

# 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<sup>a</sup>

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul, TÜRKİYE

**ÖZET** Şiddetli akut solunum sendromu ilişkili bir coronavirüsün (Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus; SARS-CoV-2) etiyolojik etkeni olduğu coronavirüs hastalığı 19 (coronavirus disease 19; COVID-19) pandemisi mevcut ve olası sonuçları açısından tüm dünyayı etkisi altına almıştır. COVID-19 oldukça özgün virolojik, klinik ve immünolojik karakteristik özelliklere sahiptir. COVID-19’lu hastalarda SARS-CoV-2’ye karşı antikor yanıtlarının karakterize edilmesi ve tanımlanması salgının dinamiklerinin anlaşılması ve daha etkin mücadele stratejilerinin geliştirilmesi 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 için amacıyla kullanılan serolojik deneylerin özgüllüğü ve validasyonu ile ilişkilidir. COVID-19’da hastaların bir kısmında antikor yanıtlarının zayıf olması ve diğer coronavirüsler ile ilişkili çapraz reaktivitenin varlığı serolojik deneylerin güvenilirliğini sınırlandırabilmektedir. Bu nedenle anti-SARS-CoV-2 antikorlarının kinetiği, antikor ilişkili immünitenin etkinliği ve immüno-patogenezinin anlaşılması ile spesifik ve valide serolojik testlerin geliştirilmesi hususunda yoğun bir araştırma çabası mevcuttur. Bu derlemede COVID-19’lu hastalarda anti-SARS-CoV-2 antikorlarının kinetiği, antikor ilişkili immünitenin etkinliği ve serolojik tanıya ilişkin gelişmelerin irdelenmesi amaçlanmıştır.

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

**ABSTRACT** The Coronavirus disease 19 (COVID-19) pandemic which is the etiological agent of severe acute respiratory syndrome-associated 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 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 coronaviruses 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 developments related to serological diagnosis.

**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.

SARS-CoV-2 enfeksiyonuna karşı oluşan humoral tipteki bağışıklığın süresi, pandeminin ve pandemi sonrası dinamiklerin genel seyrini belirleyeceği için

**Correspondence:** Bülent ÇAKAL

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, 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/>).

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

Cornavirüs (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 gün (8-15.2 gün), SARS-CoV-2 için ortalama 11 gün (7.25-14 gün), MERS-CoV için ise ortalama 16 gün (13-19 gün), IgG zaman içinde azalarak genelde 1 yıla kadar tespit edilebilir düzeylerde (nadiren 3 yıla kadar) bulanabilmekte, antikor titreleri semptomların şiddeti ile korelasyon gösterebilmekte ve daha uzun süreler tespit edilebilir düzeylerde olabilmekte, deneysel insan çalışmalarında aynı suş ile bir yıl sonra reenfeksiyon gözlenebilmekte fakat hastalık olasılıkla düşük şiddette seyredilebilmekte, çapraz reaktivite olabilmesine karşın bu özellikle alfa ve betacoronavirüsler arasında minimal düzeyde gerçekleşmekte buna karşın endemik hCov yeni ortaya çıkan hCoV, SARS-CoV ve MERS-CoV'lere karşı nadiren çapraz koruma sağlayıcı antikorları indüklemekte, var olan antikorların yoğunluğu ve düzeyinin hastalık şiddeti üzerine etkisi açık değil, 4 endemik hCoV ile ilk enfeksiyon yaşı ortalama 4.8, seroprevalans çocukluk döneminde hızla artış gösterip erişkin dönemde devam edebilmekte, seroinsidans yaştan bağımsız çoğu çalışmada yaşlı popülasyonda koronavirüs insidansı gösterilmiş, mevcut veriler gelecekteki olası riskler üzerinde koronavirüs immünitesinin ölçülebilir bir etkisine işaret etmekle birlikte bu korumanın kısa süreli ve/veya geçici olabileceği öngörülmektedir.<sup>1,2</sup>

Coronavirüslere karşı antikor yanıtları genellikle hastalık belirtilerini izleyen 2-3. 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 zamanı nö-

tralizan antikorlar, IgM ve IgG için sırasıyla 11, 12 ve 14 gün olarak rapor edilmektedir.<sup>3</sup>

RT-PCR konfirme ve klinik şüpheli toplam 1343 COVID-19'lu hastayı içeren ve vakaların yaklaşık %99'da iki aşamalı ELISA testi 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 iki hafta sonra uygulanması gerektiği önerilmiştir.<sup>4</sup>

Genel olarak rapor edilen anti-CoV antikorlarının kinetiği; IgA, IgM ve IgG titrelerinin hastalık belirtilerinden bir hafta sonra arttığı, IgM düzeylerinin zamanla azalmaya başladığı, IgG ve nötralizan antikor düzeylerinin ise CoV'in 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.<sup>2,5</sup>

Genç (21-40 yaş) ve ileri yaş ( $\geq 65$  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.<sup>6-9</sup> Bu açıdan her serotip yaşam boyu homolog immünite sağlıyorsa ileri yaşta koronavirüs enfeksiyonlarının önemli bir bölümünün önlenilebilir olması öngörülebilir buna karşın immünitenin 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.<sup>2</sup>

Humoral immün yanıtlar sitopatik virüslerin klenrensine ek olarak reenfeksiyonları önlemek için gerekli immün belleğin oluşturulmasında kritik öneme

sahiptirler. Bu açıdan SARS-CoV-2'ye karşı B hücre bellek yanıtlarının süresinin bilinmesi tıbbi ve sosyal sonuçları nedeniyle gereklilik arz etmektedir. Çok sınırlı sayıda yapılan çalışmalarda COVID-19'lu hastalarda foliküler T yardımcı hücre sürkülasyonunda artış ile eş zamanlı CD38<sup>Hi</sup>CD27<sup>Hi</sup> antikor sekresyonu gerçekleştiren hücrelerin indüksiyonu tanımlanmıştır.<sup>10</sup>

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.<sup>3,11</sup> İnsanlar üzerinde yapılan deneysel enfeksiyon çalışmalarından elde edilen veriler İnsan koronavirüs (human:hCov) enfeksiyonları sonrası oluşan antikorların reenfeksiyondan koruyucu etkinliğinin son enfeksiyon sonrası bir ve ya 2 yıl ile sınırlı olduğu yönünde olmasına karşın, yapılan çalışmaların çoğu patojenitesi düşük hCoV'ler ile gerçekleştirildiğinden nahi bir değerlendirme yapmayı zorlaştırmaktadır.<sup>12-14</sup> 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 229E HCoV gibi mevsimsel hCoV ile yapılan sınırlı İnsan çalışmalarından elde edilen verilerin de açık ve yeterli kanıt içermediği, insanlarda yapılan doğal ve deneysel enfeksiyon çalışmalarının, endemik insan alfa ve beta-koronavirüsler ile SARS ve MERS-CoV'ler arasında minimal düzeyde çapraz reaktivitenin varlığına işaret ettiği rapor edilmektedir.<sup>2</sup>

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 (varicella aşısı)] SARS-CoV'lere karşı

çapraz koruma sağlayabildiği ve bu nedenle çocuklarda SARS-CoV enfeksiyonunun erişkinlere oranla daha az şiddetli seyrettiği öngörülmesine karşın SARS-CoV ile gerçekleştirilen deneysel fare çalışmalarında çapraz reaksiyonun varlığı tespit edilmiştir.<sup>15,16</sup>

Serolojik deneyler toplumdaki gerçek enfeksiyon ve immünite oranlarının ve enfeksiyon fatalite oranlarının belirlenmesine yönelik retrospektif serosürveyans (seroepidemiolojik) çalışmalarının gerçekleştirmesi, 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 (lar) 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'lu hastalarda koruyucu ve/ya tedavi edici NAb titreleri farklı olabilmesi nedeniyle COVID-19'un profilaksisi veya tedavisi amacıyla iyileşen hastalardan elde edilen serum veya konvelasan plazmaların transfüzyon öncesi nötralizasyon testlerinin yapılmasının önemli ve gerekli olduğu da belirtilmektedir.<sup>17</sup> Bu nedenle tüm dünyada anti-SARS-CoV antikorlarının duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek ve ayrıca güvenilir bir şekilde tespitine imkan veren serolojik testlerin geliştirilmesi ve optimizasyonuna yönelik yoğun bir çaba mevcuttur.<sup>18-22</sup>

SARS-CoV-2'ye karşı oluşan antikor yanıtlarını tanımlamak için ağırlıklı olarak, Enzim bağlı immunosorbent assay (enzyme linked immunosorbent assays; ELISA), immünfloresan deneyleri (immunofluorescence assays; IFA), Westren blot (Western blots), 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 imkan 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 nedeniyle rutin laboratuvarlarda uygulanması zordur, canlı virüs kullanımına alternatif olarak bu amaçla lentivirüsler veya vesicular stomatitis gibi vektör virüsler kullanılabilir olmasına karşın bunlarında rutin laboratuvarlarda kullanımı sınırlıdır. Bu nedenle rutin laboratuvar pratiğinde bu sorununun 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 güvenilirlikleri en azından nötralizasyon deneylerine göre sınırlıdır. Serolojik analizler amacıyla hasta serum örneklerine ek olarak sürüntü ve ya 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-SARSCoV-2 antikorlarını kalitatif ve kantitatif düzeyde ölçmeye imkan vermeli, serosürveyans çalışmaları için enfeksiyon ve enfeksiyon fatalite oranlarını doğru ve kesin belirleyebilmeli, konvelasan 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. SARSCoV'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 konudur.<sup>2,23</sup>

SARS-CoV-2 spike proteini ACE2 reseptör aracılığıyla virüsün konak hücreye girişinden sorumlu olması, nötralizan antikor indüksiyon kapasitesi ve türe özgü antijenik özgüllüğü nedeniyle en temel immünojenik hedeflerdir.<sup>24,25</sup> Spike 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 C-terminal domain (S1-CTD) olmak üzere iki önemli domain içerir, S1 domainlerinden biri ya da ikisi potansiyel olarak reseptörü bağlar ve reseptör bağlayan domaini (RBD) olarak işlev görür.<sup>26,27</sup>

Dolayısıyla serolojik tanı amacıyla immünojenik hedef olarak S proteininin hangi bölge ve ya da bölgelerinin kullanılması gerektiği konusunda da henüz net bir uzlaşma yoktur. Bu açıdan SARS-CoV-2'in tam uzunluktaki spike protein ve RBD'nin antijenik hedef olarak kullanıldığı bir in-house ELISA çalışmasında, COVID-19'lu hastaların serum örneklerinin her iki antijenik proteine karşı reaktivite verdiği, buna karşın S proteinin RBD domainine 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 nedeniyle serolojik tanıda tam uzunluktaki viral spike proteininin kullanılmasının tercih edilebilir olduğu ifade edilmiştir.<sup>18</sup>

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'in S2 proteinleri ve RBD domainleri arasında sırasıyla %90 ve %73 oranında aminoasit benzerliği olmasına karşın bazı hastalarda RBD'ye karşı çapraz reaksiyon geliştiği, buna karşın SARS-CoV-2 ve SARS-CoV'in S protein epitopları arasında

çapraz nötralizasyon yanıtlarının çok nadir görüldüğü dolayısıyla SARS-CoV-2 ve SARS-CoV'in arasında çapraz reaksiyon veren epitoplara varlığının nötralizasyon testleri dışında kullanılacak serolojik testlerin tanınma duyarlılığını azaltan bir engel teşkil edebileceğine de işaret edilmiştir.<sup>28</sup> Dolayısıyla SARS-CoV-2'ye spesifik antikor ilişkili nötralizasyonun ağırlıklı olarak virüsün S protein RBD domeni içerisindeki epitoplara ile ilişkili olduğu anlaşılmaktadır.

Bununla birlikte S protein RBD'ni yüksek immünojenik özelliğe sahip olduğu ve bu protein domaninin 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.<sup>17,20,29-31</sup>

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

SARS-CoV-2 ve SARS-CoV spike proteinleri arasında %77.2 oranında aminoasit benzerliğine ek olarak MERS-CoV'le de arasında potansiyel korunmuş epitoplara varlığı ve ayrıca insan popülasyonunun büyük çoğunluğunda diğer endemik dört 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.<sup>20,32</sup> Bu nedenle SARS-CoV-2'ye karşı geliştirilecek serolojik testlerin diğer dört endemik hCoV ile çapraz reaktivite vermemesi beklenir.

SARS-CoV-2'in S proteinini dışındaki immünojenik hedeflerin serolojik testler amacıyla kullanılabilirliğinin belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada

ise S proteinine benzer şekilde virüsün yapısal ve yapısal olmayan proteinlerine karşı da antikor yanıtlarının geliştiği, viral ORF8 ve ORF3'e karşı hastalarda antikor yanıtlarının daha erken geliştiği, N antijenin daha immünojenik bir epitop olduğu, bu açıdan SARS-CoV-2'in N, ORF8 ve ORF3'in COVID19 hastalarında serolojik tanı amacıyla kombine kullanımının testlerin tanınma duyarlılığı ve özgüllüğünü artırabileceği rapor edilmiştir.<sup>28</sup> COVID19'lu hastaların serum örneklerinde manyetik kemilüminesans immünassay (MCLIA) yöntemi kullanılarak yapılan bir çalışmada SARS-CoV-2 S1 proteinini için çapraz bağlanma tespit edilmemesine karşın nükleokapsid antijeni için ise çapraz reaksiyon varlığının tespit edildiği rapor edilmiştir.<sup>33</sup>

Serolojik testlerin tanınma duyarlılığına ilişkin diğer bir bariyer ise özellikle asemptomatik, subklinik, hafif ve orta seyirli hastalık aktivitesine sahip COVID19'lu hastalarda düşük düzeylerde antikor yanıtlarının varlığı ile ilişkilidir. Daha önceki CoV enfeksiyonlarına yönelik serolojik çalışmalarda 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 COVID19 sonrası iyileşen hastalarda NAb'ların saptanmasına yönelik bir çalışmada, özellikle genç hastaların %30'da yüksek titrelerde NAb saptanamadığı bu hastaların bir kısmında (%6) ise çok düşük ya da tanımlanabilir düzeyin altında NAb titreleri varlığı rapor edilmiştir.<sup>18</sup>

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 ELİSA esaslı serolojik testler geliştirdiklerini rapor etmekle birlikte rapor edilen ön çalışmalarında ağırlıklı olarak antikor yanıt düzeyi ve titreleri yüksek olması beklenen şiddetli COVID19'lu hastalara ait serum örneklerini kullandıkları anlaşılmaktadır, bu nedenle tercih edilecek yöntem ve metodun analitik analizle-

rinin dikkatle yapılması güvenilir serolojik raporlama için önem arz etmektedir. Yeni CoV enfeksiyonlarının endemik ve diğer yeni CoV'ler sonucu özellikle virüsün reseptöre bağlanmasını sağlayan protein domaine karşı oluşan bağlanan antikorlar karşı çapraz reaktiviteyi indüklediği buna karşın virüslerin antijenik yapılarındaki evrilme sonucunda bu etkinin azaldığı de rapor edilmektedir.<sup>2</sup>

Bu açıdan Dünya sağlık örgütü (WHO); herhangi bir bireyde serolojik olarak COVID19 ile ilişkili geçmiş veya mevcut anti-SARS-CoV-2 antikorlarının tespiti ve/ya varlığının bu antikorların her bireyde tam olarak koruyucu nitelikte olduğunu göstermeyebileceğini, dolayısıyla kısmi immünitelye sahip bireylerin tekrar enfekte olabileceğini, fakat re-enfeksiyonun 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 aksamlara ve istenmeyen sonuçlara neden olabileceğini, bu nedenle bireysel risk değerlendirmesi için serolojik testlerin uygulanmadan önce COVID19 immünolojisi ile korelasyonunun anlaşılmasının kritik önem taşıdığını deklare etmiştir.<sup>34</sup> 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 nedeniyle henüz uygulanabilir görülmemektedir.

Özetle hastalığın immünpatogenezi ile salgının seyri ve nihai sonuçları henüz açık değildir. Anti-SARS-CoV-2 antikorlarının kinetiği, antikor ilişkili immünitelenin 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 edilmesi planlanan koruyucu bağışıklığın salgın mücadele için dönüm noktası teşkil ettiği, aksi halde dünya popülasyonunun yaklaşık %80'inin virüs ile teması gerçekleşene kadar yaşam ve yaşam alanlarının eski normale dönmeyen olası görülmediği, dolayısıyla salgınının kontrolü ve mücadelesi süresince ihtiyatlı karar ve davranışların yaşamsal önem arz ettiği öngörülebilir. Nihayetinde COVID19'un yeniçağın 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 serüveni 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 etkileyecek 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

1. Lee, N. et al. Anti- SARS- CoV IgG response in relation to disease severity of severe acute respiratory syndrome. *J. Clin. Virol.*2006; 35: 179–184.
2. Huang A.T., Garcia-Carreras B., Hitchings M.D.T, Yang B., Cummings D.A.T. A systematic review of antibody mediated immunity to coronaviruses: antibody kinetics, correlates of protection, and association of antibody responses with severity of disease. *medRxiv* doi:10.1101/2020.04.14.20065771.
3. Zhao J., Yuan Q., Wang H., Liu W., Liao X., Su Y., Wang X., et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. *Clin. Infect. Dis.* 2020.
4. Wajnberg A, Mansour M, Leven E, Bouvier N.M. Patel G, Firpo A. Humoral immune response and prolonged PCR positivity in a cohort of 2 SARS-CoV 2 patients in the New York City region. *medRxiv* 2020; doi.org/10.1101/2020.04.30.20085613.
5. Cao, W.-C., Liu, W., Zhang, P.-H., Zhang, F. & Richardus, J. H. Disappearance of antibodies to SARS-associated coronavirus after recovery. *N. Engl. J. Med.* 2007;357, 1162–1163.
6. 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, 43.
7. Schmidt, O. W., Allan, I. D., Cooney, M. K., Foy, H. M. & Fox, J. P. Rises in titers of antibody to human coronaviruses OC43 and 229E in Seattle families during 1975-1979. *Am. J. Epidemiol.* 1986; 123, 862–868.
8. Gorse, G. J., Donovan, M. M. & Patel, G. B. 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, 512–517.
9. Gaunt, E. R., Hardie, A., Claas, E. C. J., Simmonds, P. & Templeton, K. E. 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, 2940–2947.
10. Thevarajan I., Nguyen T.H.O., Koutsakos M., Druce J., Caly L., van de Sandt C.E. et al. Breadth of concomitant immune responses prior to patient recovery: a case report of non-severe COVID-19. *Nat. Med.*2020.
11. Okba N.M.A., Muller M.A., Li, W. Wang, C. GeurtsvanKessel C.H., Corman V.M. et al. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2-Specific Antibody Responses in Coronavirus Disease 2019 Patients. *Emerg. Infect. Dis.*2020.
12. Callow, K. A., Parry, H. F., Sergeant, M. & Tyrrell, D. A. The time course of the immune response to experimental coronavirus infection of man. *Epidemiol. Infect.* 1990; 105, 435–446.
13. Kissler, S. M., Tedijanto, C., Goldstein, E., Grad, Y. H. Lipsitch, M. Projecting the transmission dynamics of SARS-CoV-2 through the post-pandemic period. *Epidemiology* 2020.
14. Eyal, N., Lipsitch, M. & Smith, P. G. Human challenge studies to accelerate coronavirus vaccine licensure. *J. Infect. Dis.* 2020; doi:10.1093/infdis/jiaa152.
15. Chan, K.-H. 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, 130–140.
16. Yu, Y. et al. Children's vaccines do not induce cross reactivity against SARS-CoV. *J. Clin. Pathol.* 2007; 60, 208–211.
17. Wu F, Wang A., Liu, M., Wang Q., Chen, J., Xia S. Neutralizing antibody responses to SARS-CoV-2 in a COVID-19 recovered patient cohort and their implications. *medRxiv* 2020;03.30.20047365.
18. Krammer F. et al. A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans. *Nature medicine* 2020.
19. Stadlbauer D, Amanat F, Chromikova V, Jiang K, Strohmaier S, Krammer F. SARS-CoV-2 Seroconversion in Humans: A Detailed Protocol for a Serological Assay, Antigen Production, and Test Setup. *Current Protocols in Microbiology*, 2020; 57, e100. doi: 10.1002/cpmc.100.
20. Koopmans M.P.G., Haagmans B.L: SARS-CoV-2 specific antibody responses in COVID-19 patients. *medRxiv* doi: org/10.1101/2020.03.18.20038059.
21. Krammer F. et al. SARS-CoV-2 Seroconversion in Humans: A Detailed Protocol for a Serological Assay, Antigen Production, and Test Setup. *Current Protocols in Microbiology* 2020; e100, 57:1-5.
22. Tan C.V et al. COVID-19, serological test, detection of neutralizing antibodies , SARS-CoV-2. surrogate virus neutralization test. *Nature research* 2020; doi:10.21203/rs.3.rs-24574/v1.
23. Meyer B, Drosten C, Müller MA. Serological assays for emerging coronaviruses: challenges and pitfalls. *Virus Res.* 2014;194:175–83.
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;180:1-12.
25. Paules CI, Marston HD, Fauci AS. Coronavirus Infections-More Than Just the Common Cold. *JAMA.* 2020.
26. Tortorici, M.A., Walls, A.C., Lang, Y., Wang, C., Li, Z., Koerhuis, D., Veesler, D. et al. Structural basis for human coronavirus attachment to sialic acid receptors. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2019; 26, 481–489.
27. Li F. Structure, Function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins. *Annu Rev Virol.* 2016; 29;3(1):237-26.
28. Huibin Lv, Nicholas C. Wu, Owen T-Y.T., Yuan M, Ranawaka A. P., Perera M. Cross-reactive antibody response between 2 SARS-CoV-2 and SARS-CoV infections. *bioRxiv* 2020; doi.org/10.1101/2020.03.15.993097.
29. Petherick A. Developing antibody tests for SARS-CoV-2 Laboratories and diagnostic companies are racing to produce antibody tests, a key part of the response to the COVID-19 pandemic. *Lancet.*2020; 395.
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; 03.21.990770.
31. Hachim A, Kavian N, Cohen C.A., Chin A.W.H., Chu D.K.W., Mok C.K.P. Beyond the Spike: identification of viral targets of the antibody responses to 2 SARS-CoV-2 in COVID-19 patients. *medRxiv.* 2020; doi:10.1101/2020.04.30.20085670.
32. Wu F, Zhao S, Yu B, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature* 2020; 579: 265-9.
33. Long Q-X., Liu B-Z., Huang A-L. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. *Nature medicine.* 2020; doi.org/10.1038/s41591-020-0897-1.
34. www.who.int/news-room/commentaries/detail/immunity-passports-in-the-context-of-covid-19.