

Hastaneye Yatan SARS-CoV-2 Enfeksiyonlu Bir Grup Hastanın Anti-Spike-1 Antikor Yanıtlarının Boylamsal Değerlendirilmesi

Longitudinal Assessment of Anti-Spike-1 antibody Responses in a Group of Hospitalized Patients with SARS-CoV-2 Infection

Murat ÖZDEDE¹(ID), Oğuz Abdullah UYAROĞLU¹(ID), Mine DURUSU TANRIÖVER¹(ID), Gülay SAIN GÜVEN¹(ID), Burçin ŞENER²(ID), Pınar ZARAKOLU³(ID)

¹ Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Genel Dahiliye Bilim Dalı, Ankara.

¹ Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Division of General Internal Medicine, Ankara, Turkey.

² Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

² Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Ankara, Turkey.

³ Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

³ Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Ankara, Turkey.

Makale Atfı: Özdede M, Uyaroğlu OA, Durusu Tanrıöver M, Sain Güven G, Şener B, Zarakolu P. Hastaneye yatan SARS-CoV-2 enfeksiyonlu bir grup hastanın anti-spike-1 antikor yanıtlarının boylamsal değerlendirilmesi. Mikrobiyol Bul 2022;56(3):553-565.

ÖZ

Koronavirüs hastalığı-2019 (COVID-19), aşılama programlarına ve sağlık sistemlerine erişimi kısıtlı olanlar başta olmak üzere küresel çapta bir ölüm/sakatlık nedeni olmuştur. Yeni varyantların ortaya çıkması ve daha önce COVID-19 geçiren bireylerde bağışıklığının zamanla düşmesi nedeni ile tekrarlayan enfeksiyon riski ihmal edilebilir düzeyde değildir. Bu çalışmada, COVID-19 nedeniyle hastaneye yatmış ve hastalığının ilk dönemlerinde antikor yanıtı olan hastaların antikor seviyelerindeki değişimi boylamsal olarak göstermek ve antikor yanıtlarının zamanla azaldığı ya da sürdüğü hastaları öngörmede yardımcı olacak bir yanıt paterni ortaya koymak amaçlanmıştır. Bu gözlemsel ve tek merkezli çalışmaya servislere kabul edilmiş kritik olmayan 38 hasta dahil edilmiştir. Her bir hastadan farklı zaman dilimlerinde alınan iki farklı örnekte “enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)” yöntemi ile anti-spike-1 IgG seviyeleri çalışılmıştır. Çalışmada iki farklı anti-spike-1 IgG antikor yanıt paterni saptanmıştır; birinci patern başta düşük seviyede antikor üretimi olanların ortalama altı ay sonra antikor seviyelerinin yükselmesi, ikinci patern ise başta yüksek antikor seviyelerinin ortalama altı ay sonra düşmesi şeklindedir. Bu paradoksal kinetik, hekimlerin antikor yanıt öngörülerini bulanıklaştırabilir. Genel olarak anti-spike-1 antikor oranları altı ay sonra ılımlı bir düşüş gösterse de üretimin sürdüğü görülmektedir (ortalama $\Delta \lg G = -0.77$; $\sigma = 4$; $p = 0.24$). Eşlik eden bakteriyel pnömonisi (ortalama yatış $\lg G = 7.67$; $\sigma = 3.54$) olan hastalarda başlangıçta daha yüksek antikor oranları gözlenmiştir ($p = 0.03$). Hastalığı geçiren bireylerde şiddetli akut solunum yolu sendromu koronavirüs-2 (SARS-CoV-2) S1-IgG üretimi başlangıçtaki ölçümlere göre ılımlı derecede azalmış olsa da altı ay sonra hala devam etmektedir. İlk bakıldığında nispeten düşük IgG endeks değerleri olan bireylerde ortalama 180 gün sonra kontrol edildiğinde IgG yanıtları artmakta ya da sabit kalırken, yüksek IgG endeks değerleri olan bireylerde IgG azalma eğilimindedir.

Anahtar kelimeler: SARS-CoV-2; COVID-19; elisa; antikor; anti-spike-1.

İletişim (Correspondence): Dr. Murat Özdede, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Genel Dahiliye Bilim Dalı, Ankara. **Tel (Phone):** + (90) (312) 305 30 29, **E-posta (E-mail):** muratozdede@hacettepe.edu.tr

ABSTRACT

The coronavirus disease-2019 (COVID-19) has become a global cause of death/injury, particularly for those with limited access to vaccination programs and healthcare systems. The risk of re-infection is not negligible due to the emergence of new variants and the decrease in immunity of those who have recovered COVID-19 before. In this study, it was aimed to show longitudinally the change in antibody levels of patients hospitalized for COVID-19 who had an antibody response in the early stages of their infection and to reveal a response pattern that would help to predict patients whose antibody responses decreased or persisted over time. This observational, single-center study included 38 non-critical patients admitted to COVID-19 wards. Anti-spike-1 IgG levels were investigated by the "enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)" method in two different samples taken at different times in each patient. Two distinct anti-spike-1 IgG antibody response patterns were detected in the study; the first pattern was that with low antibody production at first who had an increase in antibody levels after an average of six months, and the second pattern was that the initially high antibody levels decreased after an average of six months. This paradoxical kinetic may blur physicians' predictions of antibody response. In general, anti-spike-1 antibody levels showed a moderate decrease after six months, but production seems to continue (mean $\Delta\text{IgG} = -0.77$; $\sigma = 4$; $p = 0.24$). Higher antibody levels were observed at the beginning in patients with concomitant bacterial pneumonia (mean initial $\text{IgG} = 7.67$; $\sigma = 3.54$) ($p = 0.03$). Although the production of S1-IgG in patients recovered from severe acute respiratory system coronavirus2 (SARS-CoV-2) was modestly reduced compared to the beginning measurements, the production in general persisted during the study period. It appears that IgG responses increase or remain constant in individuals with relatively low IgG index values when controlled after an average of 180 days, while IgG tends to decrease in individuals with high IgG index values.

Keywords: SARS-CoV-2; COVID-19; ELISA, antibody; anti-spike-1.

GİRİŞ

Şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs-2 (SARS-CoV-2)'nin neden olduğu koronavirüs hastalığı 2019 (COVID-19) pandemisi üçüncü yılına girerken; ülkelerin sağlık politikalarındaki farklılıklar, aşılama programlarındaki eksiklikler ve bulaşıcılığı yüksek varyantların artması nedeniyle vaka hızında dalgalanmalar görülmektedir¹. Aşılanmış ya da hastalık sonrası bağışık yanıt gelişmiş kişilerin yeni varyantlarla enfekte olma ve hastalık geçirme olasılığı konusunda tamamiyle korunduklarını söylemek mümkün değildir^{2,3}. Bu nedenle, özellikle SARS-CoV-2 enfeksiyonu ile ilişkili hücrel ve humoral bağışıklık mekanizmalarını, oluşan bağışıklığın koruyuculuğunu ve koruyuculuk süresini anlamak büyük önem taşımaktadır.

SARS-CoV-2 ile enfekte olduktan sonra kanda antikorlar genellikle bir iki hafta içinde serolojik olarak ölçülebilir düzeye gelmeye ve yaklaşık bir ay sonra da pik seviyelere ulaşmaya başlar^{4,5}. Enfeksiyon sonrası gelişen humoral bağışıklık ve ilişkili etkenler konusunda birçok bilgi edinilmiş olmasına rağmen elde edilen bilgiler fikir birliği oluşturamayacak kadar çok çelişkiler içermektedir ancak geline ortak nokta nötralizan antikorların zamanla seviyesinin düştüğü yönündedir⁶⁻¹⁰.

Bu çalışmada, COVID-19 nedeniyle hastaneye yatmış ve hastalığının ilk dönemlerinde antikor yanıtı olan hastaların antikor seviyelerindeki değişimi boylamsal olarak göstermek ve antikor yanıtlarının zamanla azaldığı ya da sürdüğü hastaları öngörmede yardımcı olacak bir yanıt paterninin ortaya koyulması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Hastalar

15.03.2020 ile 15.05.2020 tarihleri arasında çalışmanın yapıldığı hastanenin yataklı servislerinde COVID-19 pnömonisi nedeniyle yatırılan ve nazal/orofarengeal sürüntü örneklerinde revers transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) tekniği ile SARS-CoV-2 pozitif sonuç alınan hastalar değerlendirmeye alındı. Bu hasta grubundan radyolojik verisi olmayan, klinik verileri eksik ya da çelişkili bulunan (n= 21), yatışında SARS-CoV-2 hızlı antikor test kiti (COVID-19 IgM/IgG Antibody Test, Beijing Hotgen Biotech, Çin Halk Cumhuriyeti) uygulanmayan (n= 62), başvurusunda alınan serum örneği olmayan (n= 7), telefonla ulaşılamayan veya evde hayatını kaybetmiş (n= 34) ve kontrollere gelmediğinden kontrol serum örneği alınamayan (n= 26) ve çalışmaya dahil olmak istemeyen (n= 17) hastalar çalışmadan çıkarıldı. Çalışma protokolü Şekil 1’de gösterilmiştir.

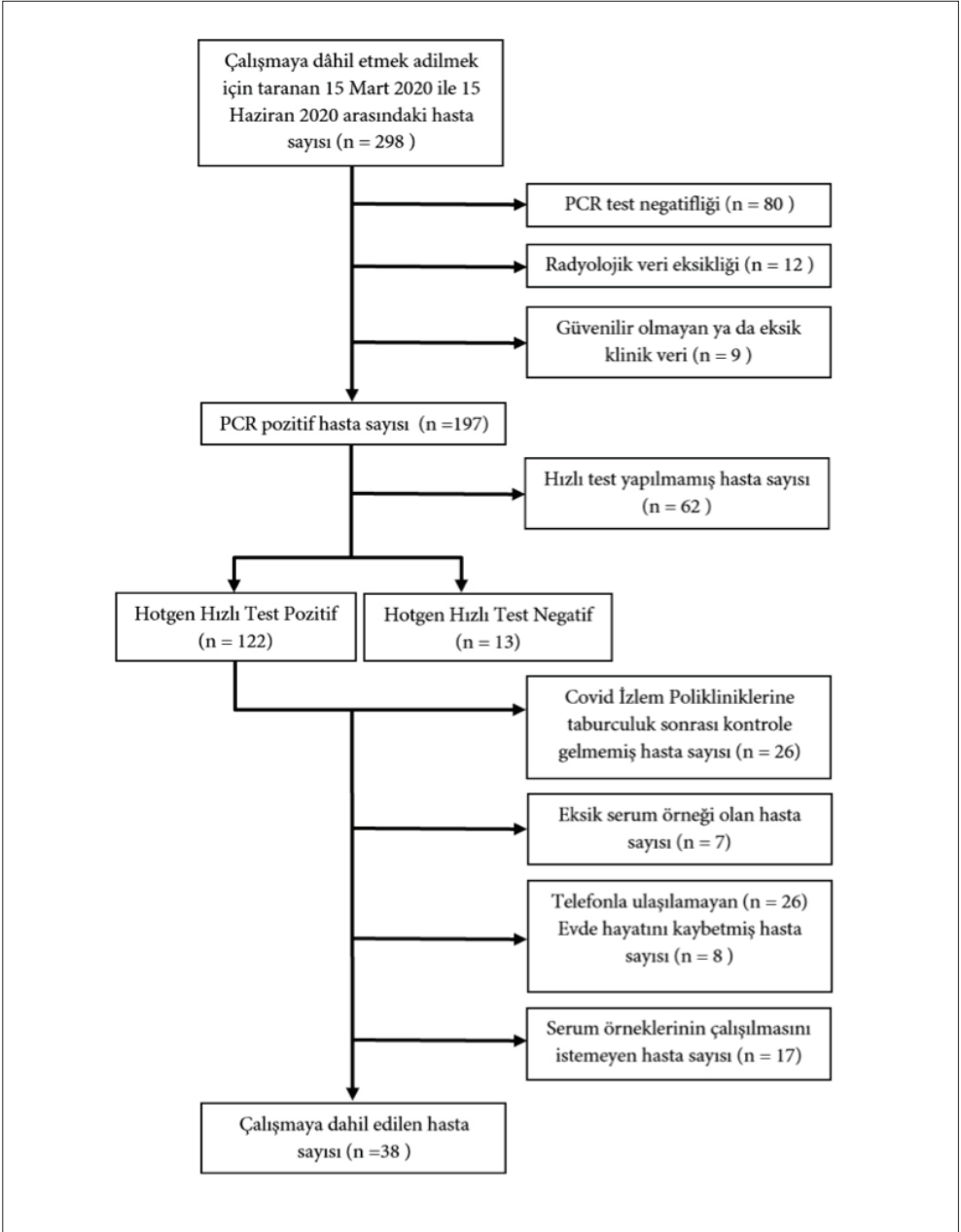
Hastalık şiddetine Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) COVID-19 Yönetimi Kılavuzuna göre karar verildi ve hastalar “hafif şiddetli” ve “orta-ağır şiddetli” olmak üzere iki gruba ayrıldı¹¹. Hastalık şiddeti değerlendirmesi ve bilgisayarlı tomografi ile radyolojik değerlendirilmesi hastanın COVID-19 polikliniğine ya da acil polikliniğe başvurusunda ya da yatışın ilk gününde yapıldı. Kuzey Amerika Radyoloji Cemiyeti (RSNA), Amerikan Radyoloji Okulu (ACR) ve Göğüs Radyoloji Cemiyeti (STR)’nin ortak olarak hazırladığı uzlaşi raporunda belirtilen sınıflandırmaya uygun olarak hastaların radyolojik parametreleri kaydedildi¹². Hastaların başvurusundaki yakınmaları, yatışın ilk günündeki bulgu ve belirtileri, kan laboratuvar testleri (tam kan sayımı, koagülasyon ve biyokimya parametreleri, akut faz reaktanları), başlanan tedavi içerikleri, hastanın bilinen komorbiditeleri, bilinen ya da şüpheli temas durumu, yatışı sırasında destek oksijen ihtiyacı varlığı, eşlik eden ve teyit edilmiş bakteriyel enfeksiyonlar, antibiyotik kullanımı, kortikosteroid kullanımı, takiplerinde yoğun bakım ihtiyacı varlığı ve demografik veriler elektronik veri tabanından alınarak kaydedildi.

“Enzyme Linked Immunsorbent Assay (ELISA)” Protokolü

Hastalardan alınan iki ayrı dönemdeki plazma örnekleri etilendiamin-tetraasetatlı (EDTA) tüplerde -80°C’de saklandı ve ölçümler toplu olarak aynı zamanda yapıldı. Tüm ölçümler semikantitatif, rekombinant spike-1 proteini hedef olarak kullanan anti-S1-IgG ELISA testi (Euroimmun, Lübeck, Almanya) ile manuel olarak gerçekleştirildi. Üretici firmanın talimatlarına göre, elde olan sonuçlar kalibratör sonucuna oranlandı; IgG endeksi ≥ 1.1 üzeri olan örnekler ‘pozitif’, 0.9 ve 1.1 arasındaki değerler ise ‘sınırdı’ şeklinde kabul edildi.

İstatistiksel Analiz

Hastaların birinci ve ikinci ölçümlerinden elde edilen antikor oranları arasındaki farklar sayısal olarak kaydedildi. Sayısal değişkenlerde tanımlayıcı istatistik normal dağılım varsayımlarına göre ortanca-çeyrekler arası aralık ya da ortalama-standart sapma kul-



Şekil 1. Çalışma akış şeması.

lanılarak yapıldı. Ölçümlerin gruplara göre fark değerlendirilmesi bağımsız örneklem t-testi kullanılarak gerçekleştirildi. Bireylerin birinci ve ikinci serum örneklerindeki oranların değişimini incelemek için paylaşılmış örneklem t-testi yapılmış olup, zamana göre dağılımının illüstrasyonu için serpm diyagramı, iki farklı zamanda alınan örneklerin tanımlayıcı parametrelerinin görsel kıyası için kutu grafiği tercih edildi. Tüm istatistiksel analiz ve serpm diyagramları *Statistical Programme for Social Sciences* (SPSS) 22 ve *Microsoft Office Professional Excel* kullanılarak yapıldı.

BULGULAR

Çalışma kapsamında toplam 38 hasta değerlendirilmiştir. Her hasta başına iki serum örneği kullanılmıştır. Çalışılan “ilk” serum örneği hastalık dönemine, “ikinci” örnek nekahat dönemine ait olacak şekilde çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmada ortalama yaş 47 olup (çeyrekler arası aralık 22), çalışma nüfusunun %44.7’si kadın olarak tespit edilmiştir (Tablo I). En sık komorbidite hipertansiyon olup (n= 7; %19.4), en sık başvuru belirtisi ateş (n= 28; %77.8) olarak tespit edilmiştir. Hastaların 15 (% 41.7)’i bulaş odağını tarif etmiştir. Hastaların %18.9’unda COVID-19’a eşlik eden balgam veya solunum yolu örnekleri ile teyit edilmiş bakteriyel pnömoni saptanmış ve bu hastaların yatış sonrası 7 (%18.9)’sinde yoğun bakım ihtiyacı ortaya çıkmıştır. Hastaların akciğer tomografi sonuçlarının değerlendirilmesinde en yaygın rastlanan görüntü buzlu-cam görünümü (n= 32) olup, 22 (%59.5)’sinde radyolojik olarak tipik COVID-19 pnömonisi ile uyumlu bilateral ve multilobüler tutulum saptanmıştır. Ortalama yatış süresi 13 gün (çeyrekler arası aralık 25.5) olarak belirlenmiştir.

Çalışmaya dahil edilen hastaların hastalık döneminde (ilk klinik örnek) bakılan IgG endeksi ortalaması 5.13 ($\sigma= 3.5$) olarak hesaplanmıştır. Hastaların ilk belirtileri ile ELISA testinin çalışılması arasındaki ortalama süre 16 (çeyrekler arası aralık 19.25) gün olarak saptanmıştır. İlk IgG endeksleri 38 hastanın 36’sında 1.1 veya üstünde olup, sadece birinde 0.9 olarak not edilmiş, diğerinde 0.8’in altında ölçülmüştür. Negatif ölçüm yapılan katılımcının yatış anındaki hızlı test sonucu zayıf pozitif olarak kaydedilmiştir.

İlk ELISA testi ile ikincisi arasındaki ortalama süre 196.5 gün olup, minimum süre 120, maksimum süre 250 (çeyrekler arası aralık 52 gün) gün olarak belirlenmiştir. İkinci örneklerin antikor titre ortalaması 4.47 olarak hesaplanmıştır ($\sigma= 2.3$). Rutin bakılan laboratuvar parametreleri ortalama ve standart sapma değerleri kullanılarak Tablo I’de özetlenmiştir.

Klinik özelliklerin ilk ve ikinci IgG sonuçları ve aradaki değişim ile ilişkisi Tablo II’de gösterilmiştir. Demografik özelliklerle ilk IgG değeri arasında ilişki saptanmamıştır. İkinci örneklerde çalışılan IgG endeks değerlerine bakıldığında ise oranların genel olarak ılımlı şekilde düştüğü ancak bu düşüşün istatistiksel olarak anlamlı olmadığı (eşleştirilmiş t-testi $p= 0.241$) saptanmıştır. Şekil 2’ye bakıldığında görsel olarak başlangıçtaki düşük IgG endeks değerlerinin ikinci kontrolde genellikle yükselme eğiliminde olduğu, ortalamaya göre nispeten yüksek değerlerin ise düştüğü ve standart sapmadaki düşüşten de anlaşılacağı üzere ($\sigma_1= 6.85$ vs. $\sigma_2= 4.4$) dağılımın daraldığı gözlenmiştir. Bakteriyel pnömoni-

Tablo 1. Hastaların Temel Klinik ve Demografik Özellikleri

	Toplam	
Yaş (ortanca ve ÇAA*)	47	22
Kadın cinsiyet (sayı ve yüzde)	17	44.7
Komorbiditeler (sayı ve yüzde)		
Diyabet	6	16.7
Hipertansiyon	7	19.4
Koroner arter hastalığı	5	13.9
Tıkalıcı akciğer hastalıkları	2	5.6
Aktif Kanser	3	8.3
Hiç komorbiditesi olmayan	24	63.2
Birden fazla komorbiditesi olan	8	21.1
Başvuru Belirtiler (sayı ve yüzde)		
Ateş	28	77.8
Öksürük	25	69.4
Dispne	12	33.3
Boğaz ağrısı	15	41.7
Balgam	4	10.5
Miyalji	21	58.3
Baş ağrısı	5	13.5
Halsizlik	24	66.7
Koku kaybı	4	10.5
En az dört belirti sayısı olan hastalar	22	57.9
Ortalama belirti sayısı (ortanca ve ÇAA)	4	2
Temas öyküsü (sayı ve yüzde)	15	41.7
Ampirik antibiyotik kullanımı (sayı ve yüzde)	28	73.7
Başvuru anında ya da yatışın ilk gününde oksijen desteğine ihtiyaç duyan hasta sayısı (sayı ve yüzde)	21	55.3
Hastalık şiddeti (sayı ve yüzde)		
Hafif şiddetli	17	44.7
Orta-ağır şiddetli	21	55.3
Yoğun-bakım ihtiyacı (sayı ve yüzde)	12	32.4
Bakteriyel pnömoni (sayı ve yüzde)	7	18.9
Hastanede kalış süresi (gün) (ortanca ve ÇAA)	13	25.5
Belirti gününden birinci antikor oranının çalışıldığı serum örneğinin alındığı güne kadarki süre (gün) (ortanca ve ÇAA)	16	19.25
İki serum örneği arasındaki süre (gün) (ortanca ve ÇAA)	196.5	52
Yatış sırasında alınan örneklerin antikor oranları (ortalama ve σ^{**})	5.26	3.6
Kontrolde alınan örneklerin antikor oranları (ortalama ve σ)	4.5	2.3

Tablo 1. Hastaların Temel Klinik ve Demografik Özellikleri (devamı)

Toplam		
Laboratuvar parametreleri (ortalama ve σ)		
Hemoglobin (gr/dl)	12.9	1.87
Lökosit ($10^3/\mu\text{l}$)	6.380	1.41
Lenfosit ($10^3/\mu\text{l}$)	1.029	0.43
Platelet ($10^3/\mu\text{l}$)	241	21.6
Kan üre azotu (mg/dl)	9.61	1.26
Ferritin ($\mu\text{g/L}$)	84.15	298.85
Kreatinin (mg/dl)	0.67	0.15
C-reaktif protein (mg/dl)	0.82	0.56
Eritrosit sedimentasyon hızı (mm/saat)	29.2	16.02
Prokalsitonin (ng/ml)	0.01	0.013
Fibrinojen (mg/dl)	380.83	105
D-dimer (mg/L)	0.822	0.66
Bilgisayarlı Tomografi Belirtileri (sayı ve yüzde)		
Multilobular	22	59.5
Bilateral tutulum	22	59.5
Lober konsolidasyon	7	18.9
Çizgisel atelektezi	15	40.5
Buzlu-cam görünümü	32	86.5
Retikülasyon	3	8.1
Sentrilobüler tutulum	5	13.5
Bilgisayarlı Tomografi Sonuçları (sayı ve yüzde)		
Tipik	22	59.5
Atipik-Şüpheli	12	32.4
Negatif	3	8.1

*ÇAA: Çeyrekler arası aralık ** σ : Standart sapma.

*ÇAA: Çeyrekler arası aralık ** σ : Standart sapma.

nin eşlik ettiği olguların ikinci örneklerinde çalışılan antikor oranlarının eşlik etmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek kalmaya devam ettiği tespit edilmiştir ($p=0.05$). Eşlik eden bakteriyel pnömoni halinde daha yüksek antikor oranları gösterilmiş ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ($p=0.03$).

TARTIŞMA

Bu çalışmada SARS-CoV-2 ile enfekte olan ve hastane yatışı olan aşısız hastalardaki antikor seviyelerinin değişim paterni ile birlikte demografik ve klinik özelliklerin paterne olan etkisi boylamsal olarak incelenmiştir. Birçok çalışmada gösterildiği üzere SARS-CoV-2'ye verilen antikor yanıtı öngörülebilir olmaktan uzaktır ancak tanı anında ya da sonra-

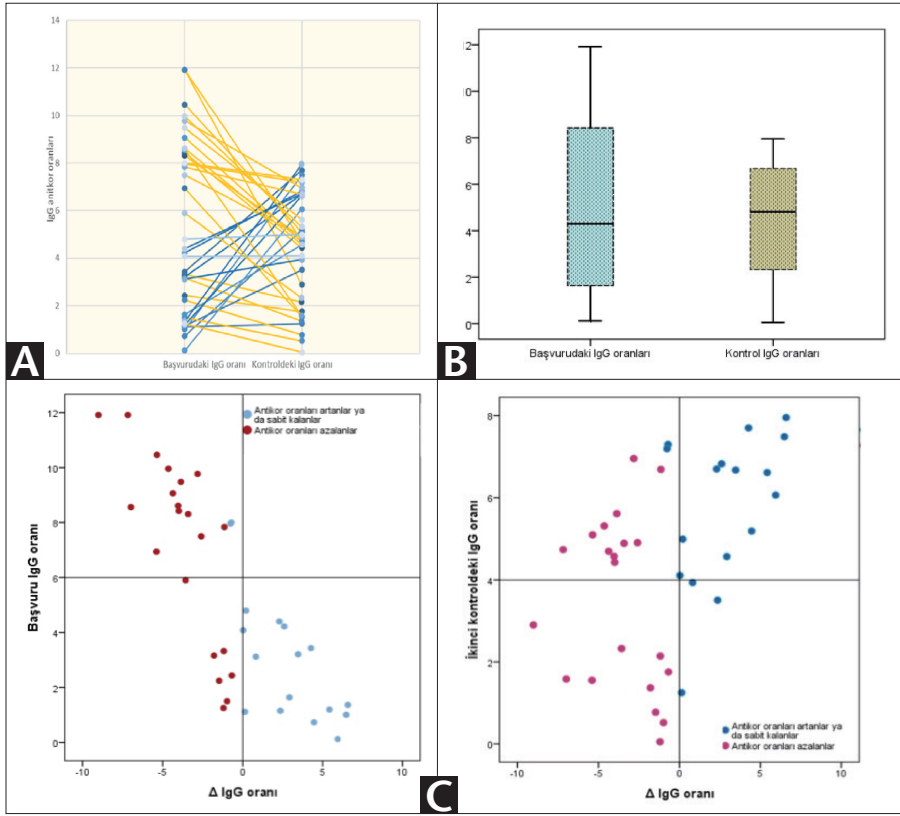
Tablo II. Klinik ve Demografik Özelliklere göre Antikor Oranları ve Zamana göre Değişkenliğinin Kıyaslanması

Parametreler	Yatış IgG			Kontrol IgG			Δ IgG		
	Ort.	σ	p	Ort.	σ	p	Ort.	σ	p
Yaş									
≥ 60	5.93	3.75	.6	4.15	2.5	.7	-1.7	4.36	.5
< 60	5.14	3.6		4.56	2.26		-.57	3.93	
Cinsiyet									
Kadın	5.21	4	.9	4.5	2.14	.9	-.72	4.4	.9
Erkek	5.3	3.3		4.5	2.42		-.8	3.7	
Komorbiditeler									
Diyabet tanısı olan	4.7	2.96	.68	2.9	2.23	.06	-1.8	3.5	.5
Olmayan	5.37	3.72		4.8	2.18		-0.6	4.07	
Hipertansiyon tanısı olan	5.37	2.84	.9	3.2	2.18	.09	-2.2	2.47	.3
Olmayan	5.24	3.77		4.8	2.22		-0.44	4.2	
Koroner arter hastalığı tanısı olan	5.88	2.41	.68	4.03	2	.63	-1.83	1.84	.52
Olmayan	5.17	3.75		4.57	2.3		-0.6	4.2	
Tıkalıcı hava yolu hastalığı tanısı olan	5.52	3.3	.91	6.68	6	.16	1.16	3.2	.48
Olmayan	5.25	3.64		4.37	2.27		-0.87	4	
Aktif Kanser tanısı olan	4.06	3.84	.55	3.31	2.86	.35	-0.74	6.2	.9
Olmayan	5.36	3.6		4.59	2.23		-0.76	38	
Hiç Komorbiditesi olmayan	5.38	3.75	.8	4.772	2.2	.32	-0.6	4.05	.75
Diğerleri	5.06	3.4		4	2.4		-1.03	4	
Birden fazla komorbiditesi olan	5.1	2.74	.8	3.63	2.36	.23	-1.47	3.04	.51
Diğerleri	5.3	7.38		4.7	2.23		-0.58	4.2	
Başvurudaki belirtiler									
Ateş; var	4.7	3.5	.1	4.48	2.6	.9	-.22	3.9	.15
Yok	6.84	3.5		4.54	.98		-2.3	3.6	
Öksürük; var	5.2	3.5	.78	4.32	7.64	.51	-.82	3.9	.89
Yok	5.4	3.85		4.84	3.52		-.65	4.13	
Dispne; var	6.8	3.3	.07	4.51	2.15	.98	-2.27	3.21	.1
Yok	4.56	3.55		4.5	2.37		-.07	4.14	
Boğaz ağrısı; var	4.33	3.2	.2	5	1.9	.06	1.05	4.53	.02
Yok	5.87	3.56		3.9	2.35		-1.9	3.1	
Balgam; var	7.36	4.15	.22	5.2	1.45	.52	-2.17	3.08	.46
Yok	5	3.5		4.41	2.35		-.6	4.06	
Miyalji; var	4.4	3.45	.09	4.15	2.76	.3	-0.24	4.2	.36
Yok	6.34	3.54		5	1.5		-1.4	3.6	
Halsizlik; var	4.9	3.5	.43	4.26	2.6	.42	-.65	4	.8
Yok	5.87	3.76		4.9	1.63		-.97	4.06	

Tablo II. Klinik ve Demografik Özelliklere göre Antikor Oranları ve Zamana göre Değişkenliğinin Kıyaslanması (devamı)

Parametreler	Yatış IgG			Kontrol IgG			Δ IgG		
	Ort.	σ	p	Ort.	σ	p	Ort.	σ	p
Baş ağrısı; var	3.66	3.52	.3	3.2	2.7	.2	-0.46	2.8	.85
Yok	5.5	3.58		4.7	2.2		-0.8	4.15	
Koku kaybı; var	1.61	1.04	.03	4.28	3.28	.8	2.6	3.5	.06
Yok	5.7	3.54		4.52	2.2		-1.17	3.86	
Semptom sayısı; ≤ 3	5.96	3.41	.3	4.8	1.7	.47	-1.15	3.54	.62
≥ 4	4.75	3.7		4.26	2.6		-0.48	4.31	
Diğer Klinik Özellikler									
Temas durumu; var	4.07	3.3	.62	5	2.27	.69	0.85	3.9	.503
Yok	5.74	3.65		4.13	2.37		-1.6	3.83	
Ampirik antibiyotik; var	5.8	3.63	.58	4.5	2.3	.95	-1.26	4.16	.64
Yok	5.07	3.62		4.5	2.3		-0.6	4	
Yatış anında oksijen ihtiyacı; var	5.34	3.65	.8	5.12	2	.06	-0.22	4.23	.35
Yok	5.16	3.6		3.7	2.34		-1.4	3.6	
Yoğun Bakım İhtiyacı; var	5.8	3.4	.39	5.4	2.23	.07	-0.42	4.05	.8
Yok	4.8	3.6		4	2.23		-0.7	4	
Bakteriyel Pnömoni; var	7.67	3.54	.03	5	1.34	.05	-2.66	4.29	.15
Yok	4.54	3.33		4.33	2.51		-0.2	3.81	
Hastalık şiddeti									
Hafif	5.16	3.6	.8	3.72	2.34	.06	-1.44	3.6	.36
Orta-Ağır şiddetli	5.34	3.65		5.12	2.06		-0.22	4.23	
Bilgisayarlı Tomografi Sınıflandırılması									
Tipik	5.4	3.4	.7	5.03	2.33	.5	-0.4	4.04	.9
Atipik-Şüpheli	5.4	4		3.46	2.27		-1.94	3.86	
Negatif (Bulgu yok)	4.6	4.19		4.6	0.5		0.04	4.4	
Toplam	5.26	3.6		4.5	2.27		-0.77	4	.241

Ort: Ortalama.



Şekil 2. Koronavirüs hastalığı 2019 geçiren katılımcıların serum örneklerinin boylamsal analizi. Başvuru ve kontrol antikor oran değişikliklerin her bir olgu özelinde gösterilmesi (A), Kohortun başvuru ve kontroldeki antikor oran sonuçlarının kutu grafiği ile gösterilmesi (B). Başvuru ve kontrol IgG oranlarının, Δ IgG ile olan ilişkisinin serpilme diyagramı ile gösterilmesi (kırmızı renk, antikor oranları düşen olguları [Δ IgG < 0], mavi renk ise antikor oranları düşmeyen olguları [Δ IgG $\geq$ 0] göstermektedir.) (C).

sında serolojik olarak genellikle ölçülebilir düzeydedir. Antikor seviyelerinin zamana göre düşüşü ya da antikor seviyelerini tahmin ettiren faktörler arasında hastalık belirtileri, şiddeti, yaş ve başka birçok parametre gösterilmiş ve incelenmiştir^{6,13-16}. Tam bir fikir birliği sağlanamamış olsa da genel kanı hastalığı şiddetli geçiren kişilerde antikor seviyelerinin daha yüksek olduğu yönündedir¹⁷⁻²⁰. Antikor üretiminin sürdürülebilirliği yani antikor üretimi ve zaman arasındaki ilişkiye bakıldığında ise farklı bir bilgi dikkati çekmektedir. Hızlı iyileşen hastalarda germinal merkez oluşumu, yüksek somatik hipermutasyon hızı ve uzun ömürlü plazma hücre üretimi olduğu, dolayısıyla sürdürülebilir antikor üretiminin sağlanabildiği ancak hastalığı uzun sürede atlatanlarda bağışık yanıtın daha çok ekstrasfolikül merkezli olduğu, zayıf ve kısa ömürlü plazma hücre üretimine bağlı olarak başta yüksek olan antikorların zamanla düştüğü gösterilmiştir⁶. Bu nedenle iki farklı humoral immünofenotipten bahsedilmektedir; birinci fenotip giderek artan ya da sabit kalan anti-

kor üretimi olan grup, ikinci fenotip ise başlangıçta yüksek olsa dahi zamanla düşük antikor üretimi ile karakterize gruptur. Birinci fenotipte bahsedilen hasta karakteristiklerini destekler nitelikte Wuhan'da yapılan bir çalışmada da hafif hastalık geçirenlerde antikor üretiminin süreklilik arz ettiği gösterilmiştir²¹.

Çalışmamızda hastalık ciddiyeti, yatış süresi ve antikor üretimi ile sürdürülebilirliği arasındaki ilişki örneklem küçüklüğü nedeniyle güvenilir değildir. Ancak başlangıçta ortalamanın altında olan neredeyse tüm olgularda antikor oranlarında artış ya da sebat etme, ortalamanın üstünde olan birçok olguda ise düşüş açıkça gösterilmiştir ki bu altıncı ayın sonunda oranların birbirine yaklaşımı anlamına gelmektedir ve benzer bir patern-den daha önce bahsedilmiştir²². İlginç ve bir anlamda istisnai olan grup, bakteriyel pnömoninin eşlik ettiği gruptur. Bu grubun antikor oranları bakteriyel pnömonisi olmayan gruplara göre hem başvuruda hem de kontrolde anlamlı oranda yüksek seyretmiştir. Sık görülen solunum yolu enfeksiyonu ve pnömoni etkenleri ile SARS-CoV-2'nin eş zamanlı enfeksiyonu nadir bir durum değildir²³, eşlik eden bakteriyel enfeksiyon oranları %5.1 ile %25.8 arasında bildirilmiştir^{24,25}. Kohortumuzda bu oran %18.9'dur. Bakteriyel pnömoninin SARS-CoV-2 enfeksiyonuna eşlik ettiği bu grup ile ilgili olarak vurgulanması gereken en çarpıcı bulgu; başvuruda en yüksek IgG oranlarına sahip olmalarıdır. IgG yanıtı ve bakteriyel koenfeksiyon ilişkisinden literatürde henüz bahsedilmemiştir ve yeni bir bulgu olarak kabul edilebilir. Ayrıca bakteriyel pnömoninin kliniğe eşlik ediyor olması hastalığı nispeten daha ağır geçirmekte olan grubu da temsil ediyor olabilir.

Germinal merkez oluşumu ve uzun ömürlü plazma hücrelerine farklılaşma uygun bir bağışıklanma süreci gerektirir⁶. Hafif klinik tablo başarılı bir doğal/adaptif bağışıklık hücre elemanları orkestrasyonunun dolaylı göstergesidir ve uzun ömürlü plazma hücrelerinin farklılaşması ile daha uzun süre antikor üretimi devam edebilir. Buna rağmen antikor yanıtlarının ne kadar süreceği ve ne kadar süre hastayı ciddi ya da tekrarlayan hastalıktan koruyacağı konusu yanıtlanması gereken önemli sorular arasındadır. Çalışmamızda ortalama altı ay sonra bakılan anti IgG-S1 üretiminin ılımlı da olsa azaldığı, başlangıçta yüksek antikor oranlarının genellikle düşme, düşük antikor oranlarının ise genellikle toplum ortalamasına yaklaşma eğiliminde olduğu gösterilmiştir. Çalışma kısıtlı hasta grubuyla yapılmıştır ve yapı itibarıyla geçmişteki hastalardan toplanan örneklerin kullanılması ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmada nötralizan antikora bakılmamış olması ya da bulguların başka bir ölçüm tekniği ile desteklenmemiş olması çalışmanın kısıtlılıkları arasındadır. Ancak nötralizan antikor yanıtı ile anti S1-IgG yanıtı arasında güçlü bir korelasyon vardır ve temsil eden belirteç olarak kullanılabileceği düşünülmüştür¹⁴. Bu çalışmanın gücü, boylamsal kurgulanmasından ve antikor seviyelerindeki değişikliklerle ilgili bir paterni ortaya koymasından gelmektedir.

Elde olunan bulgular kısaca özetlenecek olursa hastalığı geçiren bireylerde anti S1-IgG üretimi başlangıçtaki ölçümlere göre ılımlı derecede azalmış olsa da altı ay sonra halen devam etmektedir. İlk bakıldığında nispeten düşük antikor yanıtı olan bireylerde ortalama 180 gün sonra kontrol edildiğinde antikor yanıtları artmakta ya da sabit kalmaktadır.

ken, başlangıçta yüksek yanıt gözlenmiş bireylerde antikor oranları azalma eğiliminde olabilmektedir. Eşlik eden bakteriyel pnömoni ilk başta yüksek antikor yanıtı ile ilişkilidir. Antikor üretimi dinamiklerini daha incelikli irdelemek adına geniş çalışma nüfuslarının, farklı varyantların, aşılansak bağışık hale gelmiş bireylerin dahil edildiği ve farklı ölçüm tekniklerinin bir arada kullanıldığı çalışmalara gereksinim bulunmaktadır.

ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı (Tarih: 31.03.2020 ve Karar No: 2020/07-33) ve T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Bilimsel Araştırma Platformunun izni (Dosya No: 2020-05-04T15_12_57) ile gerçekleştirildi.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

TEŞEKKÜR

EUROIMMUN Türkiye Tıbbi Laboratuvar Teşhisleri Anonim Şirketi, çalışmada kullanılan ELISA kitini bilimsel araştırmalarda kullanılmak üzere Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarına bedelsiz olarak sağlamıştır.

KAYNAKLAR

1. Aguiar M, Van-Dierdonck JB, Mar J, Cusimano N, Knopoff D, Anam V, et al. Critical Fluctuations in Epidemic Models Explain COVID-19 Post-lockdown Dynamics. *Sci Rep* 2021; 11(1): 13839. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-93366-7>
2. Sheehan MM, Reddy AJ, Rothberg MB. Reinfection Rates Among Patients Who Previously Tested Positive for Coronavirus Disease 2019: A Retrospective Cohort Study. *Clin Infect Dis* 2021; 73(10): 1882-6. <https://doi.org/10.1093/cid/ciab234>
3. Sotoodeh Ghorbani S, Taherpour N, Bayat S, Ghajari H, Mohseni P, Hashemi Nazari SS. Epidemiologic Characteristics of Cases with Reinfection, Recurrence, and Hospital Readmission Due to COVID-19: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Med Virol* 2022; 94(1): 44-53. <https://doi.org/10.1002/jmv.27281>
4. Long Q-X, Tang X-J, Shi Q-L, Li Q, Deng H-J, Yuan J, et al. Clinical and Immunological Assessment of Asymptomatic SARS-CoV-2 Infections. *Nat Med* 2020; 26(8): 1200-4. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0965-6>
5. Mallano A, Ascione A, Flego M. Antibody Response against SARS-CoV-2 Infection: Implications for Diagnosis, Treatment and Vaccine Development. *Int Rev Immunol* 2021; 1-21. <https://doi.org/10.1080/08830185.2021.1929205>
6. Chen Y, Zuiani A, Fischinger S, Mullur J, Atyeo C, Travers M, et al. Quick COVID-19 Healers Sustain Anti-SARS-CoV-2 Antibody Production. *Cell* 2020; 183(6): 1496-507.e16. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.10.051>
7. Ravichandran S, Lee Y, Grubbs G, Coyle EM, Klenow L, Akasaka O, et al. Longitudinal Antibody Repertoire in "Mild" versus "Severe" COVID-19 Patients Reveals Immune Markers Associated with Disease Severity and Resolution. *Sci Adv* 2021; 7(10): eabf2467. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abf2467>
8. Wang K, Long Q-X, Deng H-J, Hu J, Gao Q-Z, Zhang G-J, et al. Longitudinal Dynamics of the Neutralizing Antibody Response to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Infection. *Clin Infect Dis* 2021 Aug 2;73(3):e531-e539.

9. Zhang G, Nie S, Zhang Z, Zhang Z. Longitudinal Change of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Antibodies in Patients with Coronavirus Disease 2019. *J Infect Dis* 2020; 222(2): 183-8. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa229>
10. Marot S, Malet I, Leducq V, Zafilaza K, Sterlin D, Planas D, et al. Rapid Decline of Neutralizing Antibodies Against SARS-CoV-2 Among Infected Healthcare Workers. *Nat Commun* 2021; 12(1): 844. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21111-9>
11. World Health Organization (WHO). COVID-19 Clinical Management: Living Guidance 2021. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-clinical-2021-1>
12. Akçay Ş, Özlü T, Yılmaz A. Radiological Approaches to COVID-19 Pneumonia. *Turk J Med Sci* 2020; 50(Si-1): 604-10. <https://doi.org/10.3906/sag-2004-160>
13. Garcia-Beltran WF, Lam EC, Astudillo MG, Yang D, Miller TE, Feldman J, et al. COVID-19-Neutralizing Antibodies Predict Disease Severity and Survival. *Cell* 2021; 184(2): 476-88.e11. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.12.015>
14. Hashem AM, Algaissi A, Almahboub SA, Alfaleh MA, Abujamel TS, Alamri SS, et al. Early Humoral Response Correlates with Disease Severity and Outcomes in COVID-19 Patients. *Viruses* 2020; 12(12): 1390. <https://doi.org/10.3390/v12121390>
15. Crawford KHD, Dingens AS, Eguia R, Wolf CR, Wilcox N, Logue JK, et al. Dynamics of Neutralizing Antibody Titers in the Months After Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection. *J Infect Dis* 2020; 223(2): 197-205. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa618>
16. Legros V, Denolly S, Vogrig M, Boson B, Rigaiil J, Pillet S, et al. A Longitudinal Study of SARS-CoV-2 Infected Patients Shows High Correlation between Neutralizing Antibodies and COVID-19 Severity. *medRxiv* 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.08.27.20182493>
17. Imai K, Kitagawa Y, Tabata S, Kubota K, Nagura-Ikeda M, Matsuoka M, et al. Antibody Response Patterns in COVID-19 Patients with Different Levels of Disease Severity in Japan. *J Med Virol* 2021; 93(5): 3211-8. <https://doi.org/10.1002/jmv.26899>
18. Wheatley AK, Juno JA, Wang JJ, Selva KJ, Reynaldi A, Tan H-X, et al. Evolution of Immune Responses to SARS-CoV-2 in Mild-moderate COVID-19. *Nat Commun* 2021; 12(1): 1162. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21444-5>
19. Yates JL, Ehrbar DJ, Hunt DT, Girardin RC, Dupuis AP, Payne AF, et al. Serological Analysis Reveals an Imbalanced IgG Subclass Composition Associated with COVID-19 Disease Severity. *Cell Rep Med* 2021; 2(7): 100329. <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2021.100329>
20. Young BE, Ong SWX, Ng LFP, Anderson DE, Chia WN, Chia PY, et al. Viral Dynamics and Immune Correlates of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Severity. *Clin Infect Dis* 2020; 73(9): e2932-e42.
21. Hou H, Wang T, Zhang B, Luo Y, Mao L, Wang F, et al. Detection of IgM and IgG Antibodies in Patients with Coronavirus Disease 2019. *Clin Transl Immunology* 2020; 9(5): e1136. <https://doi.org/10.1002/cti2.1136>
22. Pradenas E, Trinité B, Urrea V, Marfil S, Ávila-Nieto C, Rodríguez de la Concepción ML, et al. Stable Neutralizing Antibody Levels 6 Months After Mild and Severe COVID-19 Episodes. *Med* 2021; 2(3): 313-320.e4. <https://doi.org/10.1016/j.medj.2021.01.005>
23. Mirzaei R, Goodarzi P, Asadi M, Soltani A, Aljanabi Haa, Jeda AS, et al. Bacterial Co-infections with SARS-CoV-2. *IUBMB Life* 2020; 72(10): 2097-111. <https://doi.org/10.1002/iub.2356>
24. Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, et al. Epidemiological and Clinical Characteristics of 99 Cases of 2019 Novel Coronavirus Pneumonia in Wuhan, China: A Descriptive Study. *Lancet* 2020; 395(10223): 507-13. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30211-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30211-7)
25. Zhang G, Hu C, Luo L, Fang F, Chen Y, Li J, et al. Clinical Features and Short-term Outcomes of 221 Patients with COVID-19 in Wuhan, China. *J Clin Virol* 2020; 127: 104364. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104364>

