

COVID-19'da SARS-CoV-2'ye Karşı Antikor Yanıtları ve Serolojik Deneyler

Antibody Responses Against SARS-CoV-2 in COVID-19 and Serological Assays

 Bülent ÇAKAL^a

^aİstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İstanbul, TÜRKİYE

ÖZET Şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs-2'nin (severe acute respiratory syndrome coronavirus-2; SARS-CoV-2) etiyolojik etkeni olduğu koronavirüs hastalığı 2019 (coronavirus disease 2019; COVID-19) pandemisi, mevcut ve olası sonuçları açısından tüm dünyayı etkisi altına almıştır. COVID-19 oldukça özgün virolojik, klinik ve immünojik karakteristik özelliklere sahiptir. COVID-19 tanılı hastalarda SARS-CoV-2'ye karşı antikor yanıtlarının karakterize edilmesi ve tanımlanması, salgının dinamiklerinin anlaşılması ve daha etkin mücadele stratejilerinin geliştirmesi için kritik önem taşımaktadır. SARS-CoV-2'ye karşı humoral immün yanıtlara ilişkin bazı belirsizlikler mevcuttur. Bunlardan ilki SARS-CoV-2 enfeksiyonuna karşı oluşan B hücre bellek yanıtlarının süresi ile ilgilidir. Bir virüse yönelik uygun B hücre yanıtlarının, reenfeksiyonlara karşı koruyucu olması beklenir. Buna karşın mevcut veriler, COVID-19 enfeksiyonu sonrası antikor aracılı bağışıklığın, reenfeksiyona karşı koruyucu etkinliğinin sınırlı olduğuna işaret etmektedir. Bir diğer sorun ise serokonversiyonu belirlemek ve antikor yanıtlarını ölçmek amacıyla kullanılan serolojik deneylerin özgüllüğü ve validasyonu ile ilişkilidir. COVID-19'da hastaların bir kısmında antikor yanıtlarının zayıf olması ve diğer CoV'ler ile ilişkili çapraz reaktivitenin varlığı, serolojik deneylerin güvenilirliğini sınırlandırabilmektedir. Bu nedenle anti-SARS-CoV-2 antikorlarının kinetiği, antikor ilişkili immünitenin etkinliği ve immünopatogenezinin anlaşılması ile spesifik ve valide serolojik testlerin geliştirilmesi hususunda yoğun bir araştırma çabası mevcuttur. Bu derlemede anti-SARS-CoV-2 antikorlarının kinetiği, antikor aracılı immünitenin etkinliği ve serolojik tanıya yönelik gelişmelerin irdelemesi amaçlanmıştır.

ABSTRACT Coronavirus disease-2019 (COVID-19) pandemic which is the etiological agent of severe acute respiratory syndrome-associated a coronavirus (SARS-CoV-2) has influenced the whole world with the current and possible results. COVID-19 has very unique characteristic of virological, clinical and immunological. Characterization and identification of antibody responses against SARS-CoV-2 in patients with COVID-19 is critical for understanding the dynamics of the outbreak and to developed more effective interventions strategies. Some of gaps about humoral immune responses to SARS-CoV-2. The first of these is about life-span of B cell memory responses to SARS-CoV-2 infection. It is expected that eligible B cell response to a virus prevents reinfection. However, current evidence is pointed that effectiveness of prevent against reinfection to antibody-mediated immunity after COVID-19 infection is limited. Second else challenge is about to specificity and validation of serological assay used to determine seroconversion and measure antibody responses. In COVID-19, weak antibody responses in some patients and the presence of cross-reactivity associated with other CoVs may limit the reliability of serological experiments. Therefore, there is an intense research effort to reveal kinetics, effectiveness of antibody-mediated immunity and immunopathogenesis of anti-SARS-CoV-2 antibodies with to develop specific and validated serological tests. In this review, it is aimed to examination about kinetics of anti-SARS-CoV-2 antibodies, effectiveness of antibody-mediated immunity with also advances in serological diagnosis.

Anahtar Kelimeler: SARS-CoV-2; COVID-19; antikor yanıtları; B hücre bellek yanıtları; reenfeksiyon; nötralzan antikorlar; serolojik deneyler; bağışıklık belgesi

Keywords: SARS-CoV-2; COVID-19; antibody responses; B cell memory responses; reinfection; neutralizing antibodies; serological assays; immunity passports

Humoral immün yanıtlar, sitopatik virüslerin klenrensi ve reenfeksiyonları önlemek için gerekli immün belleğin oluşturulmasında gerekli ve yararlıdır. Şiddetli akut solunum sendromu-koronavirüs-2 [severe

acute respiratory syndrome-coronavirus-2 (SARS-CoV-2)] enfeksiyonuna karşı oluşan humoral tipteki bağışıklığın süresi, pandeminin ve pandemi sonrası dinamiklerin genel seyrini belirleyeceği için koru-

Correspondence: Bülent ÇAKAL

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İstanbul, TÜRKİYE/TURKEY

E-mail: bulentcakal@yahoo.com



Peer review under responsibility of Türkiye Klinikleri Journal of Health Sciences.

Received: 13 May 2020 **Accepted:** 19 May 2020 **Available online:** 23 May 2020

2536-4391 / Copyright © 2020 by Türkiye Klinikleri. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

yucu bağışıklığın zamansal dinamiklerinin anlaşılması kritik önem taşımaktadır. Endemik CoV'ler ile immün etkileşimin, SARS-CoV-2 üzerinde çapraz koruma ya da aksine antikor bağımlı şiddetlenmeye sebep olup olmayacağı da henüz açık değildir.

CoV enfeksiyonlarının seroepidemiolojisine yönelik çalışmaların büyük bir kısmının, nötralizan antikorların tespitinden ziyade kanda bağlanan antikorların tespitine yönelik olması nihai bir değerlendirme yapmayı güçleştirmektedir. Bununla birlikte, genel olarak serokonversiyon zamanı SARS-CoV için ortalama 12 (8-15,2) gün, SARS-CoV-2 için ortalama 11 (7,25-14) gün, Orta Doğu solunum sendromu-CoV [Middle East respiratory syndrome-CoV (MERS-CoV)] için ise ortalama 16 (13-19) gündür. İmmünglobulin (Ig) G zaman içinde azalarak genelde 1 yıla kadar tespit edilebilir düzeylerde (nadiren 3 yıla kadar) bulunabilmekte, antikor titreleri semptomların şiddeti ile korelasyon gösterebilmekte ve daha uzun süreler tespit edilebilir düzeylerde olabilmektedir. Deneysel insan çalışmalarında aynı suş ile 1 yıl sonra reenfeksiyon gözlenebilmekte fakat hastalık olasılıkla düşük şiddette seyredilebilmekte olup, çapraz reaktivite olabilmesine karşın bu, özellikle alfa ve beta CoV'ler arasında minimal düzeyde gerçekleşmektedir. Buna karşın endemik "human (hCoV)", yeni ortaya çıkan hCoV, SARS-CoV ve MERS-CoV'lere karşı nadiren çapraz koruma sağlayıcı antikorları indüklemektedir. Mevcut antikorların yoğunluk ve düzeyinin hastalık şiddeti üzerine etkisi açık olmayıp, 4 endemik hCoV ile ilk enfeksiyon yaşının ortalama 4,8 yıl olduğu; seroprevalansın çocukluk döneminde hızla artış gösterip erişkin dönemde devam edebildiği ve çoğu çalışmada, seroinsidans yaştan bağımsız olarak, yaşlı popülasyonda CoV insidansı gösterilmiştir. Mevcut veriler, gelecekteki olası riskler üzerinde CoV immünesinin ölçülebilir bir etkisine işaret etmekle birlikte, bu korumanın kısa süreli ve/veya geçici olabileceği öngörülmektedir.^{1,2}

CoV'lere karşı antikor yanıtları genellikle hastalık belirtilerini izleyen iki üç hafta sonrası gelişmekte, ortalama 8. günden sonra artarak 14. günde pik yapmakta buna karşın hastalar arasında önemli farklılıklar gözlemlenebilmektedir. Anti-SARS-CoV-2 antikorlarının kinetiğini değerlendirmek için henüz çok erken olmak birlikte, öncü çalışmalarda anti-SARS-CoV-2 antikorları için serokonversiyon za-

manı nötralizan antikorlar, IgM ve IgG için sırasıyla 11, 12 ve 14 gün olarak rapor edilmektedir.³

Real-time reverse transcription-polymerase chain reaction (rRT-PCR) konfirme ve klinik şüpheli toplam 1.343 COVID-19 tanılı hastayı içeren ve vakaların yaklaşık %99'unda iki aşamalı enzime bağlı immünosorban analizleri [enzyme linked immunosorbent assays (ELISA)] ile anti-SARS-CoV-2 IgG pozitifliği saptanan bir başka çalışmada ise; anti-SARS-CoV-2 IgG antikorlarının hastalık semptom başlangıcından 7-50 gün sonra, en yüksek antikor titrelerinin ortalama 24 gün sonra, semptomların düzelmesinden sonra ise 5-49 gün, en yüksek antikor titrelerinin de ortalama 15 gün sonra geliştiği rapor edilmiş, çalışmada ayrıca serolojik testler için ideal zamanın semptom başlangıcından en az üç yada dört hafta sonra, semptomların düzelmesinden sonra ise en az 2 hafta sonra uygulanması gerektiği önerilmiştir.⁴

Genel olarak rapor edilen anti-CoV antikorlarının kinetiği; IgA, IgM ve IgG titrelerinin hastalık belirtilerinden 1 hafta sonra arttığı, IgM düzeylerinin zamanla azalmaya başladığı, IgG ve nötralizan antikor düzeylerinin ise CoV'nin türüne ve enfekte olan hastaya bağlı olarak ortalama 4. ayda pik yaparak zamanla azalmakla birlikte maksimum 3 yıla kadar tespit edilebilir düzeylerde kalabildiği rapor edilmiştir.^{2,5}

Genç (21-40 yaş) ve ileri (≥ 65) yaş grupları arasında serokonversiyon ya da PCR ile konfirme CoV ilişkili solunum yolları enfeksiyonlarının insidansının farklı olmadığı, genel olarak tüm yaş gruplarında benzerlik gösterdiği, ilk enfeksiyonun genellikle 14 yaş öncesinde olduğu, IgG seroprevalansının 10 yaşından sonra artış gösterdiği, IgM seroprevalansının ise 14 yaş ve üstünde zamanla azalarak sıfırlandığı rapor edilmektedir.⁶⁻⁹ Bu açıdan her serotip yaşam boyu homolog immünite sağlıyorsa ileri yaşta CoV enfeksiyonlarının önemli bir bölümünün önlenilebilir olması öngörülebilir. Buna karşın immünesinin kısa süreli, tam bağışık, ömür boyu kısmi bağışıklık ve tek bir viral suş içerisinde çoklu genotiplerin varlığı, sınırlı çapraz bağışıklık gibi faktörlere bağlı olarak enfeksiyonun yaşa bağlı seroinsidansı ve seroprevalansı değişkenlik gösterebilmektedir.²

Humoral immün yanıtlar, sitopatik virüslerin klirenine ek olarak reenfeksiyonları önlemek için ge-

rekli immün belleğin oluşturulmasında kritik öneme sahiptirler. Bu açıdan SARS-CoV-2'ye karşı B hücre bellek yanıtların süresinin bilinmesi, tıbbi ve sosyal sonuçları nedeni ile gereklilik arz etmektedir. Sınırlı sayıda yapılan çalışmalarda, COVID-19 tanılı hastalarda foliküler T yardımcı hücre sirkülasyonunda artış ile eş zamanlı CD38^{hi}CD27^{hi} antikor sekresyonu gerçekleştiren hücrelerin indüksiyonu tanımlanmıştır.¹⁰

SARS-CoV-2'ye spesifik yüksek antikor titrelerinin, hastalardaki viral yük ile ters orantılı olarak in vitro nötralizasyon kapasitesinin yüksek olduğu, yüksek antikor titrelerinin hastalarda daha şiddetli klinik seyir ile ilişkili olabileceği ve güçlü antikor yanıtlarının tek başına hastalık şiddetini azaltmada yeterli olmayabileceği belirtilmektedir.^{3,11} İnsanlar üzerinde yapılan deneysel enfeksiyon çalışmalarından elde edilen veriler, hCoV enfeksiyonları sonrası oluşan antikorların reenfeksiyondan koruyucu etkinliğinin son enfeksiyon sonrası 1 veya 2 yıl ile sınırlı olduğu yönünde olmasına karşın, yapılan çalışmaların çoğu patojenitesi düşük hCoV'ler ile gerçekleştirildiğinden nihai bir değerlendirme yapılmasını zorlaştırmaktadır.¹²⁻¹⁴ Bu açıdan anti-CoV antikor düzeyleri ile hastalığın şiddeti arasında henüz bilimsel olarak doğrulanmış net bir korelasyon olmadığı, ayrıca var olan anti-CoV antikorlarının yeni CoV enfeksiyonuna karşı koruyuculuğuna dair yapılan ve daha çok hCoV-229E gibi mevsimsel hCoV ile yapılan sınırlı insan çalışmalarından elde edilen verilerin de açık ve yeterli kanıt içermediği, insanlarda yapılan doğal ve deneysel enfeksiyon çalışmalarının, endemik insan alfa ve beta CoV'ler ile SARS ve MERS-CoV'ler arasında minimal düzeyde çapraz reaktivitenin varlığına işaret ettiği rapor edilmektedir.²

Özetle SARS-CoV-2'ye karşı oluşan uzun dönemli bellek yanıtların yoğunluğu ve doğası hakkında bilgiler henüz sınırlı; buna karşın veriler, primer enfeksiyon sonrası koruyucu immünitenin zamanla azaldığı yönündedir. Dolayısıyla bu konuda net bir yargıda bulunmak için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulduğu açıktır.

Çocukluk çağı aşılama çalışmalarının [AMPV, BCG, DPT, HBV, HIB, JEV, MMRV (ve MV, RV), OPV, PI, SV, VV (varisella aşısı)], SARS-CoV'lere karşı çapraz koruma sağlayabildiği ve bu nedenle çocuk-

larda SARS-CoV enfeksiyonunun erişkinlere oranla daha az şiddetli seyrettiği öngörülmesine karşın SARS-CoV ile gerçekleştirilen deneysel fare çalışmalarında, çapraz reaksiyonun varlığı tespit edilmiştir.^{15,16}

Serolojik deneyler, toplumdaki gerçek enfeksiyon ve immünite oranlarının ve enfeksiyon fatalite oranlarının belirlenmesine yönelik retrospektif serosürveyans (seroepidemiolojik) çalışmalarının gerçekleştirilmesi, enfekte (asemptomatik, orta ve şiddetli vakalar) ve mevcut potansiyel immün bireylerin tanımlanması, potansiyel aşı adaylarının tespiti ve aşı etkenliğinin değerlendirilmesi ile virüsün doğal rezervuar ve ara konağın araştırılmasına yönelik çalışmalar için kritik önem taşımaktadır. SARS-CoV-2'ye karşı özellikle bağışıklık kazanmış sağlık çalışanlarının kendileri, diğer sağlık çalışanları ve diğer hastalar için minimal düzeyde risk ile COVID-19 hastalarının klinik tedavi süreçlerine devam edebilme olanağı sağlayabilecek, diğer yandan sosyal mesafe önlemleri gevşetildikten sonra bağışık olduğu varsayılan bireylerin işe dönmelerine izin vermek için önerilen "bağışıklık pasaportu" uygulaması uyarınca da olumsuz sonuçları azaltmak için oldukça spesifik serolojik testlere ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca COVID-19 tanılı hastalarda koruyucu ve/veya tedavi edici nötralizasyon edici antikor [neutralizing antibody (NAb)] titrelerinin farklı olabilmesi nedeni ile COVID-19'un profilaksisi veya tedavisi amacıyla iyileşen hastalardan elde edilen serum veya konvalesan plazmaların transfüzyon öncesi nötralizasyon testlerinin yapılmasının önemli ve gerekli olduğu da belirtilmektedir.¹⁷ Bu nedenle tüm dünyada anti-SARS-CoV antikorlarının duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek, ayrıca güvenilir bir şekilde tespitine imkân veren serolojik testlerin geliştirilmesi ve optimizasyonuna yönelik yoğun bir çaba mevcuttur.¹⁸⁻²²

SARS-CoV-2'ye karşı oluşan antikor yanıtlarını tanımlamak için ağırlıklı olarak ELISA, immünofloresan deneyleri [immunofluorescence assays (IFA)], "Western blot", hemaglutinin inhibisyon [hemagglutination inhibition (HAI)] ve kompleman fiksasyon [complement fixation (CF)] gibi bağlanma deneyleri kullanılmaktadır. Virüs nötralizasyon deneyleri ise viral biyogenezin replikasyon süreci ile ilişkili biyolojik aktivitenin değerlendirilmesine imkân verdikleri

için fonksiyonel antikor yanıtlarının ölçümü için altın standart olarak kabul edilir. Buna karşın nötralizasyon testlerinin gerçekleştirilmesi için replikasyon yetkinliği olan bir virüse ve dolayısıyla biyogüvenlik 3 düzeyinde laboratuvar şartları, deneyimli personel ve ekipman gerekmesi, zaman alıcı olması ve ticari bir deney formatı olmaması nedeni ile rutin laboratuvarlarda uygulanması zordur. Canlı virüs kullanımına alternatif olarak bu amaçla lentivirüsler veya veziküler stomatitis gibi vektör virüsler kullanılabilir olmasına karşın bunların da rutin laboratuvarlarda kullanımı sınırlıdır. Bu nedenle rutin laboratuvar pratiğinde bu sorunun çözümü amacıyla ağırlıklı olarak ELISA bazlı deneyler kullanılır. Buna karşın, başta ELISA olmak üzere virüs nötralizasyon deneyleri dışında kullanılan diğer serolojik tanı yöntemlerinin antikorların nötralizasyon kapasitesinden ziyade virüsün antijenik epitoplarına karşı oluşan bağlanan antikorların tanımlanmasına olanak sağladıkları için tanısal duyarlılıkları ve güvenirlilikleri en azından nötralizasyon deneylerine göre sınırlıdır. Serolojik analizler amacıyla hasta serum örneklerine ek olarak sürüntü veya nazal yıkamayı da içeren mukozal örnekler kullanılabilir. Antikor aktivasyonunun karakterizasyonu ise IgM, IgG ve IgA sınıfı antikorların serolojik analizleri ve tespitiyle gerçekleştirilebilmektedir.

İdeal bir serolojik test, anti-SARS-CoV-2 antikorlarını kalitatif ve kantitatif düzeyde ölçmeye imkân vermeli, serosürveyans çalışmaları için enfeksiyon ve enfeksiyon fatalite oranlarını doğru ve kesin belirleyebilmeli, konvalesan serum/plazma tedavileri için uygun donörleri tanımlamalı, SARS-CoV-2 enfeksiyonundan koruyucu antikor yanıtları ve düzeylerinin tanımlanması yardımcı olacak enformasyon içermelidir. Ayrıca teknik olarak ideal bir serolojik tanı için kullanılacak immün hedeflerin hem uygun nötralizan antikor yanıtlarını indükleyebilmesi hem de türe özgü ve tür içinde korunmuş antijenik epitoplara sahip olması beklenir. SARS-CoV'lerin, yapısal spike (S) ve nükleokapsid (N) proteinleri CoV'lerin serolojik tanısı amacıyla kullanılan temel immünojenik hedefleri oluşturmalarına karşın, bu hedef proteinlerden hangisinin ve proteinin hangi immün epitoplarının serolojik tanı amacıyla hedef immünojen olarak kullanılması gerektiği bilimsel olarak henüz tartışma konusudur.^{2,23}

SARS-CoV-2 S proteini, ACE2 reseptör aracılığıyla virüsün konak hücreye girişinden sorumlu olması, nötralizan antikor indüksiyon kapasitesi ve türe özgü antijenik özgüllüğü nedeni ile en temel immünojenik hedeflerdir.^{24,25} S proteini konak hücre reseptörüne bağlanmadan sorumlu ve konak hücre membranlarının füzyonundan sorumlu sırasıyla S1 ve S2 olarak adlandırılan iki alt birimden oluşur, S1 N-terminal domain (S1-NTD) ve S1 C-terminal domain (S1-CTD) olmak üzere iki önemli domain içerir. S1 domainlerinden biri ya da ikisi potansiyel olarak reseptörü bağlar ve reseptör bağlayan domain (RBD) olarak işlev görür.^{26,27}

Dolayısıyla serolojik tanı amacıyla immünojenik hedef olarak S proteininin hangi bölge veya bölgelerinin kullanılması gerektiği konusunda da henüz net bir uzlaşma yoktur. Bu açıdan SARS-CoV-2'nin tam uzunluktaki S protein ve RBD'nin antijenik hedef olarak kullanıldığı bir "in-house" ELISA çalışmasında, COVID-19 tanımlı hastaların serum örneklerinin her iki antijenik proteine karşı reaktivite verdiği, buna karşın S proteinin RBD'ye göre reaktivitesinin daha güçlü olduğu, hasta örneklerinde IgG dışındaki diğer subtipler IgM ve IgA içinde güçlü reaktivite saptandığı, buna karşın IgG izotipleri IgG3, IgG1, IgG2 ve IgG4 için ise sırasıyla azalan reaktivitenin varlığı tanımlanmış ve daha fazla sayıda epitop içermesi nedeni ile serolojik tanıda tam uzunluktaki viral S proteininin kullanılmasının tercih edilebilir olduğu ifade edilmiştir.¹⁸

Benzer amaçla yapılan çalışmalarda, SARS-CoV-2 ile enfekte hastaların büyük çoğunluğunda virüsün S proteini ve RBD'ye karşı antikor yanıtlarının geliştiği, S1'e karşı daha yüksek düzeyde bağlanan ve nötralizan antikorların geliştiği, çapraz reaksiyonların ağırlıklı olarak RBD dışındaki S protein epitoplarına karşı meydana geldiği, SARS-CoV-2 ve SARS-CoV'nin S2 proteinleri ve RBD'leri arasında sırasıyla %90 ve %73 oranında amino asit benzerliği olmasına karşın bazı hastalarda RBD'ye karşı çapraz reaksiyon gelişebildiği, buna karşın, SARS-CoV-2 ve SARS-CoV'nin S protein epitopları arasında çapraz nötralizasyon yanıtlarının çok nadir görüldüğü, dolayısıyla SARS-CoV-2 ve SARS-CoV'nin arasında çapraz reaksiyon veren epitopların varlığının nötralizasyon testleri dışında kullanılacak serolojik testlerin

tanısal duyarlılığını azaltan bir engel teşkil edebileceğine de işaret edilmiştir.²⁸ Dolayısıyla SARS-CoV-2'ye spesifik antikor ilişkili nötralizasyonun ağırlıklı olarak virüsün S protein RBD içerisindeki epitoplara ile ilişkili olduğu anlaşılmaktadır.

Bununla birlikte S protein RBD'nin yüksek immünojenik özelliğe sahip olduğu ve bu protein domaininin epitoplara karşı oluşan nötralizan antikorların virüsün ACE2 ilişkili hücreye girişini bloke edebildiği ve bu antikorların varlığının COVID-19 hastalarında test edilerek, SARS-CoV ve MERS-CoV ile çapraz reaksiyon vermeyen türe özgü immünojen özellik gösteren epitoplara varlığı da rapor edilmiştir.^{17,20,29-31}

Özellikle orta şiddetli hastalık aktivitesine sahip hastalarda anti-SARS-CoV-2 IgG antikorlarının tespiti amacıyla RBD ve N protein epitoplara hedef alan ELISA testlerinin S1'i hedef alanlara göre daha duyarlı olduğu, IgA bazlı ELISA'nın IgG bazlı ELISA'ya göre daha duyarlı olmasına karşın özgüllüğünün daha düşük olduğu ve ayrıca IgG antikorlarının daha uzun süreli belleğe sahip olmaları nedeni ile serosürveyans çalışmaları için öncelikle IgG bazlı ELISA'nın ya da tercihen her ikisinin de kullanılabilir olabileceği rapor edilmiştir.¹¹

SARS-CoV-2 ve SARS-CoV S proteinleri arasında %77,2 oranında amino asit benzerliğine ek olarak MERS-CoV ile de arasında potansiyel korunmuş epitoplara varlığı ve ayrıca insan popülasyonunun büyük çoğunluğunda diğer endemik 4 CoV'e karşı antikorların varlığı, nötralizasyon testlerinde çok daha az olmakla birlikte, özellikle bağlanan antikorların tanımlandığı serolojik testlerde çapraz reaksiyonların oluşmasına neden olarak yalancı pozitifliğe neden olabilmektedir.^{20,32} Bu nedenle SARS-CoV-2'ye karşı geliştirilecek serolojik testlerin diğer 4 endemik hCoV ile çapraz reaktivite vermemesi beklenir.

SARS-CoV-2'nin S proteinini dışındaki immünojenik hedeflerinin serolojik testler amacıyla kullanılabilirliğinin belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada ise S proteinine benzer şekilde virüsün yapısal ve yapısal olmayan proteinlerine karşı da antikor yanıtının geliştiği, viral ORF8 ve ORF3'e karşı hastalarda antikor yanıtının daha erken geliştiği, N

antijenin daha immünojenik bir epitop olduğu, bu açıdan SARS-CoV-2'nin N, ORF8 ve ORF3'ün COVID-19 hastalarında serolojik tanı amacıyla kombine kullanımının, testlerin tanısal duyarlılığı ve özgüllüğünü artırabileceği rapor edilmiştir.²⁸ COVID-19 tanılı hastaların serum örneklerinde manetik kemilüminesans enzim immünoanaliz [magnetic chemiluminescence enzyme immunoassay (MCLIA)] yöntemi kullanılarak yapılan bir çalışmada, SARS-CoV-2 S1 proteinini için çapraz bağlanma tespit edilmemesine karşın N antijeni için ise çapraz reaksiyon varlığının tespit edildiği rapor edilmiştir.³³

Serolojik testlerin tanısal duyarlılığına ilişkin diğer bir bariyer ise özellikle asemptomatik, subklinik, hafif ve orta seyirli hastalık aktivitesine sahip COVID-19 tanılı hastalarda düşük düzeylerde antikor yanıtının varlığı ile ilişkilidir. Daha önceki CoV enfeksiyonlarına yönelik serolojik çalışmalardan elde edilen veriler, yalancı negatifliğin antikor seviyelerinin azalmasından kaynaklandığına işaret etmektedir. Antikor kinetiği üzerine yapılan çalışmaların çoğu semptomatik hastaları kapsadığından, SARS-CoV-2 enfeksiyonunun önemli bir oranını oluşturan subklinik enfeksiyonda antikor kinetiğine ilişkin verilerin azlığı serolojik değerlendirme için kritik bir boşluğu oluşturmaktadır. Bu açıdan orta düzeyde semptomların eşlik ettiği COVID-19 sonrası iyileşen hastalarda NAb'lerin saptanmasına yönelik bir çalışmada, özellikle genç hastaların %30'unda yüksek titrelerde NAb saptanmadığı, bu hastaların bir kısmında (%6) ise çok düşük ya da tanımlanabilir düzeyin altında NAb titrelerinin varlığı rapor edilmiştir.¹⁸

Dolayısıyla düşük hastalık şiddeti ile kısmi antikor yanıtları arasındaki ilişkiye dair bulgular hafif vakaların serolojik testler ve değerlendirmeler için potansiyel zorluğuna işaret etmektedir. Bazı ticari firmalar yüksek duyarlılığa ve özgüllüğe sahip ELISA esaslı serolojik testler geliştirdiklerini rapor etmekle birlikte rapor edilen ön çalışmalarında ağırlıklı olarak antikor yanıt düzeyi ve titreleri yüksek olması beklenen şiddetli COVID-19 tanılı hastalara ait serum örneklerini kullandıkları anlaşılmaktadır. Bu nedenle tercih edilecek yöntem ve metodun analitik analizlerinin dikkatle yapılması, güvenilir serolojik rapor-

lama için önem arz etmektedir. Yeni CoV enfeksiyonlarının endemik ve diğer yeni CoV'ler sonucu özellikle virüsün reseptöre bağlanmasını sağlayan protein domaine karşı oluşan bağlanan antikora karşı çapraz reaktiviteyi indüklediği buna karşın virüslerin antijenik yapılarındaki evrilme sonucunda bu etkinin azalabildiği de rapor edilmektedir.²

Bu açıdan Dünya Sağlık Örgütü, herhangi bir bireyde serolojik olarak COVID-19 ile ilişkili geçmiş veya mevcut anti-SARS-CoV-2 antikolarının tespiti ve/veya varlığının bu antikoların her bireyde tam olarak koruyucu nitelikte olduğunu göstermeyebileceğini, dolayısıyla kısmi immüniteye sahip bireylerin tekrar enfekte olabileceğini fakat reenfeksiyonun daha az şiddetli veya asemptomatik seyredebileceğini, ayrıca bu bireylerin düşük miktarda da olsa virüsü yayabilme potansiyeli taşıdıkları için enfeksiyona duyarlı kişileri enfekte edebileceklerini, dolayısıyla bağışıklık belgesinin (immün sertifikası/pasaport) salgının kontrolünde aksamalara ve istenmeyen sonuçlara neden olabileceğini, bu nedenle bireysel risk değerlendirmesi için serolojik testlerin uygulanmadan önce COVID-19 immünolojisi ile korelasyonunun anlaşılmasının kritik önem taşıdığını deklare etmiştir.³⁴ Dolayısıyla yalancı pozitif veya yalancı negatif test sonuçları baz alınarak bireylere verilecek bağışıklık bildirim belgelerinin telafisi güç ve istenmeyen çok yönlü problemlere yol açabilme potansiyeli nedeni ile henüz uygulanabilir görülmemektedir.

Özetle hastalığın immünopatogenezi ile salgının seyri ve nihai sonuçları henüz açık değildir. Anti-SARS-CoV-2 antikolarının kinetiği, antikor ilişkili immünitenin etkinliği ve immünopatogenezinin an-

laşılması ile spesifik ve valide serolojik testlerin geliştirilmesine yönelik ileri bilimsel çalışmalara ihtiyaç duyulduğu ve bu nedenle de yoğun bir araştırma çabasının mevcut olduğu anlaşılmaktadır.

Sonuç olarak aşı ve aşılama ile elde edilmesi planlanan koruyucu bağışıklığın salgın ile mücadele için dönüm noktası teşkil ettiği, aksi hâlde dünya popülasyonunun yaklaşık %80'inin virüs ile teması gerçekleşene kadar yaşam ve yaşam alanlarının eski normale dönmesinin olası görülmediği, dolayısıyla salgının kontrolü ve mücadelesi süresince ihtiyatlı karar ve davranışların yaşamsal önem arz ettiği öngörülebilir. Nihayetinde COVID-19'un yeni çağı eski bir problemi olarak bilimsel, klinik ve yönetsel alanlarda yeni tanımlamalar, yeni çözüm teknikleri ve yeni yaklaşımların oluşturulmasıyla kontrol edilebilir bir salgın olarak insanoğlunun dünya yüzeyindeki tarihi sertiveni içerisindeki yerini alması beklenir.

Finansal Kaynak

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin, çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

Yazar Katkıları

Bu çalışma tamamen yazarın kendi eseri olup başka hiçbir yazar katkısı alınmamıştır.

KAYNAKLAR

- Lee N, Chan PKS, Ip M, Wong E, Ho J, Ho C, et al. Anti-SARS-CoV IgG response in relation to disease severity of severe acute respiratory syndrome. *J Clin Virol.* 2006;35(2):179-84. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Huang AT, Garcia-Carreras B, Hitchings MDT, Yang B, Katzelnick LC, et al. A systematic review of antibody mediated immunity to coronaviruses: antibody kinetics, correlates of protection, and association of antibody responses with severity of disease. medRxiv. 2020;2020.04.14.20065771. [Crossref] [PubMed]
- Zhao J, Yuan Q, Wang H, Liu W, Liao X, Su Y, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. *Clin Infect Dis.* 2020;ciaa344. [Crossref] [PubMed]
- Wajnberg A, Mansour M, Leven E, Bouvier NM, Patel G, Firpo A, et al. Humoral immune response and prolonged PCR positivity in a cohort of 1343 SARS-CoV 2 patients in the New York City region. medRxiv. 2020. [Crossref] [PMC]
- Cao WC, Liu W, Zhang, PH, Zhang F, Richardus JH. Disappearance of antibodies to SARS-associated coronavirus after recovery. *N Engl J Med.* 2007;357(11):1162-3. [Crossref] [PubMed]
- Zhou W, Wang W, Wang H, Lu R, Tan W. First infection by all four non-severe acute respiratory syndrome human coronaviruses takes place during childhood. *BMC Infect Dis.* 2013;13:433. [Crossref] [PubMed] [PMC]

7. Schmidt OW, Allan ID, Cooney MK, Foy HM, Fox JP. Rises in titers of antibody to human coronaviruses OC43 and 229E in Seattle families during 1975-1979. *Am J Epidemiol.* 1986;123(5):862-8. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
8. Gorse GJ, Donovan MM, Patel GB. Antibodies to coronaviruses are higher in older compared with younger adults and binding antibodies are more sensitive than neutralizing antibodies in identifying coronavirus-associated illnesses. *J Med Virol.* 2020;92(5):512-7. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
9. Gaunt ER, Hardie A, Claas ECJ, Simmonds P, Templeton KE. Epidemiology and clinical presentations of the four human coronaviruses 229E, HKU1, NL63, and OC43 detected over 3 years using a novel multiplex real-time PCR method. *J Clin Microbiol.* 2010;48(8):2940-7. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
10. Thevarajan I, Nguyen THO, Koutsakos M, Bruce J, Caly L, van de Sandt CE, et al. Breadth of concomitant immune responses prior to patient recovery: a case report of non-severe COVID-19. *Nat Med.* 2020;26(4):453-5. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
11. Okba NMA, Müller MA, Li W, Wang C, GeurtsvanKessel CH, Corman VM, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2-specific antibody responses in coronavirus disease 2019 patients. *Emerg Infect Dis.* 2020;26(7):1478-88. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
12. Callow KA, Parry HF, Sergeant M, Tyrrell DA. The time course of the immune response to experimental coronavirus infection of man. *Epidemiol Infect.* 1990;105(2):435-46. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
13. Kissler SM, Tedijanto C, Goldstein E, Grad YH, Lipsitch M. Projecting the transmission dynamics of SARS-CoV-2 through the postpandemic period. *Science.* 2020;368(6493):860-8. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
14. Eyal N, Lipsitch M, Smith PG. Human challenge studies to accelerate coronavirus vaccine licensure. *J Infect Dis.* 2020;221(11):1752-6. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
15. Chan KH, Chan JFW, Tse H, Chen H, Lau CCY, Cai JP, et al. Cross-reactive antibodies in convalescent SARS patients' sera against the emerging novel human coronavirus EMC (2012) by both immunofluorescent and neutralizing antibody tests. *J Infect.* 2013;67(2):130-40. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
16. Yu Y, Jin H, Chen Z, Yu QL, Ma YJ, Sun XL, et al. Children's vaccines do not induce cross reactivity against SARS-CoV. *J Clin Pathol.* 2007;60(2):208-11. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
17. Wu F, Wang A, Liu M, Wang Q, Chen J, Xia S, et al. Neutralizing antibody responses to SARS-CoV-2 in a COVID-19 recovered patient cohort and their implications. *medRxiv.* [\[Crossref\]](#)
18. Amanat F, Stadlbauer D, Strohmaier S, Nguyen THO, Chromikova V, McMahon M, et al. A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans. *medRxiv.* 2020;2020.03.17.20037713. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
19. Stadlbauer D, Amanat F, Chromikova V, Jiang K, Strohmaier S, Arunkumar GA, et al. SARS-CoV-2 seroconversion in humans: a detailed protocol for a serological assay, antigen production, and test setup. *Curr Protoc Microbiol.* 2020;57(1):e100. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
20. Okba NMA, Müller MA, Li W, Wang C, GeurtsvanKessel CH, Corman VM, et al. SARS-CoV-2 specific antibody responses in COVID-19 patients. *medRxiv.* [\[Crossref\]](#)
21. Stadlbauer D, Amanat F, Chromikova V, Jiang K, Strohmaier S, Arunkumar GA, et al. SARS-CoV-2 seroconversion in humans: a detailed protocol for a serological assay, antigen production, and test setup. *Curr Protoc Microbiol.* 2020;57(1):e100. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
22. Tan CW, Chia WN, Qin X, Liu P, Chen MIC, Tiu C, et al. A SARS-CoV-2 surrogate virus neutralization test based on antibody-mediated blockage of ACE2-spike protein-protein interaction. *Nature Biotechnology.* 2020; [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
23. Meyer B, Drosten C, Müller MA. Serological assays for emerging coronaviruses: challenges and pitfalls. *Virus Res.* 2014;194:175-83. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
24. Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Veesler D. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *Cell.* 2020;181(2):281-92.e6. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
25. Paules CI, Marston HD, Fauci AS. Coronavirus infections-more than just the common cold. *JAMA.* 2020 [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
26. Tortorici MA, Walls AC, Lang Y, Wang C, Li Z, Koerhuis D, et al. Structural basis for human coronavirus attachment to sialic acid receptors. *Nat Struct Mol Biol.* 2019;26(6):481-9. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
27. Li F. Structure, function, and evolution of coronavirus spike proteins. *Annu Rev Virol.* 2016;3(1):237-61. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
28. Lv H, Wu NC, Tsang OTY, Yuan M, Perera RAPM, Leung WS, et al. Cross-reactive antibody response between SARS-CoV-2 and SARS-CoV infections. *bioRxiv.* 2020;2020.03.15.993097. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
29. Petherick A. Developing antibody tests for SARS-CoV-2. *Lancet.* 2020;395(10230):1101-2. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
30. Ju B, Zhang Q, Ge X, Wang R, Yu J, Shan S, et al. Potent human neutralizing antibodies elicited by SARS-CoV-2 infection. *bioRxiv.* 2020. [\[Crossref\]](#)
31. Hachim A, Kavian N, Cohen CA, Chin AWH, Chu DKW, Mok CKP, et al. Beyond the spike: identification of viral targets of the antibody responses to SARS-CoV-2 in COVID-19 patients. *medRxiv.* 2020. [\[Crossref\]](#)
32. Wu F, Zhao S, Yu B, Chen YM, Wang W, Song ZG, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature.* 2020;579(7798):265-9. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
33. Long QX, Liu BZ, Deng HJ, Wu GC, Deng K, Chen YK, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. *Nat Med.* 2020;26(6):845-8. [\[PubMed\]](#)
34. World Health Organization. "Immunity passports" in the context of COVID-19. [\[Link\]](#)