier ve ark.'nın İngiltere'de 80 yaş altı ve üstü bireylerde SARS-CoV-2 aşıları sonrası yaşa bağlı immün yanıt değişikliğini araştırdıkları çalışmalarında, yaşa paralel olarak hem hücresele yanıtın hem de hümorele antikor cevabının azaldığını belirlemişlerdir. Adı geçen çalışmada immün cevap oluşturması açasından cinsiyetler arasında ise fark saptanmamıştır (135). Grupper ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada, komorbid durumlardan bağımsız olarak, aşılamadan sonra ortaya çıkan hümorele yanıtta yaşın önemli bir faktör

olduğunu belirtmişlerdir (138). Vural ve ark.'ları sağlık çalışanlarında SARS-CoV-2 aşısı sonrası gelişen immünolojik yanıtları araştırmışlar ve 40 yaş altı bireylerde 40 yaş üstü bireylerden daha yüksek düzeyde antikor titresi saptamışlardır (131). Karameşe ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada, cinsiyet ile CoronaVac aşısı sonrası ortalama antikor düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Aynı çalışmada 65 yaş üzeri katılımcılarda antikor seviyesinin daha düşük olduğu belirlenmiştir (137). Bizim çalışmamızda ise BioNTech ve CoronaVac aşılıları sonrası oluşan interferon gama ve IgG antikor yanıtları, yaş grubu ve cinsiyetler açısından karşılaştırıldığında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Çalışmamızdaki sonuçlarla literatür araştırmamızın farklı olmasının sebebi, çalışmamıza katılan gönüllülerin medyan yaşın diğer çalışmalara göre daha düşük olmasına ve katılımcıların yaşları arasında geniş bir aralık olmamasına bağlı olabileceğini düşündürmüştür.

Yurt dışında yapılan çalışmalar ve DSÖ'nün açıklamalarında COVID-19'dan korunmak için komorbid hastalığı (VKİ, DM, HT, KVH vb.) olan ve bağışıklığı baskılanmış bireylerde SARS-CoV-2 aşılarının yapılması gerektiği önerilmiştir (139). SARS-CoV-2 aşılarının mevcudiyeti ile birlikte önemli bir zorluk, aşı uygulanacak grupların önceliklerine göre sınıflandırılmasıdır. Çeşitli çalışmalarda, obezitenin eşlik ettiği diabetes mellituslu kişilerde COVID-19'un daha fazla morbidite ve mortaliteye sebep olduğu saptanmıştır. Bu nedenle aşı uygulamalarında ek hastalığı olan kişilere öncelik sağlanması önerilmektedir (140). Kardiyovasküler hastalıklar, hipertansiyon, obezite ve hiperglisemi gibi çeşitli kronik/metabolik hastalıklar şiddetli COVID-19'un hem hızlandırıcıları hem de sonuçlarından olduğu için COVID-19 aşılarının etkinliğini olumsuz etkileyebilecektir. Bu nedenle SARS-CoV-2 aşı yanıtı, potansiyel olarak komorbid hastalığı olan kişilerde dikkatle değerlendirilmelidir (141). Vücut kitle indeksi (VKİ) ≥ 30 kg/m² olarak tanımlanan fazla kilolu olma durumu, COVID-19 hastalığının şiddeti ve duyarlılığı için bir risk faktörü olarak gösterilmektedir. Bu nedenle aşı çalışmalarında VKİ değeri, aşı uygulanacak bireyler seçilirken dikkate alınmalıdır (142). Yetişkinlerde yapılan birçok çalışmada, örneğin hepatit A ve hepatit B aşısı olanlarda antikor cevabının VKİ ile ters orantılı olduğu gösterilmiştir (143). Ancak Butsch ve ark.'nın yapmış olduğu çok merkezli deneme çalışmasında, FDA onaylı üç SARS-CoV-2 aşısının (BioNTech, Moderna ve Johnson&Johnson) etkinliği, obezitesi olan ve olmayan iki

grup arasında karşılaştırıldığında anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır (144). Ranzani ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada, komorbiditelerin daha düşük antikor yanıtına yol açabileceğini bildirmiştir (p=0,001). Ayrıca aynı çalışmada DM'si olan hastaların DM'si olmayanlara göre daha düşük antikor cevabı olmasına rağmen, aralarında anlamlı bir fark saptanmamıştır (145). Karamiş ve ark.'nın 65 yaş ve üzeri katılımcılarda CoronaVac aşısının IgG antikor yanıtı üzerindeki etkinliğini araştırdıkları çalışmasında, en az bir komorbid hastalığı olan katılımcıların ortalama antikor düzeyleri ile komorbid hastalığı olmayanlar arasında anlamlı bir fark saptamışlardır (p=0,006). Aynı çalışmada, DM'si olan katılımcıların daha düşük antikor yanıtına sahip olduğunu ve DM'si olan ile olmayanlar arasında anlamlı bir fark olduğunu tespit etmişlerdir (p=0,000) (137). Bizim çalışmamızda ise BioNTech ve CoronaVac aşılı sonuca oluşan hem interferon gama cevabı hem de IgG yanıtı ile VKİ arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Otoimmün hastalığı olanlar ve immünespresif tedavi alan hastalar, infeksiyonlara karşı daha yüksek bir duyarlılığa sahiptir ve bu nedenle COVID-19 hastalığı için yüksek riskli olarak kabul edilir. Bununla birlikte bu kişilerin, influenza ve hepatit B gibi viral aşılara verdiği bağışık yanıtın gücü, genel popülasyonda olduğu kadar güçlü olmayabilir. Haberman ve ark.'nın immünespresif tedavi alan kişilerin BioNTech aşısına verdiği hümorale ve hücresele immün yanıtın azaldığını belirlemişlerdir ve bu kişilere ek aşı yapılmasını önermişlerdir (146). Seyahi ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada, immünokompetan ve otoimmün hastalığı olan bireylerde SARS-CoV-2 CoronaVac aşısına karşı güçlü bir antikor yanıtı tespit etmişlerdir. İmmünespresif kişilerde ise antikor cevabının azaldığını belirlemişlerdir (147). Geisen ve ark.'nın SARS-CoV-2 mRNA aşılarının immünojenitesi ve güvenliği ile ilgili yapmış olduğu çalışmada, iki doz aşı uygulamasından sonra kronik inflamatuvar hastalığı olan ve immünespresif tedavi alan kişilerde önemli ölçüde daha düşük anti-SARS-CoV-2 antikor düzeylerini tespit etmişlerdir (148). Notarte ve ark.'nın SARS-CoV-2 BioNTech aşısı sonrası hümorale yanıtı araştırdıkları çalışmalarında, kanser, otoimmün hastalık, metabolik bozukluk gibi komorbiditeleri olan kişilerin antikor yanıtının azaldığını saptamışlardır (149). Araştırmamızda komorbid hastalığı (VKİ, DM, HT, KVH, kanser, otoimmün hastalık vb.) olan bireyler ek hastalık varlığı/yokluğuna göre değerlendirilmiş,

interferon gama ve IgG düzeyleri açısından anlamlı fark saptanmamıştır. Ancak ek hastalık sayısına göre değerlendirildiğinde ise ek hastalık sayısı birden çok olanlar ile tek ek hastalığı olanlar arasında interferon gama yanıtı açısından anlamlı bir fark saptanmazken; IgG antikor yanıtı açısından anlamlı fark saptanmıştır (Tablo 9). Aşı çeşidine göre bağışık yanıt değerlendirildiğinde, ek hastalığı olan ve olmayan bireylerin interferon gama değeri ile IgG düzeyleri, CoronaVac aşı grubunda olan kişilerde BioNTech aşı grubunda ölçülen değerlerden anlamlı düzeyde daha düşük saptanmıştır. Ancak aşı uygulanan her bir grup kendi içinde ek hastalık olan/olmayanlara göre değerlendirildiğinde, interferon gama ve IgG değerleri arasında anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 8).

Gıdalarla alınan D, C, E vitamini, çinko ve omega-3 yağ asitleri gibi besinler antioksidan özellikleri ve immünomodülatör etkileri ile bilinmektedir (150). Diyet ve beslenme durumunun bağışıklık tepkisini nasıl değiştirdiğini anlamaya yönelik araştırmalar, COVID-19 morbidite ve mortalitesindeki değişimi açıklamaya yardımcı olabileceği bildirilmektedir (141). Son çalışmalarda, besin takviyesinin COVID-19 hastalarında destekleyici bir rol oynayabileceği de vurgulanmıştır. D, C, E vitamini, çinko ve omega-3 yağ asitleri gibi besinlerin önerilen günlük dozlarından daha yüksek dozlarda alınmasının, potansiyel olarak SARS-CoV-2 viral yükünü ve hastanede kalış süresini azaltabileceği bildirilmiştir (150). D vitamini, hem doğal hem de edinsel bağışık yanıt dahil olmak üzere çok çeşitli vücut sistemlerinde rollere sahiptir. D vitamini, defensin ve katelisin gibi antimikrobiyal peptitlerin ekspresyonunu arttırarak hücresel bağışıklığı uyarır. Ayrıca D vitamini, Th1 hücre fonksiyonunu baskılayarak ve pro-inflamatuar sitokinlerden IL-2, INF- γ üretimini azaltarak edinsel bağışıklık yanıtını düzenler (151). C vitamini, TNF- α dahil pro-inflamatuar sitokinlerin seviyelerini azaltıp IL-10 gibi anti-inflamatuar sitokinleri arttırır. C vitamini takviyesi, bağışıklık yanıtının desteklenmesine yardımcı olduğu için COVID-19 enfeksiyonu riski taşıyan bireylerde önerilmektedir. Omega-3 yağ asitleri, eikosapentaenoik ve dokosaheksaenoik yağ asitlerini içeren çoklu doymamış yağ asitleridir. Omega-3'ün bağışıklık sistemine olumlu etkileri olduğu bilinmektedir. İlgili çekici olan, omega-3 influenza virüsü replikasyonunu inhibe ederek anti-viral etkiler gösterir (150). B vitaminleri ise bağırsak bariyeri işlevine katkıda bulunup bağışıklık düzenlemesinde rol oynar. B12 vitamini ve folat, doğal

öldürücü hücrelerin ve CD8⁺ T lenfositlerin aktivitesini destekler, bu etkiler antiviral savunmada önemlidir (152). COVID-19 hastalığı sırasında semptomları azaltmak, enfeksiyon süresini kısaltmak için, ayrıca antiviral etkileri olduğu ve bağışıklık tepkilerini iyileştirebileceğinden vitamin seviyeleri çok önemlidir (150). Literatür taramamızda, influenza, difteri, tetanoz, hepatit B gibi hem bakteriyel hem viral aşılarla verilen immün yanıt ile supplement olarak alınan D, C, B, B12 vitamini, omega-3 gibi mikrobelerin kullanımı arasındaki ilişkiyi araştıran çok sayıda çalışma tespit edilmiştir. Bu çalışmalar, mikrobelerin kullanımının aşılarla verilen immün yanıtla etkisinin farklı yönlerde olabileceğini göstermiştir (153,154). Ancak literatür taramamızda, SARS-CoV-2 aşısına verilen immün yanıt ile mikrobelerin kullanımındaki ilişkiyi araştıran bir çalışma tespit edilememiştir. Yapmış olduğumuz çalışmamızda, gönüllülerin supplement olarak alınan D, C, B12 vitamini, omega-3 gibi mikrobelerin kullanımı ile SARS-CoV-2 aşısı sonrası gelişen hücresel ve humoral yanıt arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Bu yönüyle araştırmamız orijinal olup, literatür tarama sonuçlarımıza göre ilk olma özelliği taşımaktadır.

COVID-19 enfeksiyonunda edinsel immünite, patojenlere karşı koruyucu bağışıklık geliştirmek için antijene özgü bir şekilde yanıt verir. Edinsel bağışık yanıt, B hücreleri, CD4⁺ T ve CD8⁺ T hücreleri tarafından oluşturulmaktadır. SARS-CoV-2 enfeksiyonu, nötralize edici antikorların üretilmesini sağlayan B ve T hücrelerini aktive eder. CD8⁺ T hücreleri SARS-CoV-2 ile enfekte olmuş hücreleri doğrudan nötralize eder. CD4⁺ T hücreleri ise B hücrelerine humoral yanıtları başlatmak için yardımcı olur. SARS-CoV-2 spesifik antikorların test edilmesi, COVID-19 enfeksiyonunun hızlı, basit ve güvenilir tanı yöntemidir. Viral enfeksiyonlar sırasında IgM antikor ilk savunma hattını oluştururken, IgG antikorlarına bağlı immün yanıt uzun süreli ve yüksek afiniteli humoral bağışıklık oluşturmaktadır. Benzer şekilde COVID-19 enfeksiyonuna karşı da en erken humoral yanıt, IgM ve IgA antikorları tarafından oluşturulmaktadır. COVID-19 enfeksiyonundan 3-6 gün sonra IgM, 7-10 gün sonra IgG antikor yanıtı oluşmaya başlar. IgG antikor seviyeleri enfeksiyondan yaklaşık 50-60 gün sonra pik yapar ve 10 aya kadar varlığı sürebilir (155,156). Aşıların koruyuculuğu bağışıklık yanıtının kompleks etkileşimiyle olduğundan, antikor yanıtı aşının koruyuculuğunu tam olarak göstermese de önemli bir immün

yanıt göstergesi olarak kabul edilir. Virüsün inhibisyonunu sağlama fonksiyonu olan antikorlar “nötralizan antikor” olarak adlandırılmaktadır. SARS-CoV-2 virüsüne karşı oluşan nötralizan antikorlar ağırlıklı olarak S proteininde yer alan RBD’ye karşı oluşmaktadır. Bu antikorların etkilerini değerlendirmede kullanılan altın standart yöntem, “Plak redüksiyon nötralizasyon testi (PRNT)” olarak bilinmektedir. SARS-CoV-2’nin çeşitli antijenlerine karşı gelişen antikorların varlığını ve kantitatif değerini tespit etmek için immünoenzim tabanlı “enzyme-linked immunosorbent assay” (ELISA) gibi testler geliştirilmiştir. Aşı veya hastalık sonrası oluşan antikorların nötralize edici etkisinin ACE-2 ve RBD arasındaki bağlanmanın inhibisyonu ile araştırıldığı bu test, altın standart olarak bilinen PRNT yöntemi ile kıyaslandığında korele sonuçlar verdiği gözlenmiştir (157).

Yapmış olduğumuz araştırmamızda SARS-CoV-2 IgG II Quant (Abbott, İrlanda) kiti kullanılarak, CoronaVac ve BioNTech aşılarının SARS-CoV-2’nin spike RBD’ye karşı IgG antikorları iki doz aşı olanlarda ikinci doz aşından 10-30 gün sonra kantitatif olarak ölçülmüş ve kişilerin bağışıklık durumu değerlendirilmiştir (158). Araştırmamızda CoronaVac aşısı yapılan on sekiz gönüllüden bir tanesinin antikor cevabı 15 AU/mL olarak saptanmış ve cut-off değerinin altında olduğu için negatif olarak kabul edilmiştir. BioNTech aşısı yapılan 22 gönüllünün tamamının antikor cevabı cut-off değerinin üzerinde olduğu için pozitif olarak kabul edilmiştir. Araştırmamızdan elde ettiğimiz bu bulgulara göre, çalışmaya katılan gönüllülerde CoronaVac ve BioNTech aşılarının antikor üretme yetenekleri sırasıyla %94,4 ve %100 olarak saptanmıştır. Ülkemizde yapılan araştırmalardan Davarcı ve ark.’nın sağlık çalışanlarında CoronaVac aşısı sonrası antikor cevabını araştırmışlar ve ikinci dozdan sonra aşı etkinliğini %94,6 olarak saptamışlardır (159). Benzer şekilde Akar ve ark.’ları yine sağlık çalışanlarında yaptığı araştırmalarında, CoronaVac aşısının ikinci dozundan 28 gün sonra %97 oranında bağışık yanıt oluştuğunu tespit etmişlerdir (157). Yalçın ve ark.’ları Ankara’da 148 kişi üzerinde yapmış olduğu çalışmalarında, CoronaVac aşısının ilk dozundan sonra katılımcıların %35,2’sinde ikinci dozdan sonra ise %100’ünde antikor yanıt varlığını saptamışlardır. Ayrıca antikor yanıtının enfeksiyondan sonra altı (6) aya kadar devam ettiğini ve zamanla azaldığını göstermişlerdir (160). Tanrıöver ve ark.’nın çalışmasında, CoronaVac aşısından iki hafta sonra ölçülen hümorale immün yanıtın seropozitiflik oranı %89,7

olarak belirlenmiş ve CoronaVac aşısının koruma süresi ile farklı yaş popülasyonlardaki etkinliğini tespit etmek için ilave çalışmalar gerektiğini bildirmişlerdir (161). Uysal ve ark.'ları ile Bayram ve arkadaşlarının yapmış olduğu farklı çalışmalarda, CoronaVac aşısından dört hafta sonra aynı seropozitiflik oranını (%99,6) saptamışlardır (162,163). Binay ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada, iki doz CoronaVac aşısından sonra SARS-CoV-2 IgG pozitiflik oranını %100 olarak saptamışlardır (164). Hong Kong'da yapılan bir çalışmada BioNTech ve CoronaVac aşılarının bağışıklık yanıtını karşılaştırılmış ve BioNTech aşısı yapılan kişilerde CoronaVac aşısı yapılanlardan daha fazla hümorale yanıt saptanmıştır (165). Yine benzer şekilde Şili'de Sauré ve ark.'nın BioNTech ve CoronaVac aşılarının hümorale immünesinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, BioNTech aşısı yapılan kişilerde CoronaVac aşısı yapılanlardan daha fazla IgG seropozitifliği saptanmıştır (166). Polack ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada, iki doz uygulanan BioNTech aşısı, COVID-19 hastalığını önlemede %95 etkili olarak bulunmuştur (167). Subbarao ve ark.'nın Londra'da 70 yaş ve üzeri kişilerde yapmış olduğu çalışmada, tek doz BioNTech aşısından 3 hafta sonra %94'ten fazla seropozitiflik saptanırken, iki doz aşidan sonra çok yüksek antikor seviyeleri saptanmıştır (168). Bulgularımıza göre özellikle CoronaVac aşısına bağlı oluşan antikor cevabı, literatürdeki diğer çalışmalardan nisbeten daha düşük saptanmıştır. Oransal olarak düşük saptanan bu bulgunun sebebi, çalışmamızın kısıtlılıklarından biri olan gönüllü sayısının az olması ile ilgili olabileceğini düşündürmüştür. Araştırmamızdaki BioNTech aşısına bağlı oluşan antikor cevabının sonuçları ise literatürdeki diğer çalışmalarla uyumlu bulunmuştur. Hem araştırmamızda elde ettiğimiz hem de diğer çalışmalardaki bulgular neticesinde, iki doz uygulanan CoronaVac ve BioNTech aşılarının COVID-19 enfeksiyonuna karşı etkili olduğunu ve yeterli koruma sağladığını göstermektedir. Ayrıca SARS-CoV-2'ye karşı antikor yanıtının tespiti, kişilerin daha önce bu enfeksiyonla enfekte olup olmadığını öğrenmek, enfeksiyonu teşhis etmek ve aşının etkinliğini belirlemek için önemli veriler sağlasa da, bu antikor yanıtının değişkenliğini etkileyen faktörlerin var olduğunun belirlenmesi önemlidir. Antikor yanıtı, hem bireysel özellikler hem de aşıyla ilgili farklılıklar nedeniyle immün yanıtın kalitesini ve bağışıklığın süresini etkileyebilir (163).

COVID-19 enfeksiyonunda hem aşı yanıtı hem de akut/geçirilmiş enfeksiyon

tanısı için antikör saptama testleri yaygın olarak kullanılmasına rağmen, T hücre etkinliğini saptayan testler daha az sıklıkla kullanılmaktadır. Bu nedenle T hücre cevabının belirlenebilmesi için gerçekleştirilmesi kolay ve standardize edilmiş testler gereklidir (169). Bu amaçla IFN- γ ölçümü kullanılabilir. İnterferon gama, spesifik antijenlere karşı T hücresi aracılı immün yanıtı ölçmek için kullanılan anahtar bir sitokindir. İnterferon gama salınım testi (IGRA), patojene özgü peptitlerle uyarıldıktan sonra antijene özgü T hücreleri tarafından salınan IFN- γ 'yı ölçmek için klinik laboratuvarlarda kullanılan in vitro immünolojik bir testtir (170). IGRA testi, *Mycobacterium tuberculosis*, Sitomegalovirus, Varisella Zoster virüs gibi bazı patojenlerin tanısında devrim yaratmıştır. Bu testin temel avantajı, özel ekipmana gereksinim olmadan ve çok kısa süre içerisinde gerçekleştirilme imkanı olmasıdır. (171). SARS-CoV-2 IGRA testi, SARS-CoV-2'ye karşı humoral antikör yanıtının saptanamadığı immüsupresyon benzeri durumlarda T hücresi yanıtını tespit edebildiği için, aşı tarafından oluşturulan bağışıklık yanıtı hakkında daha güvenilir bilgi vermektedir (172). Biz de çalışmamızda SARS-CoV-2'ye özgü T hücre yanıtını analiz etmek için hem CoronaVac hem de BioNTech aşısı olanlarda, IFN- γ yanıtını SARS-CoV-2 IGRA (Euroimmun, Almanya) testi ile değerlendirdik.

Martínez-Gallo ve ark.'nın 20 sağlık çalışanı üzerinde yapmış olduğu bir çalışmada, SARS-CoV-2 N ve S proteinlerine yönelik antikör ve interferon-gama yanıtlarını araştırmışlar, IGRA testinin ve duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla %100 ile %86 olarak saptamışlardır. Aynı çalışmada SARS-CoV-2'ye spesifik antikör seviyeleri ile IGRA testi arasında çok yüksek bir uyum bulunmuştur (173). Huzly ve ark.'nın 127 kişi üzerinde yaptığı bir başka çalışmada ise, SARS-CoV-2 IGRA testinin özgüllüğünü %96,3-100 ve duyarlılığını %75,4-86,9 olarak saptamışlardır. Adı geçen çalışmada, BioNTech aşısının ilk dozundan sonraki IFN- γ konsantrasyonları ikinci dozdan sonraki konsantrasyonlardan önemli ölçüde daha düşük bulunmuş ve immüsupresif bazı hastalarda aşılamanın tamamlanmasına karşın izole T hücresi yanıtı ya da antikör yanıtı saptanmamıştır. Araştırma sonucunda IGRA testinin, COVID-19 aşısına karşı hücresel bağışıklık yanıtı tespit etmek için hassas ve spesifik bir araç olduğunu kanıtlamışlardır. Bu testin immüsupresif veya immün modüle edici ilaç kullanan hastaların, aşıya vermiş olduğu immün yanıtı analiz etmede de faydalı olduğunu göstermişlerdir (171).

S proteinine özgü nötralize edici antikorların (nAb) bağışıklıktaki rolü, pandeminin başlangıcından beri araştırma konusu olmuştur ve nAb'lerin uyarılması aşı çalışmalarında kullanılmaktadır. Bununla beraber, erken ve koordineli bir T hücresi yanıtının (antikor yanıtının eşlik etmesi gerekmeksizin), hem yeterli bağışıklığı olan hem de immünsüpresif kişilerde daha az şiddetli COVID-19 hastalığı ile ilişkili olduğuna ve VOC varyantlarına karşı bile daha uzun vadeli koruma sağlayabileceğine dair kanıtlar artmaktadır (174). Şahin ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada, BioNTech aşısının SARS-CoV-2 S proteinine özgü nötralize edici antikorlar ve spesifik CD4⁺ ve CD8⁺ T hücreleri ile geniş bir bağışıklık yanıtını indüklediği gözlemlenmiştir. BioNTech aşısı ile indüklenen CD4⁺ T hücrelerinde yüksek IFN- γ , IL-2 ve düşük IL-4 seviyeleri saptanmışlardır (175). Jaganathan ve ark.'nın yapmış olduğu bir çalışmada, SARS-CoV-2 mRNA aşısının ikinci dozundan iki ay sonra SARS-CoV-2'ye karşı güçlü antikor ve CD4⁺/CD8⁺ T hücresi yanıtı tespit edilmiştir (172). Kurteva ve arkadaşları sağlık çalışanlarında, BioNTech aşısını takiben IFN- γ ve nötralize edici antikor ölçümleri yapmışlardır. Test edilen 37 kişiden 31'inde, COVID-19 aşısından bir (1) ay sonra SARS-CoV-2 Ag1 ve Ag2'ye karşı SARS-CoV-2'ye özgü IFN- γ düzeyleri önemli ölçüde yüksek bulunmuştur (176). Geers ve ark.'nın yapmış olduğu bir çalışmada, SARS-CoV-2 B.1.1.7 ve B.1.351 varyantlarının hümmoral immüniteden kısmen kaçabildiğini ancak CD4⁺ T hücre aktivasyonundan etkilenmediğini göstermişlerdir (177). Kalimuddin ve ark.'nın yapmış olduğu bir çalışmada, 20 gönüllüde BioNTech aşısının tek bir dozundan 10 gün sonra nAb yanıtı saptanmadan önce, IFN- γ yanıtını bildirmişlerdir (178). Yapılan diğer bir çalışmada, faz 1 ve 2 denemelerinde, mRNA-1273, BioNTech, ChAdOx1 ve Ad26.COVS.S aşılarının ilk dozundan 7-43 gün sonra aşılamaaya spesifik bir T hücre yanıtı oluşturdukları gösterilmiştir (179). Bange ve ark.'nın yapmış olduğu bir çalışma ise, antikor yanıtının saptanamadığı kanser hastalarında COVID-19 mRNA aşısına karşı elde edilen hüccresel immün yanıt varlığının, koruma sağlamak için yeterli olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, CD8⁺ T hücreleri, hümmoral bağışıklık yetersiz olduğunda COVID-19 hastalığından iyileşmeyi etkileyebilir (180).

6. SONUÇLAR

Çalışmamıza katılan 40 kişiden sadece bir kişide IgG antikor yanıtı negatif olarak saptanmıştır. IgG antikor yanıtı negatif olarak saptanan kişide DM, HT ve kanser hastalıkları mevcuttu. Araştırmamızda elde ettiğimiz interferon gama cevabı ise dört kişide negatif, beş kişide borderline, kalan 31 katılımcıda ise pozitif olarak saptanmıştır. Anti-SARS-CoV-2 IGRA testi ile ölçülen IFN- γ yanıtı negatif olan dört gönüllünün bilinen bir immün yetmezliği olmamasına rağmen DM, HT, kanser, tiroid bozuklukları gibi hastalıkları mevcut olması ve tamamına CoronaVac aşısının uygulanması dikkat çekiciydi. Ayrıca bir hastaya böbrek nakli yapılmıştı. Bulgularımız, aşılama sonrası oluşan interferon-gama yanıtının kronik hastalığı olan ya da kanser, transplantasyon sonrası immüsupresif tedavi alan bireylerde oluşmayabileceğini göstermiştir. Ancak araştırmamıza katılan gönüllü sayısının az olmasından dolayı bu görüşün doğrulanması için geniş katımlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak bu araştırma, BioNTech ve CoronaVac aşuları uygulanmış bireylerden oluşan iki farklı grup gönüllüde hem IgG antikor hem de interferon gama yanıtlarını değerlendiren bir ön çalışmadır. Araştırmamızda COVID-19 hastalığına karşı kullanılan hem BioNTech hem de CoronaVac aşularına karşı oluşan interferon gama yanıtı ile IgG antikor yanıtları arasında uyum saptanmıştır. Anti-SARS-CoV-2 IGRA testi, ilave donanım gerektirmeyen ve rutin tanı laboratuvarlarında uygulanması kolay hızlı bir test olarak değerlendirilmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular COVID-19 aşısı sonrası, SARS-CoV-2'ye özgü T hücre yanıtını saptamak için Anti-SARS-CoV-2 IGRA testinin güvenilir ve hassas bir yöntem olduğunu göstermiştir. Çalışmamızın kısıtlılıklarından biri olan çalışmaya katılan gönüllü sayısının az olması, kronik hastalığı olan ya da kemoterapi alan bağışıklığı baskılanmış bireylerde Anti-SARS-CoV-2 IGRA testinin negatif sonuç vermesi test hakkında yorum yapmayı zorlaştırmaktadır. Ayrıca biz çalışmamızda, gönüllülerin aşuya vermiş olduğu hücresel ve humoral yanıtı aşından bir ay sonra test ettik, bu nedenle tekrarlayan ölçüm yapılamadığı için aşılamadan sonraki aylarda IFN- γ ve IgG antikor düzeylerinin ne olacağı konusunda bilgi vermemizi zorlaştırmaktadır. Bu nedenle büyük ölçekli ve tekrarlayan ölçümlü araştırmaların planlanması

gerekmektedir.

Anti-SARS-CoV-2 IGRA testleri COVID-19 hastalığına karşı bağışık yanıt durumunu ölçmek için umut verici bir araç oluşturur, çok sayıda numuneye uygulanabilir ve özellikle sağlık çalışanları gibi enfeksiyona yeniden maruz kalma riski altındaki hassas gruplar için COVID-19'a karşı korumanın ve aşı yanıtının değerli bir belirteci haline gelebilirler (173).



7. KAYNAKLAR

1. Eryılmaz E KR. Sars koronavirus-2 (SARS-CoV-2) Virolojik Özellikleri ve diğer koronaviruslerden farkı. Selçuk Sağlık Derg. 2020;1:1–9.
2. Alp Ş ÜS. Yeni Koronavirus (SARS-CoV-2) Kaynaklı Pandemi: Gelişmeler ve Güncel Durum. Flora. 2020;25(2):111–20.
3. Dayan S. COVID-19 ve Aşı. Dicle Tıp Derg. 2021;48:98–113.
4. Malipiero G, Moratto A, Infantino M, D'Agaro P, Piscianz E, Manfredi M, et al. Assessment of humoral and cellular immunity induced by the BNT162b2 SARS-CoV-2 vaccine in healthcare workers, elderly people, and immunosuppressed patients with autoimmune disease. Immunol Res [Internet]. 2021;69(6):576–83. Available from: <https://doi.org/10.1007/s12026-021-09226-z>
5. Su S, Wong G, Shi W, Liu J, Lai ACK, Zhou J, et al. Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses. Trends Microbiol. 2016;24(6):490–502.
6. Chan JFW, Kok KH, Zhu Z, Chu H, To KKW, Yuan S, et al. Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan. Emerg Microbes Infect. 2020;9(1):221–36.
7. Maier HJ, Bickerton E, Britton P. Coronaviruses: Methods and protocols. Coronaviruses Methods Protoc. 2015;1282(1):1–282.
8. Akgül Ö. SARS-CoV-2/COVID-19 Pandemisi. AydınTıp Fakültesi Klinikleri Dergisi. 2020;3(1):1–4.
9. Weiss SR, Navas-Martin S. Coronavirus Pathogenesis and the Emerging Pathogen Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus. Microbiol Mol Biol Rev. 2005;69(4):635–64.
10. Woo PCY, Lau SKP, Lam CSF, Lau CCY, Tsang AKL, Lau JHN, et al.

Discovery of Seven Novel Mammalian and Avian Coronaviruses in the Genus Deltacoronavirus Supports Bat Coronaviruses as the Gene Source of Alphacoronavirus and Betacoronavirus and Avian Coronaviruses as the Gene Source of Gammacoronavirus and Deltacoronavi. *J Virol.* 2012;86(7):3995–4008.

11. Malik YA. Properties of coronavirus and SARS-CoV-2. *Malays J Pathol.* 2020;42(1):3–11.
12. Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 2019;17(3):181–92. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41579-018-0118-9>
13. Channappanavar R, Perlman S. Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology. *Semin Immunopathol.* 2017;39(5):529–39.
14. Zhao L, Jha BK, Wu A, Elliott R, Ziebuhr J, Gorbalenya AE, et al. Antagonism of the interferon-induced OAS-RNase L pathway by murine coronavirus ns2 protein is required for virus replication and liver pathology. *Cell Host Microbe.* 2012;11(6):607–16.
15. Bárcena M, Oostergetel GT, Bartelink W, Faas FGA, Verkleij A, Rottier PJM, et al. Cryo-electron tomography of mouse hepatitis virus: Insights into the structure of the coronavirus. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106(2):582–7.
16. Neuman BW, Adair BD, Yoshioka C, Quispe JD, Orca G, Kuhn P, et al. Supramolecular Architecture of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Revealed by Electron Cryomicroscopy. *J Virol.* 2006;80(16):7918–28.
17. Beniac DR, Andonov A, Grudeski E, Booth TF. Architecture of the SARS coronavirus prefusion spike. *Nat Struct Mol Biol.* 2006;13(8):751–2.
18. Lai MMC, Cavanaght D. The molecular biology of coronaviruses. *Adv Vir Res.* 1997;48(January):1–100.

19. Langereis MA, van Vliet ALW, Boot W, de Groot RJ. Attachment of Mouse Hepatitis Virus to O-Acetylated Sialic Acid Is Mediated by Hemagglutinin-Esterase and Not by the Spike Protein. *J Virol.* 2010;84(17):8970–4.
20. Tatar B, Adar P. SARS-CoV-2: Mikrobiyoloji and Epidemiology. *J Tepecik Educ Res Hosp.* 2020;30:27–35.
21. Demirbilek Y, Pehlivanürk G, Özgüler ZÖ, Meşe EALP. Covid-19 outbreak control, example of ministry of health of turkey. *Turkish J Med Sci.* 2020;50(SI-1):489–94.
22. WHO Director-General’s opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March 2020, World Health Organization (WHO), <https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-atthe-media-briefing-on-covid-19>.
23. Snijder EJ. The Nonstructural Proteins Directing Coronavirus RNA Synthesis and Processing. *Adv Virus Res.* 2016;96(January):59–126.
24. Pancer K, Milewska A, Owczarek K, Dabrowska A, Kowalski M, Labaj P, et al. The SARS-CoV-2 ORF10 is not essential in vitro or in vivo in humans. *PLoS Pathog* [Internet]. 2020;16(12):1–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1008959>
25. Arabacı Ç, Aydın Tutak G, Eroğlu Kesim B, Ertürk B, Ak K, Ağaç E. The Characteristics of SARS-CoV-2 Virus and Microbiological Diagnosis. *Eur Arch Med Res.* 2020;36(1):10–20.
26. Editör: Prof. Dr. K. Osman Memikoğlu Genç PDV. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi COVID-19 Kitabı. 2020.
27. Meşe S, Ağaçfidan A. Coronavirus: General Features and Current Approach. *Sağlık Bilim İleri Araştırmalar Derg.* 2020;3((1)):14–23.
28. Janik E, Niemcewicz M, Podogrocki M, Majsterek I, Bijak M. The emerging concern and interest sars-cov-2 variants. *Pathogens.* 2021;10(6):1–13.

29. <https://www.who.int/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/tracking-SARS-CoV-2-variants>.
30. <https://gvn.org/covid-19/delta-b-1-617-2/>.
31. Ferré VM, Peiffer-Smadja N, Visseaux B, Descamps D, Ghosn J, Charpentiera C. Omicron SARS-CoV-2 variant: What we know and what we don't. *Anaesth Crit Care Pain Med*. 2022;Feb(41(1)).
32. Nagy A, Pongor S GB. Different mutations in SARS-CoV-2 associate with severe and mild outcome. *Int J Antimicrob Agents*. 2021;57(2).
33. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*. 2020;181(2):271–80.
34. Özkızılcık Koçyiğit A Pİ. COVID-19 enfeksiyonu ve CAR T hücreleri. *Tepecik Eğit ve Araşt Hast Dergisi*. 2020;30:90–3.
35. T.C. Sağlık Bakanlığı 14 Nisan 2020, Ankara.COVID-19 (SARS-CoV-2 Enfeksiyonu) Rehberi.
36. Racaniello V, Tuller D RG. Furin cleavage site in the SARS-CoV-2 coronavirus glycoprotein. *Virology Blog*. 2020;
37. Soyöz M, Kılıçaslan Ayna T, Pirim İ. İmmünolojik Açıdan COVID-19 Enfeksiyonuna Bakış. *Tepecik Eğit ve Araşt Hast Derg*. 2020;30(Ek sayı):101–11.
38. Chen Y, Liu Q, Guo D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *J Med Virol*. 2020;92(4):418–23.
39. Li X, Geng M, Peng Y, Meng L, Lu S. Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *J Pharm Anal [Internet]*. 2020;10(2):102–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2020.03.001>
40. Paces J, Strizova Z, Smrz D, Cerny J. COVID-19 and the Immune System. *Physiol Res*. 2020;69:379–88.

41. Demirci M, Ünlü Ö, Yiğın A, Zeyrek FY. SARS-CoV-2 Patogenezi ve Covid-19'da İmmun Yanıt. *Türk Mikrobiyoloji Cemiy Derg.* 2020;50(4):183–91.
42. Tregoning JS, Brown ES, Cheeseman HM, Flight KE, Higham SL, Lemm NM, et al. Vaccines for COVID-19. *Clin Exp Immunol.* 2020;202(2):162–92.
43. Songu M, Kat H. Enfeksiyondan korunma ve immün sistem. *J Med Updat.* 2012;2(1):31–42.
44. Abbas AK, Lichtman AH. Temel immunoloji, immün sistemin işlev ve bozuklukları. Editörler: Y. Camcıoğlu, G. Deniz. İstanbul: Medikal Yayıncılık; 2007.
45. Prof.Dr.Dürdal Us. Temel İmmünoloji ve Seroloji. 2016. 57–77 p.
46. Remington JS, Klein JO et al. *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant.* 4th ed. Philadelphia: WB Saunders. 1995. 140–267 p.
47. <https://www.microbiologybook.org/Turkish-immunol/immunolchapter11turk.htm>.
48. Akdoğan M, Yöntem M. Sitokinler. *Online Türk Sağlık Bilim Derg.* 2018;36–45.
49. Abul K. Abbas AHL. Temel immunoloji, immün sistemin işlev ve bozuklukları. Editörler: Y. Camcıoğlu, G. Deniz. İstanbul: Medikal Yayıncılık; 2007.
50. Fathima T, Brundha MP, Ezhilarasan D. Role of interferon Gamma in COVID-19 prevention - A review. *Int J Curr Res Rev.* 2020;12(21 Special Issue):91–6.
51. Lee AJ, Ashkar AA. The dual nature of type I and type II interferons. *Front Immunol.* 2018;9(SEP):1–10.
52. Plataniias LC. Mechanisms of type-I- and type-II-interferon-mediated signalling. *Nat Rev Immunol.* 2005;5(5):375–86.

53. Çaynak ZC. Kutanöz Malin Melanom'da Yüksek Doz İnterferon Tedavisi,Uzmanlık Tezi, Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi 5. Genel Cerrahi Kliniği, İstanbul. 2006.
54. Kayaalp S.Oğuz. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Cilt 1 Hacettepe-Taş. 2005. 303–305 p.
55. Ustaçelebi Ş. Antiviral İlaçlar ve Etki Mekanizmaları. Ankem derg. 1999;13:284–8.
56. Meurs E, Chong K, Galabru J, Thomas NS, Kerr IM, Williams BR et al. Molecular cloning and characterization of the human double-stranded RNA-activated protein kinase induced by interferon. *Cell*. 1990;62(379–90).
57. Lee AJ, Chen B, Chew M V., Barra NG, Shenouda MM, Nham T, et al. Inflammatory monocytes require type I interferon receptor signaling to activate NK cells via IL-18 during a mucosal viral infection. *J Exp Med*. 2017;214(4):1153–67.
58. Baranek T., Manh T.P., Alexandre Y., Maqbool M.A., Cabeza J.Z., Tomasello E., Crozat K., Bessou G., Zucchini N., Robbins S.H. et al. Differential responses of immune cells to type I interferon contribute to host resistance to viral infection. *Cell Host Microbe*. 2012;12:571–84.
59. Kang S, Brown HM. Direct Antiviral Mechanisms of Interferon-Gamma. *Immune Netw*. 2018;18(5):1–15.
60. Pegram H.J., Andrews D.M., Smyth M.J., Darcy P.K. and KMH. Activating and inhibitory receptors of natural killer cells. *Immunol Cell Biol*. 2011;89:216–24.
61. Green DS, Young HA, Valencia JC. Current prospects of type II interferon γ signaling & autoimmunity. *J Biol Chem*. 2017;292(34):13925–33.
62. Mesev E V., LeDesma RA, Ploss A. Decoding type I and III interferon signalling during viral infection. *Nat Microbiol* [Internet]. 2019;4(6):914–24. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41564-019-0421-x>

63. Frieman M, Heise M, Baric R. SARS coronavirus and innate immunity. *Virus Res.* 2008;133(1):101–12.
64. Kurtuluş M, Pirim İ. COVID-19 and Cytokine Storm. *Forbes J Med.* 2020;1(3):55–60.
65. Züst R, Cervantes-Barragan L, Habjan M, Maier R, Neuman BW, Ziebuhr J, et al. Ribose 2'-O-methylation provides a molecular signature for the distinction of self and non-self mRNA dependent on the RNA sensor Mda5. *Nat Immunol.* 2011;12(2):137–43.
66. Prompetchara E, Ketloy C, Palaga T. Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: Lessons learned from SARS and MERS epidemic. *Asian Pacific J Allergy Immunol.* 2020;38(1):1–9.
67. Chen Z, John Wherry E. T cell responses in patients with COVID-19. *Nat Rev Immunol* [Internet]. 2020;20(9):529–36. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41577-020-0402-6>
68. Chen J, Lau YF, Lamirande EW, Paddock CD, Bartlett JH, Zaki SR, et al. Cellular Immune Responses to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus (SARS-CoV) Infection in Senescent BALB/c Mice: CD4+ T Cells Are Important in Control of SARS-CoV Infection. *J Virol.* 2010;84(3):1289–301.
69. Channappanavar R, Fett C, Zhao J, Meyerholz DK, Perlman S. Virus-Specific Memory CD8 T Cells Provide Substantial Protection from Lethal Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Infection. *J Virol.* 2014;88(19):11034–44.
70. Grifoni A, Weiskopf D, Ramirez SI, Mateus J, Dan JM, Moderbacher CR, et al. Targets of T Cell Responses to SARS-CoV-2 Coronavirus in Humans with COVID-19 Disease and Unexposed Individuals. *Cell.* 2020;181(7):1489-1501.e15.
71. Busnadiego I, Fernbach S, Pohl MO, Karakus U, Huber M, Trkola A, et al.

- Antiviral activity of type i, ii, and iii interferons counterbalances ace2 inducibility and restricts sars-cov-2. *MBio*. 2020;11(5):1–10.
72. Sekine T, Perez-Potti A, Rivera-Ballesteros O, Strålin K, Gorin JB, Olsson A, et al. Robust T Cell Immunity in Convalescent Individuals with Asymptomatic or Mild COVID-19. *Cell*. 2020;183(1):158-168.e14.
 73. Zheng M, Gao Y, Wang G, Song G, Liu S, Sun D, et al. Functional exhaustion of antiviral lymphocytes in COVID-19 patients. *Cell Mol Immunol* [Internet]. 2020;17(5):533–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41423-020-0402-2>
 74. Moon C. Fighting COVID-19 exhausts T cells. *Nat Rev Immunol* [Internet]. 2020;20(5):277. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41577-020-0304-7>
 75. Shi Y, Wang Y, Shao C, Huang J, Gan J, Huang X, et al. COVID-19 infection: the perspectives on immune responses. *Cell Death Differ* [Internet]. 2020;27(5):1451–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41418-020-0530-3>
 76. Kim AR, Lee DH, Lee SH, Rubino I, Choi HJ, Quan FS. Protection induced by virus-like particle vaccine containing tandem repeat gene of respiratory syncytial virus G protein. *PLoS One*. 2018;13(1):1–14.
 77. Van Der Merwe PA, Dushek O. Mechanisms for T cell receptor triggering. *Nat Rev Immunol*. 2011;11(1):47–55.
 78. Nilea SH, Nilea A, Qiua J, Lib L, Jiach X, Kaia G. COVID-19: Pathogenesis, cytokine storm and therapeutic potential of interferons. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2020;54(January):66–70.
 79. Wang D, Hu B, Hu C et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 Novel Coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*. 2020;323(11):1061–9.
 80. Wu Z MJ. Characteristics of and important lessons from the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) outbreak in China. *JAMA*. 2020;323(13):1239–42.

81. Yang CL, Qiu X, Zeng YK, Jiang M, Fan HR, Zhang ZM. Coronavirus disease 2019: A clinical review. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2020;24(8):4585–96.
82. T.C. Sağlık Bakanlığı COVID-19 Rehberi. 2020.
83. Temel A, Ateş A, Eraç B. COVID-19 Pandemisinde Mikrobiyolojik Tanı Yöntemleri. *Turk Mikrobiyol Cemiy Derg*. 2021;51(2):99–108.
84. Yan Y, Chang L, Wang L. Laboratory testing of SARS-CoV, MERS-CoV, and SARS-CoV-2 (2019-nCoV): Current status, challenges, and countermeasures. *Rev Med Virol*. 2020;30(3):1–14.
85. Younes N, Al-SAdeq DW, Al-Jighefee H, Younes S, Al-Jamal O, Daas HI, et al. Challenges in Laboratory Diagnosis of the Novel. *Viruses*. 2020;12(6):582.
86. Berber B, Aydin C, Kocabas F, Guney-Esken G, Yilancioglu K, Karadag-Alpaslan M, et al. Gene editing and RNAi approaches for COVID-19 diagnostics and therapeutics. *Gene Ther [Internet]*. 2021;28(6):290–305. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41434-020-00209-7>
87. Kim J, Chung Y, Jun H, Lee N, Seon M, Hee S, et al. Identification of Coronavirus Isolated from a Patient in Korea with COVID-19. *Osong Public Heal Res Perspect*. 2020;11(1):3–7.
88. Prasad J, Yadav R. Laboratory diagnosis of SARS-CoV-2 - A review of current methods. *J Infect Public Heal*. 2020;13(7)(January):901–5.
89. Batırel A. Specific Treatment of COVID-19. *South Clin Istanbul Eurasia*. 2020;31:31–41.
90. Eroğlu E, Balcı H, Baskın V AZ. COVID-19 Tedavisine Yönelik Güncel Farmakolojik Yaklaşımlar Klorokin ve Hidroksiklorokin COVID-19 Tedavisinde Farmakolojik Hedefler. *YIU Sağlık Bil Derg*. 2021;2:1–15.
91. Anka AU, Tahir MI, Abubakar SD, Alsabbagh M, Zian Z, Hamedifar H, et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): An overview of the

- immunopathology, serological diagnosis and management. *Scand J Immunol*. 2021;93(4):1–12.
92. Batirel A. SARS-CoV-2: Ways of Transmission and Methods of Prevention. *South Clin Istanbul Eurasia*. 2020;31:1–7.
 93. Modes of transmission of virus causing COVID- 19: implications for IPC precaution recommendations, World Health Organization (WHO), <https://www.who.int/publicationsdetail/modes-of-transmission-of-virus-causing-covid-19-implications-for-ipc-precaution-reco>.
 94. Erdinç Y. COVID-19 Aşıları. *Türk Aile Hek Derg*. 2020;24(4):227–34.
 95. Anderson RM, Vegvari C, Truscott J CB. Challenges in creating herd immunity to SARS-CoV-2 infection by mass vaccination. *Lancet*. 2020;396(10263):1614–6.
 96. Mahrokhian SH, Nkolola JP, Liu J, Li Z, Chandrashekar A, Martinez DR, et al. DNA vaccine protection against SARS-CoV-2 in rhesus macaques. *Science*. 2020;369(August):806–11.
 97. Dai L, Gao GF. Viral targets for vaccines against COVID-19. *Nat Rev Immunol* [Internet]. 2020;December(18):1–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41577-020-00480-0>
 98. Zheng M, Song L. Novel antibody epitopes dominate the antigenicity of spike glycoprotein in SARS-CoV-2 compared to SARS-CoV. *Cell Mol Immunol* [Internet]. 2020;17(5):536–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41423-020-0385-z>
 99. Sariol A, Perlman S. Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID- research that is available on the COVID-19 resource centre - including this for unrestricted research re-use a. *Immunity*. 2020;53(January):248–63.
 100. Yasui F et al. Prior immunization with severe acute respiratory syndrome

- (SARS)-associated coronavirus (SARS-CoV) nucleocapsid protein causes severe pneumonia in mice infected with SARS-CoV. *J Immunol.* 2008;181:6337–6348.
101. Deming D, Sheahan T, Heise M, Yount B, Davis N, Sims A, et al. Vaccine efficacy in senescent mice challenged with recombinant SARS-CoV bearing epidemic and zoonotic spike variants. *PLoS Med.* 2006;3(12):2359–75.
 102. <https://www.elitenicosia.com/sars-cov-2ye-covid-19-karsi-gelistirilen-asilar/>.
 103. Wang M, Jiang S, Wang Y. Recent advances in the production of recombinant subunit vaccines in *Pichia pastoris*. *Bioengineered* [Internet]. 2016;7(3):155–65. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/21655979.2016.1191707>
 104. Forni G, Mantovani A, Forni G, Mantovani A, Moretta L, Rappuoli R, et al. COVID-19 vaccines: where we stand and challenges ahead. *Cell Death Differ.* 2021;28(2):626–39.
 105. Kahraman E P AM. COVID-19 Aşıları ; Pandemide Sona Doğru? *J Biotechnol Strateg Heal Res.* 2020;4(3):240–9.
 106. Ndwandwe D, Wiysonge CS. COVID-19 vaccines. *Curr Opin Immunol.* 2021;71(January):111–6.
 107. PipelineReview . Clover Initiates Development of Recombinant Subunit-Trimer Vaccine for Wuhan Coronavirus (2019- nCoV). 2020.
 108. Hodgson J. The pandemic pipeline. *Nat Biotechnol News* 2020. <https://www.nature.com/articles/d41587-020-00005-z>.
 109. Syomin B V, Ilyin Y V. Virus-Like Particles as an Instrument of Vaccine Production. *Mol Biol.* 2019;53(3):323–34.
 110. Ho Y, Lin P - H, Liu CY, Lee S - P CY- C. Assembly of human severe acute respiratory syndrome coronavirus- like particles. *Biochem Biophys Res Comm.* 2004;318:833–8.
 111. COVID-19 Aşı Geliştirme Çalışmaları Raporu. Türkiye Halk Sağlığı ve Kron

Hast Enstitüsü. 2020;

112. Balaban BG, Tanyerİ Y, Tokyay BK, İslambey S, Balaban BG, Tanyerİ Y. SARS-CoV-2' ye Karşı Geliştirilen Aşılar ve Üretim Metotları. Türkiye Sağlık Enstitüleri Başkanlığı Derg. 2021;1:14–32.
113. Sesardic D. Synthetic peptide vaccines. J Med Microbiol. 1993;39:241–2.
114. Zhang H, Hong H LD et al. Comparing Pooled Peptides with Intact Protein for Accessing Cross-presentation Pathways for Protective CD8 \square and CD4 \square . J Biol Chem. 2009;284(14):9184–91.
115. Purcell AW, Mccluskey J, Rossjohn J. More than one reason to rethink the use of peptides in vaccine design. Nat Rev Drug Discov. 2007;6(May):404–14.
116. Kaya O. COVID-19 Aşıları. SDÜ Tıp Fakültesi Derg. 2021;31–5.
117. Pavel STI, Yetiskin H, Uygut MA, Aslan AF, Aydın G, İnan Ö, et al. Development of an Inactivated Vaccine against SARS CoV-2. Vaccines. 2021;9(11):1266.
118. Yong CY, Ong HK, Yeap SK, Ho KL, Tan WS. Recent advances in the vaccine development against middle east respiratory syndrome-coronavirus. Front Microbiol. 2019;10(August):1–18.
119. BioSpace . Codagenix and Serum Institute of India Initiate Co- Development of a Scalable, Live- Attenuated Vaccine Against the 2019 Novel Coronavirus, COVID- 19. BioSpace, 2020.
<https://www.biospace.com/article/releases/codagenix- and- serum- institute- of- india- initiate- c>.
120. William SM Wold KT. Adenovirus vectors for gene therapy. Curr Gene Ther. 2013;13(6):421–33.
121. Ferraro B, Morrow MP, Hutnick NA, Shin TH, Lucke CE, Weiner DB. Clinical applications of DNA vaccines: Current progress. Clin Infect Dis. 2011;53(3):296–302.

122. Moura M, Marçal G, Garcia S, Mendonça M. DNA vaccines against COVID-19: Perspectives and challenges. *Life Sci.* 2021;267(2).
123. Vogel AB, Lambert L, Kinnear E, Busse D, Erbar S, Reuter KC, et al. Self-Amplifying RNA Vaccines Give Equivalent Protection against Influenza to mRNA Vaccines but at Much Lower Doses. *Mol Ther* [Internet]. 2018;26(2):446–55. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2017.11.017>
124. Ebinger JE, Fert-Bober J, Printsev I, Wu M, Sun N, Prostko JC, et al. Antibody responses to the BNT162b2 mRNA vaccine in individuals previously infected with SARS-CoV-2. *Nat Med* [Internet]. 2021;27(6):981–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41591-021-01325-6>
125. Predecki M, Clarke C, Brown J et al. Effect of previous SARSCoV- 2 infection on humoral and T-cell responses to single-dose BNT162b2 vaccine. *Lancet.* 2021;397(January):1178–81.
126. Blain H, Tuailon E, Gamon L et al. Tek Bir BNT162b2 Aşı Dozundan 3 Hafta Sonra Daha Önce COVID-19 Olan veya Olmadan Huzurevi Sakinlerinin Spike Antikor Düzeyleri. *JAMA.* 2021;325(18):1898–9.
127. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Establishing and Verifying an Extended Measuring Interval Through Specimen Dilution and Spiking. 1st ed. CLSI Guideline EP34. Wayne, PA: CLSI. 2018.
128. Mavi D. İAÇ. COVID-19: İmmün Patogenez. *Flora.* 2020;25:1–11.
129. Velipaşaoğlu S. Aşı immünitesi ve yanıtını etkileyen faktörler. *Osmangazi J Med.* 2020;1–5.
130. Kazak A, Hintistan S ÖB. Dünyada ve Türkiye’de COVID-19 Aşı Geliştirme Çalışmaları. *CBU-SBED.* 2020;7(4):571–5.
131. Vural S, Hacıbekiroğlu M, Yıldız FR, Vural P. Pandemide COVID-19 geçirmiş ve geçirmemiş bir grup sağlık çalışanında aşı sonrası gelişen immünolojik cevap. *ANKEM Derg.* 2021;35(2):45–52.

132. Kılıç SG, Dolapçı İ. Aşıların Tarihçesi ve Yeni Aşı Stratejileri. *J Ankara Univ Fac Med.* 2021;74(1):1–10.
133. Anderson EJ, Roupael NG, Widge AT, Jackson LA, Roberts PC, Makhene M, et al. Safety and Immunogenicity of SARS-CoV-2 mRNA-1273 Vaccine in Older Adults. *N Engl J Med.* 2020;383(25):2427–38.
134. Vaksdal HH, Grødeland G. Hvor effektive er covid-19-vaksinene hos eldre? *Tidsskr Nor Laegeforen.* 2021;141(18).
135. Collier DA, Ferreira IATM, Kotagiri P, Datir RP, Lim EY, Touizer E, et al. Age-related immune response heterogeneity to SARS-CoV-2 vaccine BNT162b2. *Nature.* 2021;596(7872):417–22.
136. COVID-19 Salgını Sırasında Rutin Bağışıklama Hizmetleri Rehberi - Yeni Koronavirüs Hastalığı 2019 [Internet]. [cited 2021 Apr 23]. Available from: <https://korona.hasuder.org.tr/2460-2/>.
137. Karamese M, Tutuncu EE. The effectiveness of inactivated SARS-CoV-2 vaccine (CoronaVac) on antibody response in participants aged 65 years and older. *J Med Virol.* 2022;94(1):173–7.
138. Grupper A, Sharon N, Finn T, Cohen R et al. Humoral Response to the Pfizer BNT162b2 Vaccine in Patients Undergoing Maintenance Hemodialysis. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2021;16(7):1037–42.
139. Choi WS, Cheong HJ. COVID-19 vaccination for people with comorbidities. *Infect Chemother.* 2021;53(1):155–8.
140. Powers AC, Aronoff DM, Eckel RH. COVID-19 vaccine prioritisation for type 1 and type 2 diabetes. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2021;9(3):140–1.
141. Stefan N, Birkenfeld AL, Schulze MB. Global pandemics interconnected- obesity, impaired metabolic health and COVID-19. *Nat Rev Endocrinol* [Internet]. 2021;17(3):135–49. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41574-020-00462-1>

142. Campbell J, Sutherland J, Bucknall D, O'hara L, Heywood A, Hobbs M, et al. Equity in vaccine trials for higher weight people? A rapid review of weight-related inclusion and exclusion criteria for COVID-19 clinical trials. *Vaccines*. 2021;9(12):1–11.
143. Zimmermann P, Curtis N. Factors that influence the immune response to vaccination. *Clin Microbiol Rev*. 2019;32(2):1–50.
144. Butsch WS, Hajduk A, Cardel MI, Donahoo WT, Kyle TK, Stanford FC, et al. COVID-19 vaccines are effective in people with obesity: A position statement from The Obesity Society. *Obesity*. 2021;29(10):1575–9.
145. Ranzani OT, Hitchings MDT, Dorion M, D'Agostini TL, De Paula RC, De Paula OFP, et al. Effectiveness of the CoronaVac vaccine in older adults during a gamma variant associated epidemic of covid-19 in Brazil: Test negative case-control study. *BMJ*. 2021;374.
146. Haberman RH, Herati RS, Simon D, Samanovic M, Blank RB, Tuen M, et al. Methotrexate hampers immunogenicity to BNT162B2 mRNA covid-19 vaccine in immune-mediated inflammatory disease. *Ann Rheum Dis*. 2021;80(10):1339–44.
147. Seyahi E, Bakhdiyarli G, Oztas M, Kuskucu MA, Tok Y, Sut N, et al. Antibody response to inactivated COVID-19 vaccine (CoronaVac) in immune-mediated diseases: a controlled study among hospital workers and elderly. *Rheumatol Int [Internet]*. 2021;41(8):1429–40. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00296-021-04910-7>
148. Geisen UM, Berner DK, Tran F, Sumbul M, Vullriede L, Ciripoi M, et al. Immunogenicity and safety of anti-SARS-CoV-2 mRNA vaccines in patients with chronic inflammatory conditions and immunosuppressive therapy in a monocentric cohort. *Ann Rheum Dis*. 2021;80(10):1306–11.
149. Notarte KI, Ver AT, Velasco JV, Pastrana A, Catahay JA, Salvagno GL, et al. Effects of Age, Sex, Serostatus and Underlying Comorbidities on Humoral Response Post-SARS-CoV-2 Pfizer-BioNTech Vaccination – A Systematic

Review. medRxiv. 2021;13.

150. Shakoor H, Feehan J, Al AS, Ali HI, Platat C, Cheikh L, et al. Immune-boosting role of vitamins D, C, E, zinc, selenium and omega-3 fatty acids: Could they help against COVID-19? *Matur J.* 2021;143(January):1–9.
151. Jeffery LE, Burke F, Mura M, Zheng Y, Qureshi OS, Hewison M, et al. 1,25-dihydroxyvitamin D3 and interleukin-2 combine to inhibit T cell production of inflammatory cytokines and promote development of regulatory T cells expressing CTLA-4 and FoxP3. *J Immunol.* 2009;183(9):5458–67.
152. Calder PC. Nutrition, immunity and COVID-19. *BMJ Nutr Prev Heal.* 2020;3(1):74–92.
153. Meydani S N., Meydani M., Blumberg J B. et al. Vitamin E supplementation and in vivo immune response in healthy elderly subjects. A randomized controlled trial. *JAMA.* 1997;277(17):1380–6.
154. Lee MD, Lin CH, Lei W Te, Chang HY, Lee HC, Yeung CY, et al. Does vitamin D deficiency affect the immunogenic responses to influenza vaccination? A systematic review and meta-analysis. *Nutrients.* 2018;10(4):1–12.
155. Akdeniz N. Deniz G. Yeni Coronavirus (COVID-19) Hastalığında İmmün Yanıt. In: COVID-19: Moleküler ve Klinik Yaklaşım. 2020. p. CHAPTER 26.
156. Jordan SC. Innate and adaptive immune responses to SARS-CoV-2 in humans: relevance to acquired immunity and vaccine responses. *Clin Exp Immunol.* 2021;204(3):310–20.
157. Şenol Akar Ş, Akçali S, Özkaya Y, Gezginci FM, CengiZ Özyurt B, Deniz G, et al. Sağlık Çalışanlarında İnaktif SARS-CoV-2 Aşılması Sonrası Yan Etkiler, Serokonversiyon Oranları ve Antikor Yanıtını Etkileyen Faktörler. *Mikrobiyoloji Bul.* 2021;55(4):519–38.
158. Blain H, Tuailon E, Gamon L et al. Spike Antibody Levels of Nursing Home Residents With or Without Prior COVID-19 3 Weeks After a Single

- BNT162b2 Vaccine Dose. JAMA. 2021;325(18):1898–9.
159. Davarcı İ, Eryıldız C, Gürcañ Ş. Sağlık Çalışanlarında İnaktive SARS-CoV-2 Aşısı ile Aşılama Sonrası Antikor Yanıtının Değerlendirilmesi. Flora. 2021;26(2):338–43.
160. Yalçın TY, Topçu D, Doğan Ö, Aydın S, Sarı N, Erol Ç, et al. Immunogenicity after two doses of inactivated virus vaccine in healthcare workers with and without previous COVID-19 infection: Prospective observational study. J Med Virol. 2022;94(1):279–86.
161. Tanriover M D., Doğanay H L., Akova M., Güner H R. AA et al. Efficacy and safety of an inactivated whole-virion SARS-CoV-2 vaccine (CoronaVac): interim results of a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial in Turkey. Lancet. 2021;398:213–22.
162. Bayram A, Demirbakan H, Günel Karadeniz P, Erdoğan M, Koçer I. Quantitation of antibodies against SARS-CoV-2 spike protein after two doses of CoronaVac in healthcare workers. J Med Virol. 2021;93(9):5560–7.
163. Uysal EB, Gümüş S, Bektöre B, Bozkurt H, Gözalan A. Evaluation of antibody response after COVID-19 vaccination of healthcare workers. J Med Virol. 2022;94(3):1060–6.
164. Binay UD, Karakeçili F, Barkay O, Gül O MC. Level of SARS-CoV-2 IgG antibodies after two doses CoronaVac vaccine: Primarily report. J Antivir Antiretrovir. 2021;13:18.
165. Mok CKP, Cohen CA, Cheng SMS, Chen C, Kwok KO, Yiu K et al. Comparison of the immunogenicity of BNT162b2 and CoronaVac COVID-19 Vaccines in Hong Kong. Respirology. 2021;Nov(24).
166. Sauré D, O’Ryan M, Torres JP, Zuniga M, Santelices E BL. Dynamic IgG seropositivity after rollout of CoronaVac and BNT162b2 COVID-19 vaccines in Chile: a sentinel surveillance study. Lancet Infect Dis. 2022;22(1):56–63.
167. Polack FP, Thomas SJ, Kitchin N, Absalon J, Gurtman A, Lockhart S, et al.

Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. *N Engl J Med.* 2020;383(27):2603–15.

168. Subbarao S, Warrener LA, Hoschler K, Perry KL et al. Robust antibody responses in 70-80-year-olds 3 weeks after the first or second doses of Pfizer/BioNTech COVID-19 vaccine, United Kingdom, January to February 2021. *Euro Surveill* [Internet]. 2021;26(12):1–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2021.26.12.2100329>
169. Hellerstein M. What are the roles of antibodies versus a durable, high quality T-cell response in protective immunity against SARS-CoV-2? *Vaccine X* [Internet]. 2020;6:100076. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jvacx.2020.100076>
170. Murugesan K, Jagannathan P, Pham TD, Pandey S, Bonilla HF, Jacobson K et al. Interferon- γ Release Assay for Accurate Detection of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 T-Cell Response. *Clin Infect Dis.* 2021;73(9):E3130–2.
171. Huzly D, Panning M, Smely F, Enders M, Komp J. Accuracy and real life performance of a novel interferon- γ release assay for the detection of SARS-CoV-2 specific T cell response. *J Clin Virol.* 2022;3:1–8.
172. Jaganathan S, Stieber F, Rao SN, Nikolayevskyy V, Manissero D, Allen N, et al. Preliminary Evaluation of QuantiFERON SARS-CoV-2 and QIAreach Anti-SARS-CoV-2 Total Test in Recently Vaccinated Individuals. *Infect Dis Ther* [Internet]. 2021;10(4):2765–76. Available from: <https://doi.org/10.1007/s40121-021-00521-8>
173. Martínez-Gallo M, Esperalba J., Sandá V. et al. Commercialized kits to assess T-cell responses against SARS-CoV-2 S peptides. A pilot study in health care workers. *Med Clin (Barc)* 2021. 2021;Sep:25.
174. Khoury DS, Cromer D, Reynaldi A, Schlub TE, Wheatley AK, Juno JA, et al. Neutralizing antibody levels are highly predictive of immune protection from symptomatic SARS-CoV-2 infection. *Nat Med* [Internet]. 2021;27(7):1205–

11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41591-021-01377-8>
175. Sahin U, Muik A, Derhovanessian E et al. BNT162b2 induces SARS-CoV-2-neutralising antibodies and T cells in humans. *Nature*. 2021;July(595):572–7.
176. Kurteva E, Vasilev G, Tumangelova-Yuzeir K, Ivanova I, Ivanova-Todorova E, Velikova T, et al. Interferon-gamma release assays outcomes in healthy subjects following BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccination. *Rheumatol Int* [Internet]. 2022; Available from: <https://doi.org/10.1007/s00296-022-05091-7>
177. Geers D, Shamier MC, Bogers S, den Hartog G, Gommers L, Nieuwkoop NN, Schmitz KS et al. SARS-CoV-2 variants of concern partially escape humoral but not T-cell responses in COVID-19 convalescent donors and vaccinees. *Sci Immunol*. 2021;25(6):59.
178. Kalimuddin S, Tham CY, Qui M, de Alwis R, Sim JX, Lim JM et al. Early T cell and binding antibody responses are associated with COVID-19 RNA vaccine efficacy onset. *Med*. 2021;2(6):682–8.
179. Sahin U, Muik A, Vogler I, Derhovanessian E, Kranz LM, Vormehr M, et al. BNT162b2 vaccine induces neutralizing antibodies and poly-specific T cells in humans. *Nature* [Internet]. 2021;595(7868):572–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41586-021-03653-6>
180. Bange EM, Han NA, Wileyto P, et al. CD8+ T cells contribute to survival in COVID-19 patients with hematologic cancers. *Nat Med*. 2021;27(7):1280–9.

8. EKLER

EK-1

COVID-19 aşı antikor çalışması, beslenme anketi

Bu anket Covid-19 aşısı olan kişilerdeki antikor ve interferon gama düzeyini araştıran çalışma için oluşturulmuştur. Toplanan veriler sadece çalışma için kullanılacaktır. Bilgileriniz 3. kişilerle paylaşılmayacaktır. Çalışma için Sağlık Bakanlığı'ndan izin alınmıştır. Araştırmaya katıldığınız için teşekkür ederiz.(Araştırma ekibi adına Dr. BETÜL DÖNMEZ)

İsim-soy isim: Cinsiyet: Mesleğiniz: Yaşınız: Boyunuz(cm): Kilo:

1) Kendiniz Covid-19 geçirdiniz mi?

1. Evet -aşı olmadan önce
2. Evet -aşidan sonra, antikor çalışması için kan vermeden önce
3. Evet-aşidan sonra, antikor çalışması için kan verdikten sonra
4. Hayır

2) Covid-19 + olduğunuz dönemi nasıl geçirdiniz?

- 1.Evde hafif bir şekilde
- 2.Hastanede serviste yatarak
- 3.Yoğun bakımda yatarak

3) Aile içi Covid-19 teması oldu mu?

1. Evet-aşı olmadan önce
2. Evet-aşı olduktan sonra, antikor çalışması için kan vermeden önce
3. Evet- aşı olduktan sonra, antikor çalışması için kan verdikten sonra
4. Hayır

4) Kronik bir hastalığınız var mı?

- a) Hayır b) Diyabet c) Hipertansiyon d) Aterosklerotik kalp hastalığı
e)Tiroid bozuklukları f) Diğer:

5) Probiyotik ve prebiyotikleri haftada kaç kez tüketiyorsunuz?

Ev Yoğurdu	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Ev Kefiri	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Peynir	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Ayran	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Hazır Yoğurt	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Hazır Kefir	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14

Turşu	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Tarhana	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Sirke	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Şalgam	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Sarımsak	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Soğan	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Muz	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Elma	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Lahana	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Mevsim Yeşil Sebzeleri	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Mevsim Sarı Sebzeleri	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14

6) Karbonhidratları haftada kaç kez tüketiyorsunuz?

Makarna	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Patates	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Ekşi Mayalı Ekmek	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Beyaz Ekmek	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Tam Tahıllı Ekmek	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Pirinç	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Bulgur	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Ambalajlı Gıdalar(Bisküvi Vs.)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Bal, Reçel	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Hamur Tatlıları	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Gazlı İçecekler	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Hazır Meyve Suları	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14

7) Haftada kaç kez fast food ile besleniyorsunuz?

Pizza	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Hamburger	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Tost	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Dürüm/Döner	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14

8) Aşağıdaki besinleri haftada ne sıklıkla tüketiyorsunuz?

Tereyağı	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Zeytinyağı	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Yumurta	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14

9) Aşağıdaki suplementlerden düzenli kullandıklarınızı işaretleyiniz

D vitamini b) B12 vitamini c) C vitamini d) Balık yağı