



**TÜRKİYE’DE SARS-CoV-2 VİRÜSÜNÜN S GENİ MUTASYONLARININ
ARAŞTIRILMASI VE FİLOGENETİK ANALİZLER**

Aslı AĞAR

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

NİSAN 2023

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Aslı AĞAR

19/04/2023

TÜRKİYE’DE SARS-CoV-2 VİRÜSÜNÜN S GENİ MUTASYONLARININ ARAŞTIRILMASI VE FİLOGENETİK ANALİZLER

(Yüksek Lisans Tezi)

Aslı AĞAR

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Nisan 2023

ÖZET

Aralık 2019’un sonlarında, Çin’in Wuhan şehrinde tanımlanamayan bir mikrobiyal ajan nedeniyle viral pnömoni ile başvuran hastalar bildirilmiştir. Daha sonra bu patojen yeni bir koronavirüs olarak tanımlanmış ve SARS-CoV-2 olarak adlandırılmıştır. Genom dizisi olarak 2019-nCoV’un Doğu Çin’in Zhoushan kentinde 2018’de toplanan iki yarasa kaynaklı bat-SL-CoVZC45 ve bat-SL-CoVZXC21 ile yakından ilişkili ancak SARS-CoV ve MERS-CoV’den daha uzak ilişkili olduğu bulunmuştur. Çalışmamız Türkiye’deki COVID-19 mutasyonlarının seyrinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir. COVID-19 hastalık etkeni SARS CoV-2 virüsünü saptamak için önerilen mevcut laboratuvar testi stratejisi, SARS-COV-2’ye özgü gen bölgelerinin varlığını tespit etmek amaçlı yapılan SARS CoV-2 Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) testidir. Gerçekleştirilmiş olan RT-PCR testi sonuçlarında; CT (eşik döngüsü) 20-25 aralığında bulunan ve yüksek pozitif olarak belirlenen virüs örnekleri kullanılmıştır. Hastalık etkeni SARS CoV-2 virüsünü tespit etmek için 2021 ve 2022 yılları boyunca Covid-19 pozitif tanısı konulan ve eşik döngüsü koşullarını sağlayan, rastgele 30 hastadan elde edilmiş olan viral RNA (sürüntü örneklerinden izole edilmiş) izolatları kullanılmıştır. Dünya Sağlık Örgütü SARS-CoV-2’nin varyantlarını, dikkate alınması gereken varyantlar (VOI) ve endişe verici varyantlar (VOC) olarak ikiye ayırmaktadır. Endişe verici varyantlardan; en az değişikliğe uğradığı belirtilen ve virüsün hücreye girişi açısından önemli olan S “spike” proteininde ve de özellikle bu proteinin reseptör bağlanma bölgesinde olan değişimler üzerindeki mutasyonlar VOI grubu içindedir. Çalışmamızda, Spike bölgesini hedefleyen spesifik primer çiftleri kullanılarak yapılan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) çalışmaları sonrasında elde edilen ürünler Yeni Nesil Dizileme (NGS) tekniği kullanılarak DNA dizi analizi yapılmış ve elde edilen S geni mutasyonları karşılaştırılmıştır. Elde edilen verilerin analizinden çıkan sonuçlar numune alım zamanları ve aynı nokta mutasyonları ile karşılaştırmalı olarak incelenmiştir.

Bilim Kodu : 20326
Anahtar Kelimeler : COVID-19, spike proteini, yeni nesil dizileme, tamura-nei modeli
Sayfa Adedi : 91
Danışman : Prof. Dr. Leyla AÇIK

INVESTIGATION OF S GENE MUTATIONS OF SARS-CoV-2 VIRUS IN TURKEY AND PHYLOGENETIC ANALYSES

(M. Sc. Thesis)

Aslı AĞAR

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

April 2023

ABSTRACT

In late December 2019, patients presenting with viral pneumonia due to an unidentified microbial agent were reported in Wuhan, China. Later, this pathogen was identified as a new coronavirus and named SARS-CoV-2. As the genome sequence, 2019-nCoV was found to be closely related but more distantly related than SARS-CoV and MERS-CoV, two bat-derived bat-SL-CoVZC45 and bat-SL-CoVZXC21 collected in 2018 in Zhoushan, eastern China. Our study was carried out to determine the course of COVID-19 mutations in Turkey. The current laboratory testing strategy recommended for detecting the COVID-19 disease agent SARS CoV-2 virus is the SARS CoV-2 Real-Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) test to detect the presence of gene regions specific to SARS-COV-2. In the results of the RT-PCR test performed; Virus samples with CT (threshold cycle) in the 20-25 range and determined as high positive were used. To detect the disease agent SARS CoV-2 virus, viral RNA isolates (isolated from swab samples) obtained from 30 randomly diagnosed patients who were diagnosed as Covid-19 positive and met the threshold cycle conditions during the years 2021 and 2022 were used. The World Health Organization divides variants of SARS-CoV-2 into variants to be considered (VOI) and variants of concern (VOC). Of the worrying variants; Mutations in the S “spike” protein, which is stated to be the least modified and important for the virus to enter the cell, and especially on the changes in the receptor binding region of this protein, are in the VOI group. In our study, the products obtained after PCR studies using specific primer pairs targeted the spike region. The S protein mutations obtained were sequenced using the Next Generation Sequencing (NGS) technique and compared. The analysis of the obtained data was compared with the sampling times and the same point mutations.

Science Code : 20326

Key Words : COVID-19, spike protein, next generation sequencing, tamura-nei model

Page Number : 91

Supervisor : Prof. Dr. Leyla AÇIK

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmalarım sırasında bana yol gösteren, bilgisi, tecrübesi ve önerileri ile bana destek olan, çok kıymetli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Leyla AÇIK'a;

Tez çalışmalarım boyunca desteğini esirgemeyen Dr. N. Aytuna ÇERÇİ'ye;

Laboratuvar çalışmalarım boyunca yanımda olan; Bora ERGİN'e, Deniz MUCUR'a, Tuba GÜMÜŞ'e, Merve HEZER'e, Rabia ŞEN'e, Yiğit Can ATEŞ'e, tüm dostlarıma ve aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	x
RESİMLERİN LİSTESİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	3
2.1. Koronavirüsün Tarihçesi	3
2.2. CoV'lerin Filogenetik Sınıflandırılması ve SARS-CoV-2'nin Yeri	5
2.3. SARS-CoV-2	9
2.3.1. SARS-CoV-2 morfolojisi ve genom yapısı.....	9
2.3.2. SARS-CoV-2'nin kaynağı.....	11
2.3.3. SARS-CoV-2'nin hücreye girişi ve replikasyonu	13
2.4. COVID-19	15
2.4.1. COVID-19 epidemiyolojisi	15
2.4.2. COVID-19 bulaş yolları	18
2.4.3. COVID-19 klinik özellikleri	20
2.4.4. COVID-19 tanı yöntemleri.....	29
3. MATERYAL VE METOD	45
3.1. Materyal.....	45
3.2. Çalışmada Kullanılan Cihazlar, Tanı Kitleri ve Malzemeler	45

	Sayfa
3.3. Real-Time PZR Testi	45
3.4. Genomik Materyal Eldesi ve Muhafazası.....	46
3.5. cDNA Sentezi	47
3.6. Örneklerin Amplifikasyonu	48
3.7. Agaroz Jel Elektroforezi	49
3.8. Yeni Nesil Dizileme (NGS).....	50
3.9. Veri Analizi	51
3.9.1. Yeni nesil sekanslama veri analizi	51
3.9.2. Karşılaştırmalı veri analizi	52
4. BULGULAR	55
4.1. Real-Time PZR Sonuçları.....	55
4.2. Amplifikasyon Sonrası Jel Görüntülenmesi	56
4.3. Yeni Nesil Dizileme ve Veri Analizi	58
5. TARTIŞMA	69
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	73
KAYNAKLAR	75
EKLER.....	83
EK-1. Çalışmada Tespit Edilen Mutasyonlar	84
ÖZGEÇMİŞ	91

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Yaş grubuna göre COVID-19 enfeksiyonu, hastaneye yatış ve ölüm riski	18
Çizelge 2.2. COVID-19 hastalarında sık görülen belirtiler	21
Çizelge 2.3. COVID-19’da ciddi hastalık riskini artıran temel tıbbi durumların listesi.	25
Çizelge 2.4. Uzun COVID-19’da sık bildirilen semptom veya bulgular	26
Çizelge 2.5. CDC MIS-C tanı kriterleri	28
Çizelge 2.6. COVID-19 vaka tanımı.....	30
Çizelge 3.1. Bioeksen Double Gene kit içeriği.....	46
Çizelge 3.2. Real-Time PZR amplifikasyon programı aşamaları	46
Çizelge 3.3. Viral örneklerin numaraları ve alınma tarihleri	46
Çizelge 3.4. Viral RNA izolasyon kiti uygulama basamakları	47
Çizelge 3.5. cDNA sentezi için üreticinin önerdiği protokol basamakları	48
Çizelge 3.6. Reaktif karışımının hazırlanma miktarları.....	48
Çizelge 3.7. Yeni nesil dizilemeye çalışmaları için tasarlanan primerler.....	49
Çizelge 3.8. Amplifikasyon koşulları	50
Çizelge 3.9. PZR amplifikasyonu için kullanılan reaktif karışımı.....	50
Çizelge 3.10. Havuzların oluşturulmasında kullanılan miktarlar	51
Çizelge 3.11. Çin, Almanya, Yunanistan, Pakistan, Suudi Arabistan ülkelerinin veri setlerinin referans kodları	53
Çizelge 4.1. Yapılan analizlerde elde edilen CT (Eşik döngüsü) değerleri	56
Çizelge 4.2. Spike bölgesine özgü primerler	56

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. CoV’lerin filogenetik sınıflandırılması.....	6
Şekil 2.2. CoV evriminin bir modeli.....	6
Şekil 2.3. Dört cins koronavirüsün genom yapısı	8
Şekil 2.4. CoV’lerin bir filogenetik ağacı	9
Şekil 2.5. SARS-CoV-2’nin bir çizimi	10
Şekil 2.6. SARS-CoV-2’nin genom yapısı	10
Şekil 2.7. Koronavirüslerin bir ekolojik modeli	12
Şekil 2.8. Tam uzunluktaki virüs genomunun filogenetik ağacı	13
Şekil 2.9. Hedef proteinleri ve konakçı giriş mekanizmasını gösteren SARS-CoV-2’nin şematik gösterimi	14
Şekil 2.10. SARS-CoV-2’nin konak hücrelerdeki yaşam döngüsü	15
Şekil 2.11. DSÖ bölgelerine göre vaka sayısı.....	17
Şekil 2.12. Nazofarengeal numune alımı.....	32
Şekil 4.1. Real-Time PZR sonuçları	55
Şekil 4.2. IGV örnek analiz görüntüsü.....	59
Şekil 4.3. Örneklerde en çok mutasyon saptanan 10 örnek ile örneklerde en sık gözlemlenen nükleotid değişimi	59
Şekil 4.4. Analizi yapılan 14 örnekte en sık görülen nükleotid ve protein değişimleri..	60
Şekil 4.5. Spike proteinde gözlemlenen mutasyonların koordinatları	60
Şekil 4.6. Örneklerde tespit edilmiş olan mutasyonların bulunma durumu.....	61
Şekil 4.7. 1707 refererans genom kullanılarak SARS-CoV-2 için oluşturulmuş filogenetik ağaç.....	62
Şekil 4.8. Elde edilen örneklerin filogenetik ağaçtaki konumları-1	64
Şekil 4.9. Elde edilen örneklerin filogenetik ağaçtaki konumları- omikron varyantları	65

Şekil	Sayfa
Şekil 4.10. Çin, Almanya, Yunanistan, Pakistan, Suudi Arabistan bölgelerinde yayınlanmış veri setleri ile çalışması gerçekleştirilen örneklerin dizilerinden oluşturulan filogenetik ağaç modeli	67
Şekil 4.11. Filogenetik ağaç oluştururken kullanılan parametreler	68

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1. Çalışılan örneklerin jel görüntüsü-1, referans bp görüntüsü	57
Resim 4.2. Çalışılan örneklerin jel görüntüsü-2, referans bp görüntüsü	58

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklamalar

.bam

Dosya uzantısı

°C

Santigrat derece

µl

Mikrolitre

Dk.

Dakika

V

Voltaj

X

Kat ifadesi

Kısaltmalar

Açıklamalar

CDC

Hastalık Kontrol Merkezi

CoV

Koronavirüs

CT

Döngü eşiği

DSÖ

Dünya Sağlık Örgütü

HE

Hemaglutinin Esteraz

HSYS

Halk Sağlığı Yönetim Sistemi

MERS

Orta Doğu Solunum Sendromu

NGS

Yeni Nesil Dizileme

NSP

Yapısal Olmayan Proteinler

ORF

Açık Okuma Çerçevesi

PP

Polipeptit

PZR

Primeraz Zincir Reaksiyonu

RTK

Replikasyon-Transkripsiyon Kompleksi

1. GİRİŞ

2019 yılının Aralık ayında Wuhan kentinden (Çin) tüm Dünya'ya yayılan Şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs 2 (SARS-CoV-2), 2020 yılının Mart ayından itibaren Dünya Sağlık Örgütü tarafından pandemi olarak kabul edilmeye başlanmıştır. COVID-19'a neden olan virüs, şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs 2 (SARS-CoV-2); daha önce 2019-nCoV olarak adlandırılıyordu. SARS-CoV-2 de yeni insan konaklarına adapte olurken, zaman içinde mutasyonların gelişmesiyle yeni varyantlar ortaya çıkmıştır. Türkiye'deki ilk COVID-19 vakası 9 Mart 2020'de hastaneye başvuran 44 yaşında bir erkek hastaydı. İlgili ilk ölüm ise 17 Mart 2020'de gerçekleşmiştir. Pandemik Grip Ulusal Hazırlık Planı 2006 yılında hazırlanmıştır ve 2009 Grip A salgını sırasında kazanılan deneyimler ışığında güncellendikten sonra COVID-19 pandemisi sırasında kullanıma sunulmuştur. Bu plana dayanarak ulusal ve il düzeyinde Pandemi Koordinasyon Kurulları ve Operasyon Merkezleri kurulmuştur. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü bünyesindeki Halk Sağlığı Acil Operasyon Merkezi'nde 7/24 çalışacak ekipler ve Bilim Kurulu oluşturulmuştur. “COVID-19 Risk Değerlendirmesi”, “COVID-19 Rehberi” ve “Vaka Rapor Formu”, kişisel koruyucu donanım düzenlemeleri ile ihtiyaca yönelik rehberler, tedavi algoritmaları, broşürler ve ilgili dokümanlar yayınlanmıştır. Vaka bazlı takip için Halk Sağlığı Yönetim Sistemi (HSYS) kullanılmaktadır. Merkezi Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarı ve birçok ilde bulunan yetkili laboratuvarlarda numunelerin analizinde PZR ve hızlı tanı kitleri kullanılmaktadır. Ülkemizde “pandemi planı”na uygun olarak çok sektörlü bir yaklaşımla, kamu ve özel sektörün beraber çalışmasıyla eylemler yürütülmüş ve toplumu bir bütün olarak kapsayacak şekilde önleyici tedbirler hayata geçirilmiştir.

Coronavirüslerin spike proteini, reseptör bağlanmasına ve konakçı hücrelere virüs girişine yardımcı olur. Spike proteini, reseptör aracılı virüs girişine yardımcı olurken, viral mimarinin en erişilebilir kısmı olduğu için bir immünojen olarak da son derece önemlidir. SARS-CoV-2 veya COVID 19, N (nükleokapsid), M (membran), E (zarf) ve S (spike) olmak üzere dört farklı yapısal proteine sahiptir. Tüm bu proteinler virüs yapısının bir parçası olmasına rağmen, virüs parçacığının dış yüzeyine doğru sadece E, M ve S açığa çıkar. S proteini, diğer yapısal proteinlerin dışına doğru çıkıntı yapan topuz benzeri bir yapı oluşturur. Monomer olarak bir S1 ve S2 içeren homotrimerler oluşturur ve birlikte viral sivri uçları oluştururlar. Virüsün yapısal proteinlerindeki mutasyonlar, antikor kaçış

varyantlarının oluşumunu ve hücresele tropizmi belirleyerek virülansta önemli rol oynar (Banerjee, Begum Ray, 2020).

Bu tez çalışmasının öncelikli amacı; ölkemizde görölen virüslerdeki evrimsel gelişime bakılarak, ileride meydana gelebilecek salgınlara karşı Türkiye’de alınabilecek önlemlerin ve geliştirilebilecek aşı ve benzeri uygulamaların yolunu açmak için araştırmacılara destek sağlamaktır. Bu sebeple çalışmamızda, ölkemizde SARS-CoV-2 virüsünün ortaya çıkışından başlayarak, viral mutasyonların seyrini belirlemek amacıyla, ORF bölgesinin yanında bulunan ve yapısal bir protein olan spike proteinini sentezleyen, spike geni üzerindeki mutasyonların yeni nesil dizileme yöntemiyle evrimsel gelişimi incelenmiştir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Koronavirüsün Tarihçesi

Koronavirüsler (CoV'ler) üzerine yapılan moleküler tarihleme araştırmaları, bu virüslerin en son ortak atalarının 10.000 yıl önce var olduğunu işaret etmektedir. Genel olarak CoV'lerin ideal konaklarının uçabilen, sıcakkanlı kuşlar ve memeli omurgalılar olduğu ve bu virüslerin evriminde ve yayılmasında ana faktörler olduğu düşünülmektedir (Wertheim, Chu, Peiris, Kosakovsky Pond ve Poon, 2013).

Hayvan CoV'lerinin solunum yollarında hastalıklara neden olduğu uzun süredir bilinmektedir. Şu anda kuş enfeksiyöz bronşit virüsünün (IBV, avian coronavirus) neden olduğu kuş enfeksiyöz bronşiti olarak bilinen enfeksiyonun, 1930'ların ortalarında tavukların ciddi bir solunum yolu enfeksiyonuna neden olduğu gösterilmiştir (Fabricant, 1998; Wertheim ve diğerleri, 2013).

İnsan koronavirüsleri (HCoV) dönemi ise 1960'lı yıllarda Tyrrell ve Bynoe tarafından Birleşik Krallık Soğuk Algınlığı Araştırma Birimi'ndeki insan katılımcılar üzerinde araştırma yaparken hafif üst solunum yolu enfeksiyonu (ÜSYE) olan kişilerin burun salgılarından doku kültüründe bir virüsü gözlemlediklerinde başlamıştır (Jaiswal ve Saxena, 2020; Tyrrell, Almeida, Cunningham, Dowdle, Hofstad, McIntosh, Tajima, Ya. Zakstelskaya ve Easterday, 1975).

Daha sonra 1966 yılında, Hamre ve Procknow soğuk algınlığı belirtileri olan bir tıp mezunundan farklı doku kültürü özelliklerine sahip yeni bir virüs (HCoV-229E) yetiştirmeyi başarmışlardır (Hamre ve Procknow, 1966; Jaiswal ve Saxena, 2020).

Yine 1960'lı yılların sonuna doğru, McIntosh ve arkadaşları trakeal organ kültüründe (OC) farelerin beyinlerine başarılı bir şekilde adapte edilen ancak doku kültüründe üremeyen IBV benzeri HCoV-OC43 gözlemlemiştir (McIntosh, Dees, Becker, Kapikian ve Chanock, 1967). HCoV-229E, HCoV-OC43 ve IBV'nin elektron mikroskobu altında benzer morfolojiye sahip olduğunun görülmesinin ardından bu virüslerin yeni grubuna 1968'de koronavirüs adı verilmiş ve 1975'te aile adı Coronaviridae olarak kabul edilmiştir (Jaiswal ve Saxena, 2020; Tyrrell ve diğerleri, 1975).

HCoV-229E ve HCoV-OC43'ün her ikisi de hafif şiddette soğuk algınlığı benzeri enfeksiyona neden olmaktadır ve metodolojik çalışma zorluğu nedeniyle HCoV üzerindeki çalışmalar yavaş ilerlemiştir (Kaslow, Stanberry ve Le Duc, 2014). Bu durum Şiddetli Akut Solunum Sendromunun (SARS) 2003 yılının Şubat ayı sonunda Çin'de ortaya çıkmasıyla son bulmuştur (Ksiazek ve diğerleri, 2003).

SARS ilk olarak 2003 yılının Şubat ayı sonunda Çin'de ortaya çıkan viral bir solunum yolu hastalığıdır. Genel olarak, SARS yüksek ateşle başlamakta ($>38.0^{\circ}\text{C}$), baş ağrısı, genel bir rahatsızlık hissi, ağrı ve hafif şiddette solunum belirtileri eşlik edebilmektedir. Hastaların yaklaşık %10-20'sinde ishal ve 2-7 gün sonra kuru öksürük eşlik edebilmektedir. Çoğu hastada pnömoni gelişmektedir. Ölümcül vakalarda akciğer, bağırsak, karaciğer, böbrek ve beyin dâhil olmak üzere birçok organda virüs bulunmaktadır (DSÖ, 2020). Virüsün zoonotik bir rezervuardan çıktığı bilgisi, olası kaynağının araştırılmasını teşvik etmiştir. Guangdong'daki canlı av hayvanı pazarlarındaki küçük memelilerin (misk kedileri) yakın ilişkili virüsler taşıdığı tespit edilmiştir (Guan ve diğerleri, 2003). Çin at nalı yarasalar, SARS benzeri koronavirüslerin doğal rezervuarları iken misk kedilerinin ara konak olduğu anlaşılmıştır (Epstein ve diğerleri, 2005; Lau ve diğerleri, 2005; Sadav, Hillis, Heller ve Berenbaum, 2014). SARS küresel salgını kontrol altına alınmadan önce Kuzey Amerika, Güney Amerika, Avrupa ve Asya'da iki düzineden fazla ülkeye yayılmıştır. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, 2003 salgını sırasında dünya çapında toplam 8.098 kişi SARS ile hastalanmış, bunlardan 774'ü ölmüştür (CDC, 2021). DSÖ vaka tanımını karşılayan hastalığı olan kişiler arasındaki vaka ölüm oranı yaklaşık % 3'tür (DSÖ, 2021). Şu anda, dünyanın hiçbir yerinde bilinen bir SARS iletimi bulunmamaktadır. En son SARS-CoV enfeksiyonu insan vakaları, Nisan 2004'te, laboratuvarında edinilen enfeksiyonlardan kaynaklanan bir salgında Çin'de bildirilmiştir (CDC, 2021).

Daha sonra 2004 yılında Amsterdam'da ateş ve bronşiolitli 7 aylık bir çocuktan ve yine aynı yıl Rotterdam'da pnömoni olan 8 aylık bir çocuktan HCoV-NL63 tanımlanmıştır (Fouchier ve diğerleri, 2004; Lia van der Hoek; ve diğerleri, 2004). Yine 2004 yılında Çin'de pnömoni nedeniyle hastaneye kaldırılan 71 yaşındaki bir erkekte HCoV-HKU1 tanımlanmıştır (Woo ve diğerleri, 2005).

HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63 ve HCoV-HKU1 günümüzde endemik olarak görülen, özellikle kış aylarında sıklığı artan, insandan insana bulaşı yaygın olan ve tipik

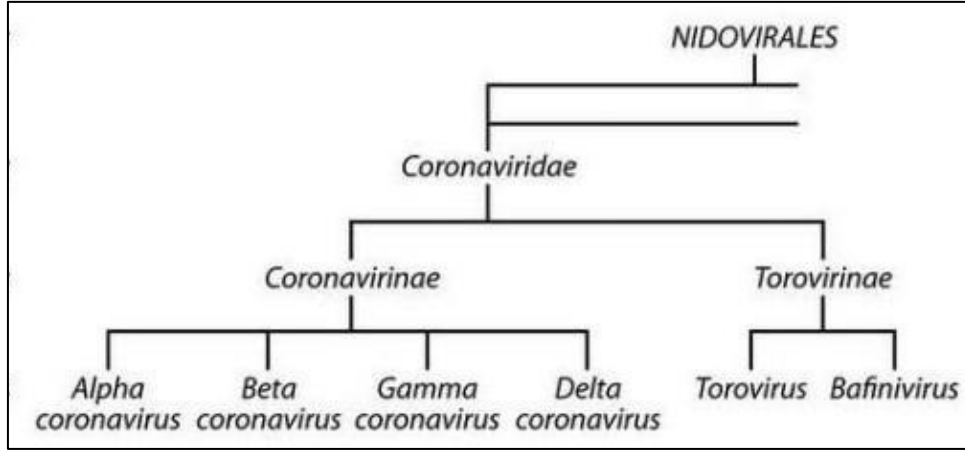
olarak bağışıklığı yeterli kişilerde soğuk algınlığı belirtilerine neden olan insan koronavirüsleridir (Killerby ve diğerleri, 2018).

Daha sonra 2012 yılında Orta Doğu Solunum Sendromu (MERS) adı verilen, enfekte tek hörgüçlü develerden insanlara geçen koronavirüsün (MERS-CoV) neden olduğu viral solunum yolu hastalığı ortaya çıkmıştır (de Groot ve diğerleri, 2013). Hastalar tipik olarak ateş, nefes darlığı, öksürük şikâyetiyle başvurmuşlardır. Ek olarak ishal gibi gastrointestinal şikâyetleri ve birçok hastada pnömoni, solunum yetmezliği ve böbrek yetmezliği gibi ciddi semptomlar gelişmiştir (CDC, 2021; DSÖ, 2021). Virüsün kökeni tam olarak anlaşılamamıştır, ancak farklı virüs genomlarının analizine göre, yarasalarda ortaya çıktığı ve daha sonra develere bulaşmış olabileceğine inanılmaktadır. Toplamda 27 ülke 2012'den bu yana vaka bildirmiş, enfeksiyon ve ilgili komplikasyonlara bağlı olarak bilinen 858 ölüme yol açmıştır (DSÖ, 2021). Mortalite oranı laboratuvar onaylı vakalar için hesaplandığında %35 olarak tahmin edilmektedir (DSÖ, 2021). Sağlık yetkilileri hastalığı ilk olarak Eylül 2012'de Suudi Arabistan'da bildirmişlerdir. Retrospektif araştırmalarla, daha sonra bilinen ilk MERS vakalarının Nisan 2012'de Ürdün'de ortaya çıktığı tespit edilmiştir. Şimdiye kadar, tüm MERS vakaları arasında Arap Yarımadası'ndaki ve yakınındaki ülkelere seyahat etme veya bu ülkelerde ikamet etme ilişkisi kurulmuştur (CDC, 2021). Günümüzde de MERS vakaları görülmeye devam etmektedir (DSÖ, 2021).

Hem MERS-CoV hem de SARS-CoV'den farklı olarak SARS-CoV-2, insanları enfekte eden koronavirüs ailesinin yedinci üyesidir.

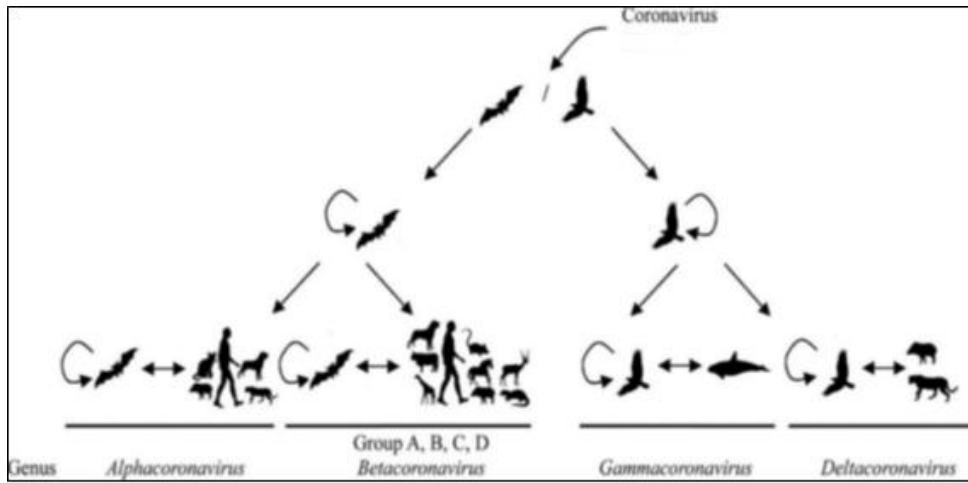
2.2. CoV'lerin Filogenetik Sınıflandırılması ve SARS-CoV-2'nin Yeri

Koronavirüsler Coronaviridae ailesinin, Orthocoronavirinae altailesi içinde yer alan, 80-160 nanometre çapında, zarflı, tek zincirli, pozitif kutuplu, yaklaşık 27-32 kb'lik segmentsiz genom ve çevresinde sarmal bir nükleokapsid bulunduran, ribonükleik asit (RNA) virüsleridir. İsimleri, viral zarftan yayılan çok sayıda sopa görünümündeki proteinleri nedeniyle bir tacı (Latince'de korona) andırmasından kaynaklanmaktadır. İnsanlarda ve hayvanlarda yaygın olarak görülmektedir. Coronaviridae içinde alfacoronavirus, betacoronavirus, gamacoronavirus ve deltacoronavirus olarak adlandırılan 4 alt cins bulunmaktadır (Woo ve diğerleri, 2005). CoV'lerin filogenetik sınıflandırılması Şekil 2.1'de sunulmuştur.



Şekil 2.1. CoV'lerin filogenetik sınıflandırılması (Jaiswal ve Saxena, 2020)

Alfa ve beta koronavirüsler için yarasalar, gama ve delta koronavirüsler için ise kuşlar ideal konaktır. Tüm HCoV'lerin, kökenini yarasalar ve kuşlarda yaşayan atalarından alan ve yeni konaklara uyum sağlayan, zoonotik patojenler olduğu düşünülmektedir (Woo ve diğerleri, 2012). CoV evriminin bir modeli Şekil 2.2'de sunulmuştur.



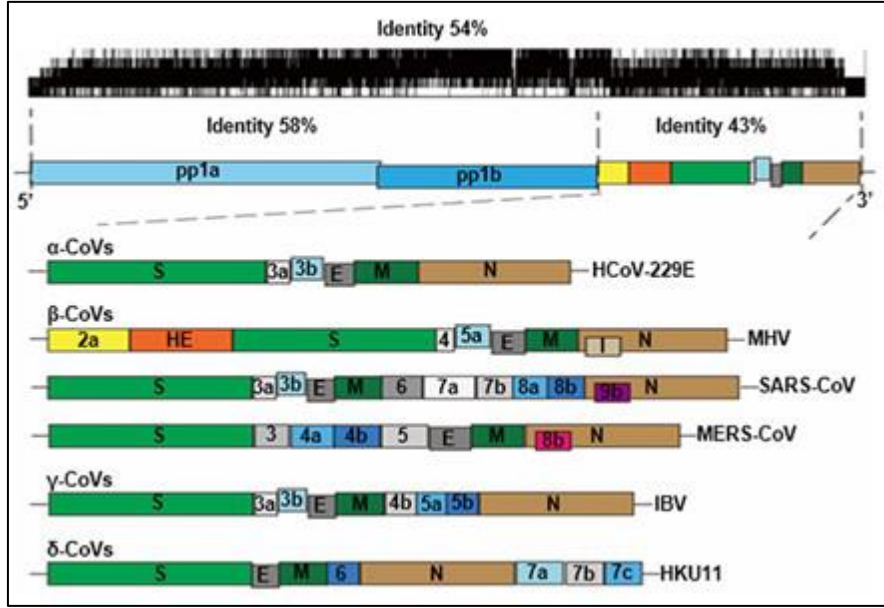
Şekil 2.2. CoV evriminin bir modeli (Woo ve diğerleri, 2012)

CoV'ler pozitif kutuplu olduğu için genom, direkt kalıp olarak kullanılmaktadır ve çeşitli yapısal ve yapısal olmayan proteinler (NSP) kodlanmaktadır. Öncelikle genomik RNA kalıp olarak kullanılıp poliprotein 1a/1ab çevirisi gerçekleştirilmektedir ki, buradan çoğaltma-transkripsiyon kompleksini (RTK) oluşturmak üzere yapısal olmayan proteinler kodlanmaktadır. Daha sonra, iç içe geçmiş bir dizi subgenomik RNA (sgRNA), RTK tarafından aralıklı transkripsiyon tarzında sentezlenmektedir. Transkripsiyonun sona ermesi ve yapısal proteinlerin kodlanacağı RNA eldesi, açık okuma çerçeveleri (ORF) arasına

yerleşmiş olan transkripsiyon düzenleyici sekanslardan sağlanmaktadır. Bu negatif iplikçikli sgRNA'lar, subgenomik mRNA'ların üretimi için kalıp olarak işlev görmektedir. Tipik bir koronavirüsün genomu ve subgenomları en az altı ORF içerir. İlk ORFlar (ORF1a/b), tüm genom uzunluğunun yaklaşık olarak üçte ikisini oluşturmakta ve 16 adet yapısal olmayan protein kodlamaktadır (NSP 1-16) ancak bu durum gamakoronavirüsler için farklıdır, bu grupta NSP-1 bulunmamaktadır. ORF1a ve ORF1b arasında görülen bir nükleotidlik çerçeve kayması pp1a ve pp1ab adında iki polipeptit üretimi ile sonuçlanmaktadır. Bu polipeptitler, virüsün kodladığı kimotripsin benzeri proteaz veya ana proteaz ile işlenerek 16 adet yapısal olmayan protein oluşturmaktadır. Genomun kalan üçte birini oluşturan diğer ORF bölgelerinden, en az dört adet yapısal protein kodlanmaktadır: Spike (S), membran (M), zarf (E) ve nükleokapsit (N) proteinleri. Farklı koronavirüslerde bu ana yapısal proteinlerin yanı sıra, o virüse özgü, hemaglutinin esteraz (HE) proteini, 3a/b proteini, 4a/b proteini gibi yapısal ve aksesuar proteinler kodlanmaktadır (Hoffmann ve diğerleri, 2020).

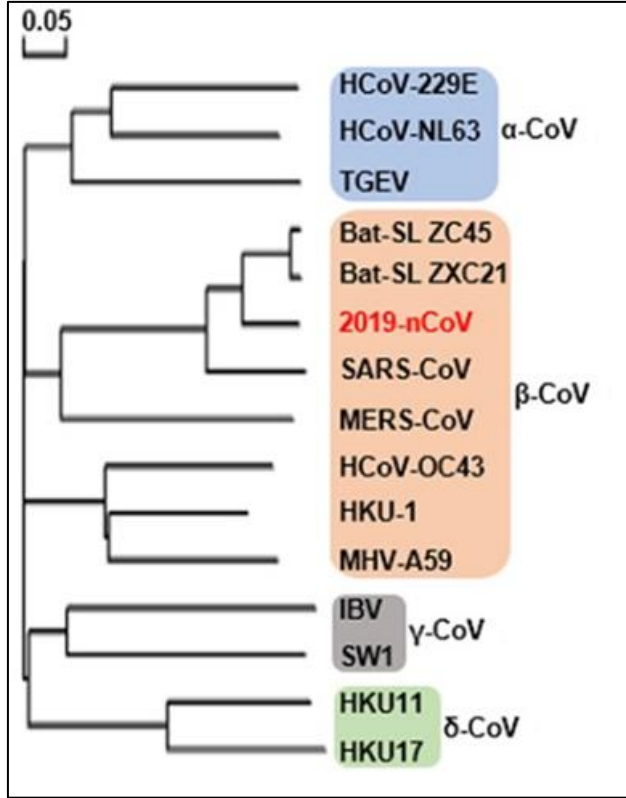
Farklı koronavirüslerin genom sekansları incelendiği zaman, yapısal olmayan proteinleri kodlayan bölgeler arası %58, yapısal proteinleri kodlayan bölgeler arası %43 ve tüm genom düzeyinde ise %54 oranında benzerlik bulunmaktadır. Bu oranlar, yapısal olmayan proteinlerin daha fazla korunduğunu, yapısal proteinlerin ise yeni konaklara adaptasyon konusunda daha çeşitli olduğunu düşündürmektedir (Chen, Liu ve Guo, 2020). Dört cins koronavirüsün genom yapısı Şekil 2.3'te sunulmuştur.

Bazı betakoronavirüslerde bulunan bir HE geni, ikinci bir kısa spike protein grubunu kodlamaktadır. S (ve HE) proteinleri aracılığıyla özel hücre yüzeyi reseptörlerine bağlanmanın ardından, CoV hücreye girmekte ve sitoplazmada çoğalmaktadır. Çoğalma hataya meyillidir ve virüs evrimine yardımcı olan önemli mutasyon ve rekombinasyon oranlarına yol açmaktadır (Sanchez-Vega ve diğerleri, 2018).



Şekil 2.3. Dört cins koronavirüsün genom yapısı (Chen ve diğerleri, 2020)

Coronavirinae alt ailesinin, insanları enfekte eden cinsleri Alfakoronavirüsler ve Betakoronavirüslerdir. İnsanları enfekte eden Alfakoronavirus türleri HCoV-229E ve HCoV-NL63, Betakoronavirüs türleri HCoV-OC43, HCoV-HKU1, SARS-CoV ve MERS-CoV ve SARS-CoV-2'dir (Su ve diğerleri, 2016). Yapılan dizi analizi sonuçları, SARS-CoV-2'nin tipik bir koronavirüs genom yapısına sahip olduğunu ve Yarasa-SARS benzeri (Bat-SL) ZC45, Bat-SL ZXC21, SARS-CoV ve MERS-CoV içeren betakoronavirüs kümesine ait olduğunu göstermektedir. Koronavirüslerin filogenetik ağaç incelemesinde virüsün Yarasa-SARS benzeri (SL)- ZC45, Yarasa-SL ZXC21 ile daha yakın ilişkili olduğu ancak SARS-CoV ile daha az ilişkili olduğu belirlenmiştir (Chen ve diğerleri, 2020; Zhu ve diğerleri, 2020). CoV'lerin bir filogenetik ağacı Şekil 2.4'te sunulmuştur.



Şekil 2.4. CoV'lerin bir filogenetik ağacı (Chen ve diğerleri, 2020)

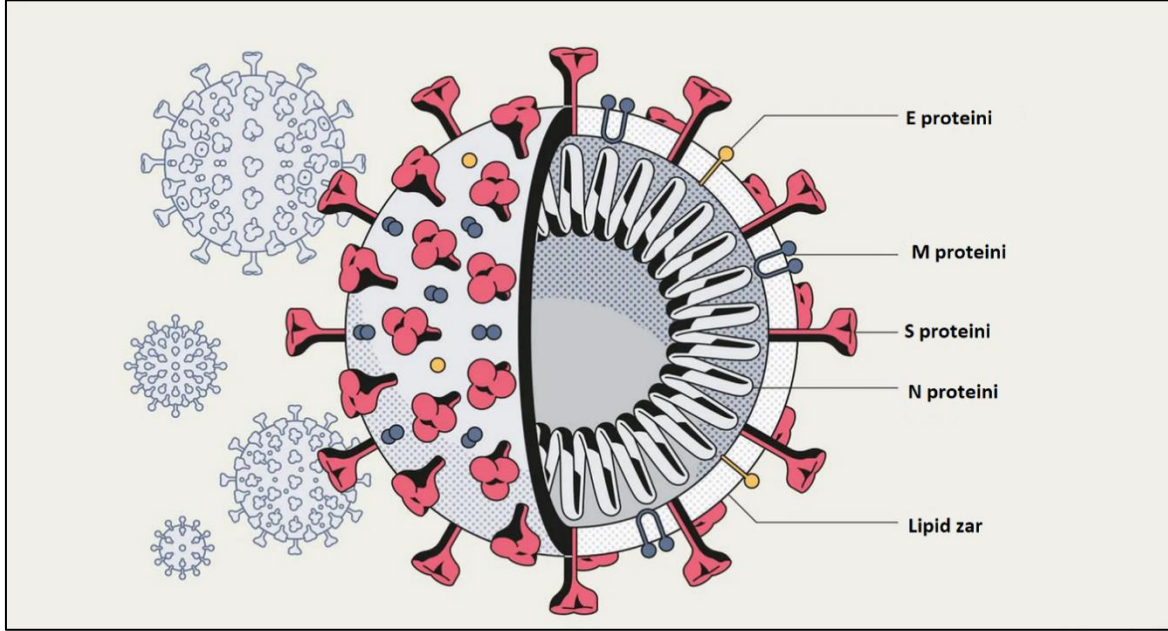
2.3. SARS-CoV-2

2.3.1. SARS-CoV-2 morfolojisi ve genom yapısı

SARS-CoV-2 yaklaşık 29.9 kb, pozitif kutuplu bir genomdan oluşmaktadır. SARS-CoV-2 pozitif kutuplu olduğundan genomu direkt kalıp olarak kullanılmakta, yapısal ve çeşitli yapısal olmayan proteinler kodlanmaktadır (Wu ve McGoogan, 2020).

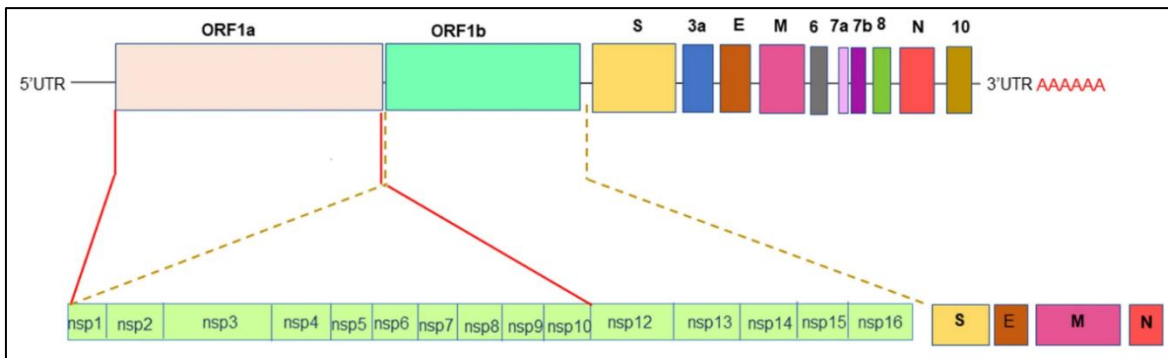
SARS-CoV-2 dört ana yapısal protein içermektedir: Spike (S), membran (M), zarf (E) ve nükleokapsit (N) proteinleri. SARS-CoV-2' de hemagglutinin esterase bulunmamaktadır (Jin ve diğerleri, 2020). İki alt birimden (S1, S2) oluşan S proteini, viral zarfa gömülü olarak bulunan ve dışa doğru uzantılar göstererek virüse karakteristik görünümünü kazandıran glikoproteinlerdir ve konak hücreye tutunma (S1) ve füzyondan (S2) sorumludurlar. E proteini sentezlenen viral parçaların bir araya gelmesinde ve tomurcuklanmada rol almaktadır. M proteini transmembran bölümleriyle kapside bağlanmaktadır. N proteini ise kapsidi oluşturan esas proteindir ve viral RNA'nın replikasyonunda görev almaktadır (Jin

ve diğerleri, 2020; Kaslow ve diğerleri, 2014; Wu ve McGoogan, 2020). SARS-CoV-2'nin bir şematize hali Şekil 2.5'te sunulmuştur.



Şekil 2.5. SARS-CoV-2'nin bir çizimi (The Economist, 2020)

Yapısal olmayan proteinler 16 adet (NSP 1-16) olup ilk ORF'ler (ORF1a/b) tarafından kodlanmaktadır. Yapısal olmayan proteinler RNA bağımlı RNA polimeraz (NSP 12), helikaz (NSP 13) gibi transkripsiyonda ve çoğalmada yer almaktadırlar (Chen ve diğerleri, 2020; Wu ve McGoogan, 2020). SARS-CoV-2'nin genom yapısı Şekil 2.6 da sunulmuştur.



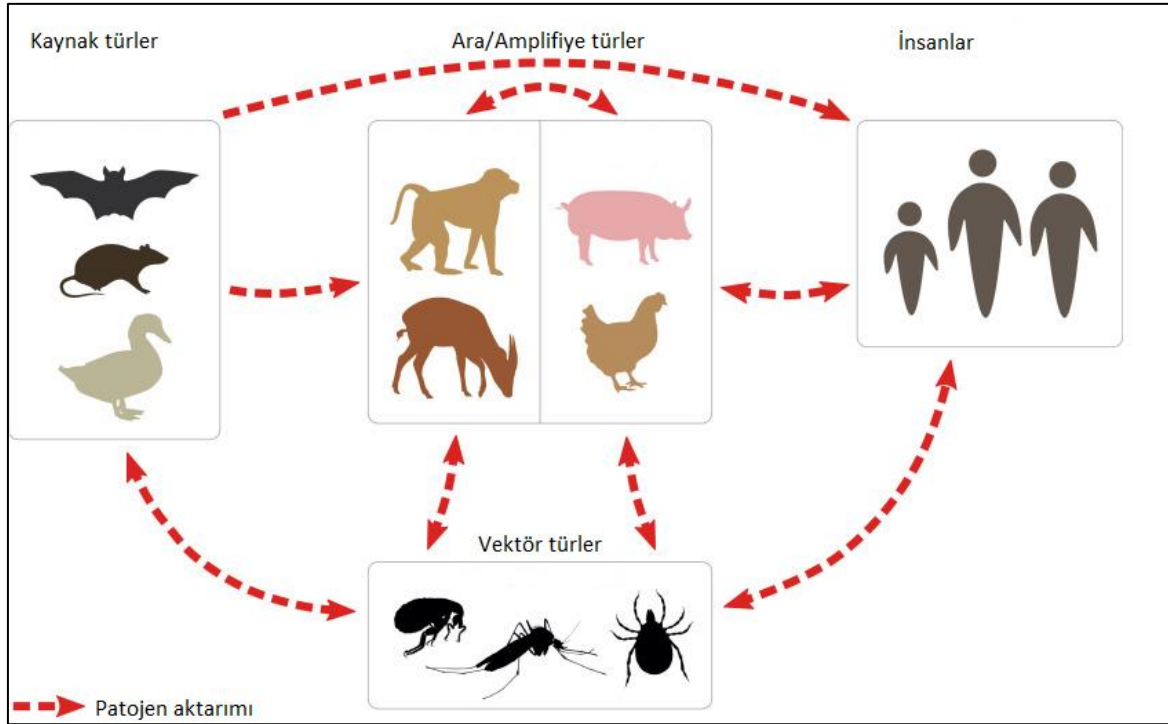
Şekil 2.6. SARS-CoV-2'nin genom yapısı (Rastogi, Pandey, Shukla ve Singh, 2020)

2.3.2. SARS-CoV-2'nin kaynağı

Aralık 2019'un sonlarında, Çin'in Wuhan şehrinde tanımlanamayan bir mikrobiyal ajan nedeniyle viral pnömoni ile başvuran hastalar bildirilmiştir. İlk bildirilen COVID-19 vakaları çoğunlukla, Wuhan kentindeki canlı vahşi hayvanların da satıldığı, Huanan Deniz Ürünleri Pazarı'yla temaslıdır. Daha sonra yeni bir koronavirüs, nedensel patojen olarak tanımlanmış ve SARS-CoV-2 olarak adlandırılmıştır (Kumar ve diğerleri, 2021).

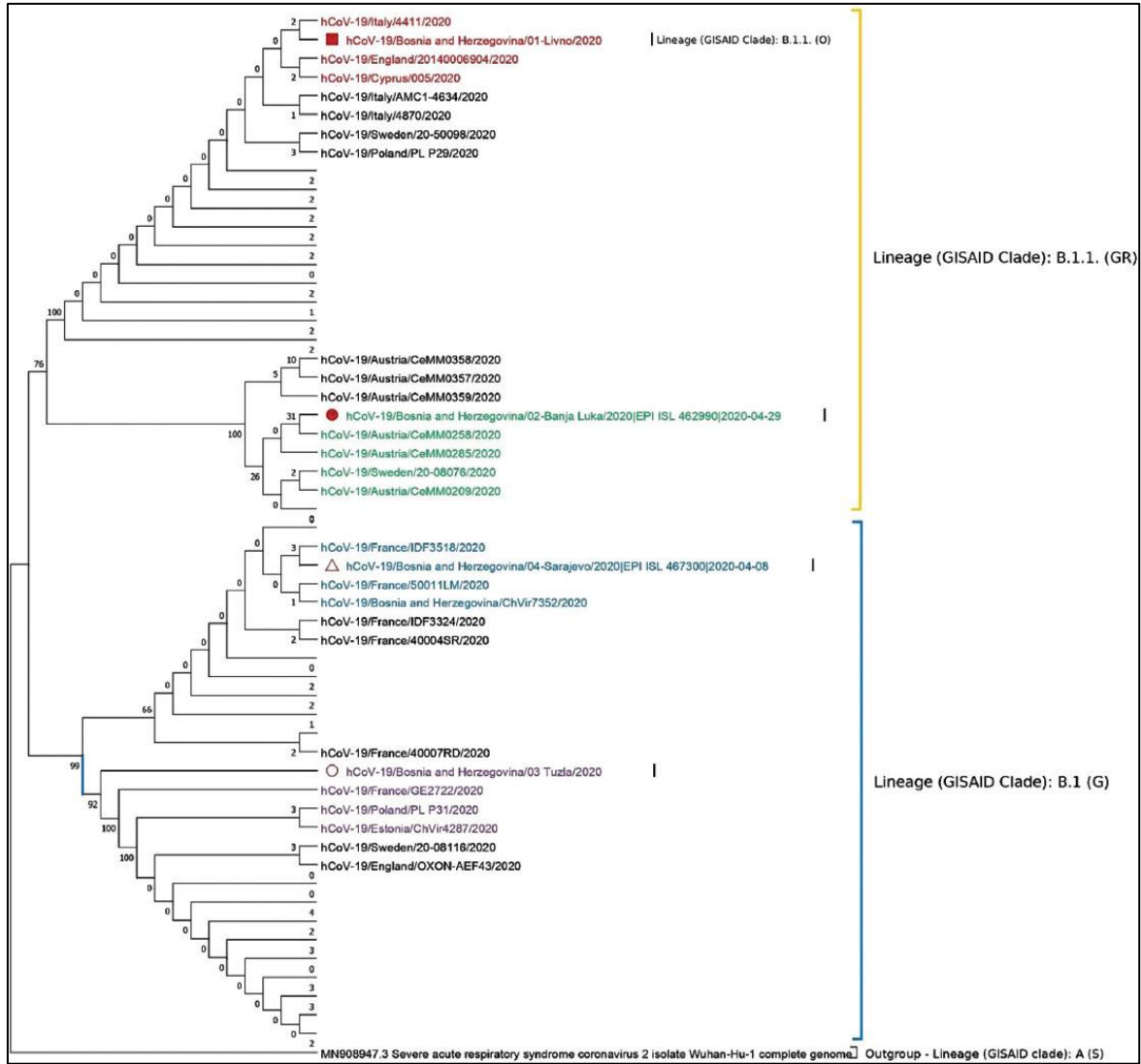
Salgının başlangıcından 26 Ocak 2020 tarihine kadar, çoğu Wuhan'da yaşayan veya Wuhan'ı ziyaret eden insanları içeren 2000'den fazla 2019-nCoV enfeksiyonu vakası ve insandan insana bulaşma doğrulanmıştır. Genom dizisi olarak 2019-nCoV'un Doğu Çin'in Zhoushan kentinde 2018'de toplanan iki yarasa kaynaklı bat-SL-CoVZC45 ve bat-SL-CoVZXC21 ile yakından ilişkili ancak SARS-CoV ve MERS-CoV'den daha uzak ilişkili olduğu bulunmuştur. Bu nedenle salgının erken dönemlerinde SARS-CoV-2'nin yarasalardan kaynaklandığı ve deniz ürünleri pazarındaki ara hayvan konakçısı aracılığıyla insanlara bulaştığı ve solunum yoluyla insanlar arasında yayıldığı iddia edilmiştir (H. Lu, Shrivastava, Whiteway ve Jiang, 2021; Zhu ve diğerleri, 2020).

Güney Çin'de kaçakçılıkla mücadele operasyonlarında ele geçirilen Malayan pangolinlerinde (*Manis javanica*, *Sunda pangolin*, *Javan pangolin*) SARS-CoV-2 ile ilişkili koronavirüsler tespit edilmiş ve pangolinlerin yeni koronavirüslerin ortaya çıkmasında olası konaklar olarak düşünülmesi gerektiği ve zoonotik bulaşmayı önlemek için pazarlardan kaldırılması gerektiği öne sürülmüştür (Lam ve diğerleri, 2020). Koronavirüslerin bir ekolojik modeli Şekil 2.7.'de sunulmuştur.



Şekil 2.7. Koronavirüslerin bir ekolojik modeli (Wegner ve diğerleri, 2022)

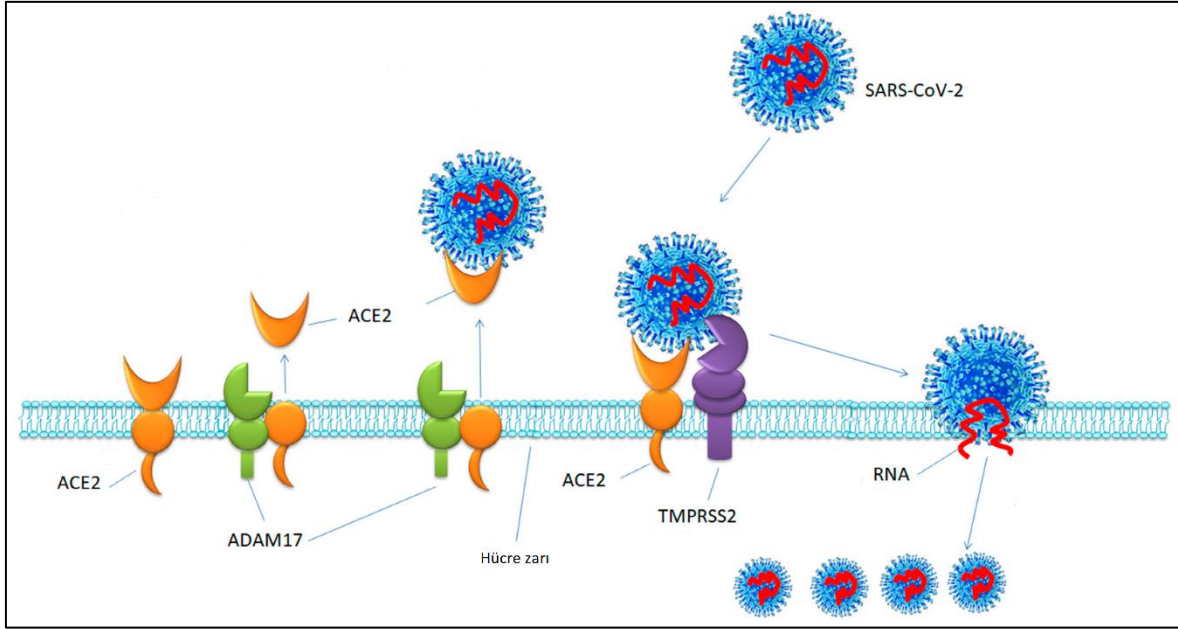
At nalı yarasaları (*Rhinolophus affinis*, horseshoe bat) enfekte eden koronavirüs olan RATG13, SARS-CoV-2'nin tam genom dizilerine göre bilinen en yakın akrabasıdır (Zhou ve diğerleri, 2021). Yarasa koronavirüslerinden sonra tam genom dizilerine göre en yakın akraba pangolin ilişkili koronavirüsler olarak göze çarpmaktadır. Bu nedenle pangolin ara konak olarak düşünülmektedir (Lam ve diğerleri, 2020; Zhou ve diğerleri, 2021). Bununla birlikte pangolinin insan pandemisinin kökenindeki ara hayvan olmadığına dair sonuçlar da rapor edilmiştir (Frutos, Serra-Cobo, Chen ve Devaux, 2020). Tam uzunluktaki virüs genomunun filogenetik ağacı Şekil 2.8'de sunulmuştur.



Şekil 2.8. Tam uzunluktaki virüs genomunun filogenetik ağacı (Goletic ve diğerleri, 2021)

2.3.3. SARS-CoV-2'nin hücreye girişi ve replikasyonu

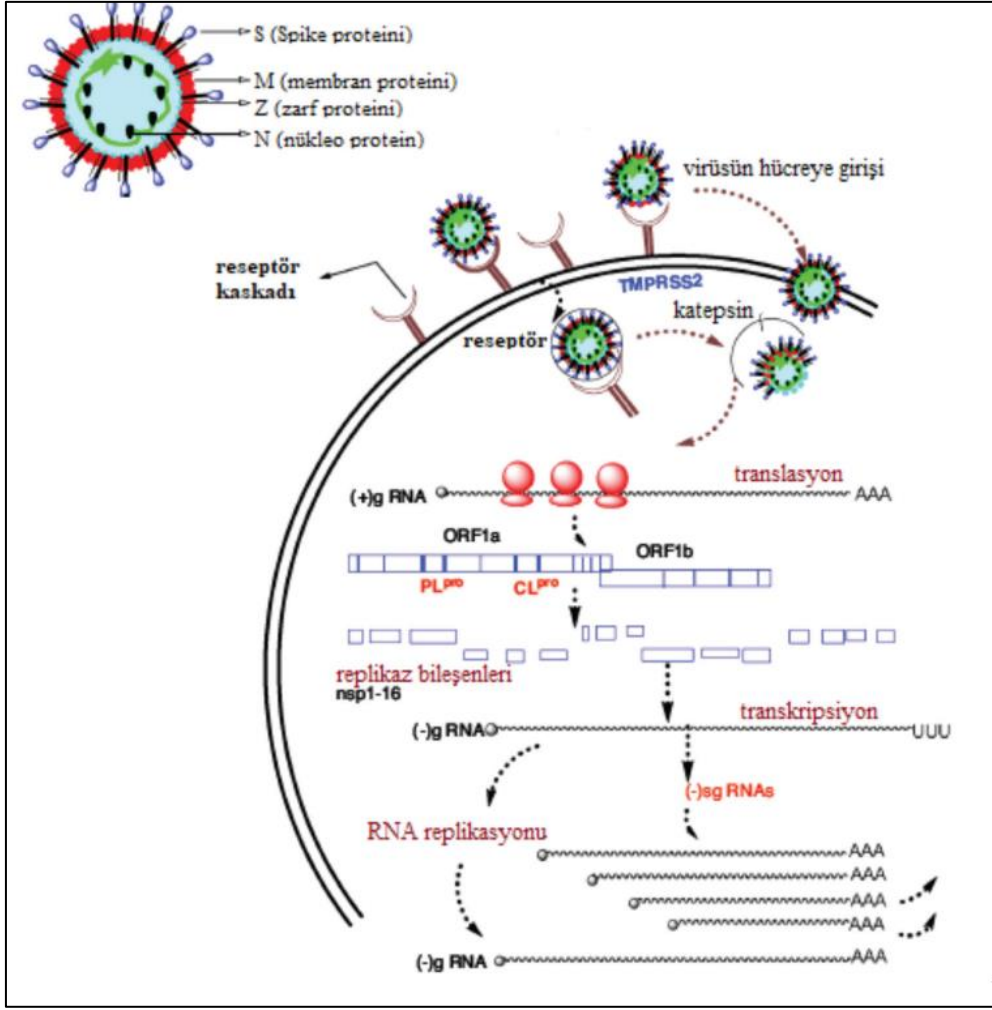
SARS-CoV-2'nin bir konak hücreyi enfekte etmesi için, S proteinin önce konak hücre üzerindeki bir yüzey proteinine bağlanması gerekmektedir. Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) 2'nin SARS-CoV için bir hücre reseptörü olduğu bilinmektedir (Guan ve diğerleri, 2003). SARS-CoV-2'nin hücresel giriş reseptörü olarak ACE2'yi de kullanıp kullanmadığını belirlemek için çalışmalar yapılmış ve SARS-CoV-2'nin de ACE2 eksprese eden hücrelere girmek için bir giriş reseptörü olarak kullanabildiği gösterilmiştir. SARS-CoV-2 transmembran serin proteazı (TMPRSS2) da hücreye girişte kullanılmaktadır (Hoffmann ve diğerleri, 2020). Hedef proteinleri ve konakçı giriş mekanizmasını gösteren SARS-CoV-2'nin şematik gösterimi Şekil 2.9'da sunulmuştur.



Şekil 2.9. Hedef proteinleri ve konakçı giriş mekanizmasını gösteren SARS-CoV-2'nin şematik gösterimi (Angel, Xiao ve Sakagami, 2020)

Kalp, akciğer, böbrekler ve barsak gibi çeşitli dokularda eksprese olan ACE2, arteriyel ve venöz endotelial hücrelerde, arteriyel düz kas hücrelerinde ve akciğerin de tip I ve tip II alveolar epitel hücrelerinde de bulunmaktadır. Bu yaygın ekspresyonun COVID-19 hastalarındaki çoklu organ disfonksiyonuna katkı sağladığı düşünülmektedir (Zhang ve diğerleri, 2020).

Virüsün konak hücreye girmesini takiben pozitif kutuplu genomik RNA sitoplazmada açığa çıkmakta ve mRNA olarak hizmet ederek ORF1a ve ORF1b'nin translasyonu sonucu iki polipeptit (pp1a ve pp1ab) üretilmektedir. Buradan da çoğalma-transkripsiyon kompleksini oluşturmak üzere RNA bağımlı RNA polimeraz gibi transkripsiyonda ve çoğalmada yer alan yapısal olmayan proteinler kodlanmaktadır. Çoğalma sırasında RTK, genomun tam uzunluktaki (-) RNA kopyalarını üretmekte ve tam uzunluktaki (+) RNA genomları ve subgenomik RNA için kalıp olarak kullanılmaktadır. Subgenomik RNA yapısal proteinleri kodlamaktadır. SARS-CoV-2 yapısal proteinlerinin üretimini takiben, nükleokapsidler sitoplazmada toplanmakta ve ardından endoplazmik retikulum-Golgi ara kompartmanının lümenine tomurcuklanmaktadır. Virionlar daha sonra enfekte hücreden ekzositoz yoluyla salınmaktadır (Alanagreh, Alzoughool ve Atoum, 2020). SARS-CoV-2'nin konak hücrelerdeki yaşam döngüsü Şekil 2.10'da sunulmuştur.



Şekil 2.10. SARS-CoV-2'nin konak hücrelerdeki yaşam döngüsü (Pillaiyar, Meenakshisundaram ve Manickam, 2020)

2.4. COVID-19

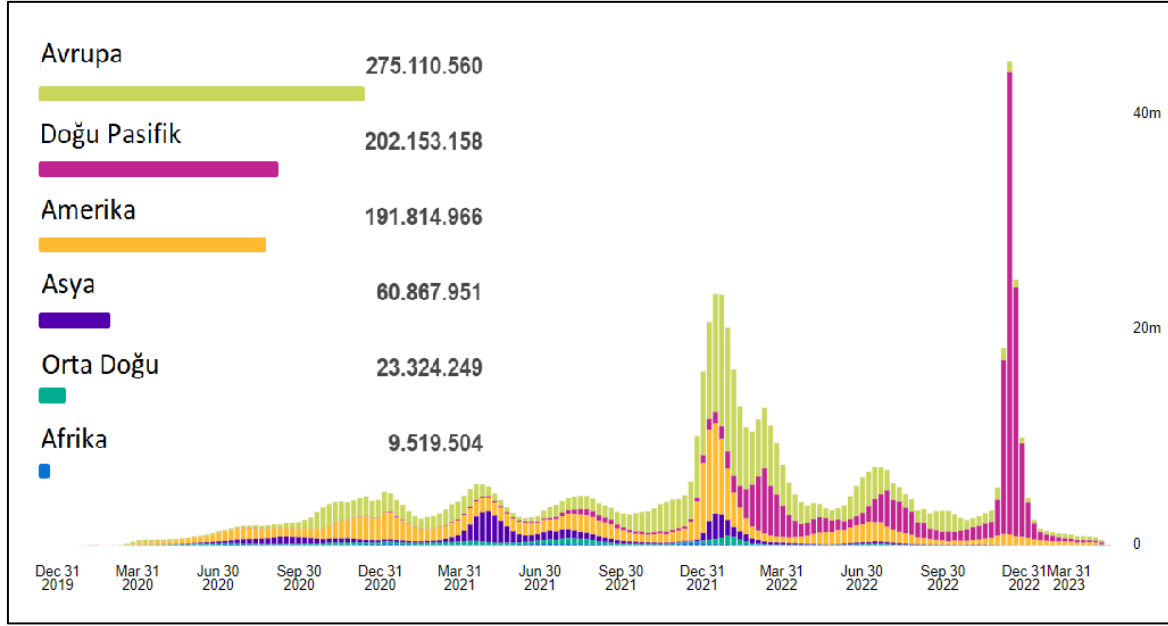
Koronavirüs hastalığı (COVID-19), SARS-CoV-2'nin sebep olduğu enfeksiyon hastalığıdır. CO ve VI koronavirüsten (İngilizce Coronavirus), -Dlharfı İngilizce'de hastalık anlamına gelen-disease-kelimesinden, 19 ise vakaların görülmeye başladığı yıl olan 2019 yılından köken almaktadır (Singh ve Chouhan, 2021).

2.4.1. COVID-19 epidemiyolojisi

Dünya Sağlık Örgütü Çin Ülke Ofisi'ne 31 Aralık 2019'da, Çin'in Hubei eyaletinin Wuhan kentinde Huanan deniz ürünleri pazarından kaynaklandığı düşünülen etiyolojisi bilinmeyen pnömoni vakası kümesi bildirilmiştir (DSÖ,2020). Etken 7 Ocak 2020'de daha önce insanlarda tespit edilmemiş yeni bir koronavirüs (2019 novel coronavirus, 2019-nCoV)

olarak tanımlanmıştır (DSÖ,2020). Tayland Halk Sağlığı Bakanlığı, 13 Ocak 2020’de Çin’in Hubei eyaleti’nin Wuhan şehrinden ilk importe laboratuvar onaylı yeni koronavirüs (2019-nCoV) vakasını bildirmiştir. Bu Çin’in Wuhan şehrinden çıkan ilk yeni koronavirüs vakasıdır (DSÖ,2020). Ardından 30 Ocak 2020’de Dünya Sağlık Örgütü Acil Durum Komitesi yeni koronavirüs hastalığını, Uluslararası Endişe verici Halk Sağlığı Acil Durumu (Public Health Emergency of International Concern) olarak ilan etmiştir (DSÖ,2020). Dünya Sağlık Örgütü tarafından 11 Şubat 2020 tarihinde 2019-nCoV hastalığının adı COVID-19 olarak kabul edilmiş, virüs SARS CoV’e yakın benzerliğinden dolayı SARS-CoV-2 olarak isimlendirilmiştir (Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses, 2020). Hastalığın kıtalar arasında yayılmasının ardından Dünya Sağlık Örgütü bu kez uyarı düzeyini en yüksek seviyeye çıkartarak, COVID-19’u 11 Mart 2020 tarihinde pandemi olarak ilan etmiştir.

COVID-19 pandemisinde 9 Temmuz 2021 tarihi itibarıyla tüm dünyada 185 milyonu aşan doğrulanmış olgu ve dört milyondan fazla doğrulanmış ölüm söz konusu olmuştur. DSÖ vaka tanımını karşılayan hastalığı olan kişiler arasındaki vaka ölüm oranı yaklaşık % 2.1’dir. Pandeminin başından 9 Temmuz 2021 tarihine kadar günlük 895.030 onaylanmış vakayla en çok vaka 23 Nisan 2021’de, en çok günlük ölüm ise 28.01.2021 tarihinde 17.113 olarak gözlenmiştir. DSÖ bölgelerine göre bakıldığında 9 Temmuz 2021 tarihi itibarıyla en çok onaylanmış vaka ve ölüm Amerika bölgesinde, ülke olarak ise Amerika Birleşik Devletleri’nde gözlenmiştir. DSÖ bölgelerine göre vaka sayısı Şekil 2.11’de sunulmuştur (DSÖ, 2023).



Şekil 2.11. DSÖ bölgelerine göre vaka sayısı (DSÖ, 2023)

Aralık 2019’da tespit edilen pnömoni kümelenmesinden sonra hasta sayısı hızla artmış, sağlık çalışanlarında da hastalık görülmüştür. Hastalık, insandan insana bulaşma özelliği nedeniyle hızla yayılmıştır. Ülkemizde ilk COVID-19 vakası 11 Mart 2020’de saptanmıştır. Devam eden süreçte Dünya’da olduğu gibi ülkemizde de vaka sayılarında artış görülmüştür (Sağlık Bakanlığı, 2021).

COVID-19 pandemisinde 17 Nisan 2023 tarihi itibarıyla Türkiye’de 17 milyonu aşan doğrulanmış olgu 101 binden fazla doğrulanmış ölüm söz konusu olmuştur. Buna göre Türkiye’de olgu ölüm hızı yaklaşık %0.6’dur. Ülkemiz 17 Nisan 2023 tarihi itibarıyla dünyada doğrulanmış toplam olgu sayısında sırasıyla ABD, Çin, Hindistan, Fransa, Almanya, Brezilya gibi ülkelerden sonra onikinci, doğrulanmış toplam ölüm sayısında ise on dokuzuncu sırada yer almaktadır (DSÖ, 2023).

Li ve diğerlerinin 425 vakada yaptığı çalışmada bulaştırıcılık katsayısı (R_0) 2.2 olarak tahmin edilmiştir, bu da ortalama olarak her hastanın 2.2 kişiye enfeksiyon yaydığı anlamına gelmektedir. Genel olarak, bir salgın, R_0 1’den büyük olduğu sürece artacaktır ve kontrol önlemleri R_0 değerini 1’in altına düşürmeyi amaçlamaktadır (Li ve diğerleri, 2020).

COVID-19 vaka oranı en düşük 0-4 yaş grubundadır. Yaş kategorisinden 18-29 yaş en büyük birikmiş COVID-19 vaka sayısını oluşturduğundan referans olarak alındığında, hastaneye

yatış ve ölüm riski yaş arttıkça katlanarak artmaktadır (CDC, 2019). Yaş grubuna göre COVID-19 enfeksiyonu, hastaneye yatış ve ölüm riski çizelge 2.1’de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Yaş grubuna göre COVID-19 enfeksiyonu, hastaneye yatış ve ölüm riski (CDC, 2019)

	0-4 yaş	5-17 yaş	18-29 yaş	30-39 yaş	40-49 yaş	50-64 yaş	65-74 yaş	75-84 yaş	85+ yaş
Vaka	< 1x	1x	Referans grup	1x	1x	1x	1x	1x	1x
Hastaneye yatış	< 1x	< 1x	Referans grup	2x	2x	4x	6x	9x	15x
Ölüm	< 1x	< 1x	Referans grup	4x	10x	35x	95x	230x	610x
Örnek yorum: 18-29 yaşındakilerle karşılaştırıldığında, 30-39 yaşındakilerde ölüm oranı dört kat, 85 yaş ve üzerindekilerde ise 610 kat daha fazladır. (Tabloda 1x oranı, 18-29 yaş kategorisine göre herhangi bir farklılık göstermemektedir.)									

2.4.2. COVID-19 bulaş yolları

Doğrudan insandan insana virüs içeren damlacıkları soluyarak bulaşma, COVID-19 bulaşmasının başlıca yolu olarak belirtilmektedir. Esas olarak solunum partikülleri yoluyla yakın mesafeli temas (yaklaşık altı fit veya iki metreden daha yakın) ile bulaş olduğu düşünülmektedir. Ayrıca hasta bireylerin öksürme, hapşırma veya konuşma yoluyla ortaya saçtıkları damlacıkları diğer kişilerin soluması veya elleri ile temas etmesi sonrasında ellerini ağız, burun veya göz mukozasına götürmesi ile de bulaş olmaktadır (CDC, 2019). SARS-CoV-2 dışkı, kan, oküler salgılar ve meni dâhil olmak üzere solunumla ilgili olmayan örneklerde tespit edilmiştir ancak bu bölgelerin bulaşmadaki rolü belirsizdir. DSÖ-Çin ortak raporuna göre fekal-ağız yoluyla bulaşma, enfeksiyonun yayılmasında önemli bir faktör olarak görünmemektedir (Chen ve diğerleri, 2020; Wang ve diğerleri, 2021).

COVID-19 solunum sıvılarına maruz kalma yoluyla bulaşmakta ve maruziyet üç ana yolla gelişmektedir:

- Virüs içeren küçük damlacıkları ve partikülleri taşıyan havayı soluyarak
- Virüs içeren bu küçük damlacıklar ve partiküllerin, özellikle öksürük veya hapşırma gibi sıçramalar yoluyla gözlerde, burunda veya ağızda açıkta kalan mukoza zarlarında birikmesiyle
- Virüs içeren solunum sıvılarıyla doğrudan veya üzerinde virüs bulunan yüzeylere dolaylı olarak dokunarak kontamine ellerle göz, burun veya ağız gibi mukozal zarlara dokunarak.

SARS-CoV-2 enfeksiyonu riski, kişinin maruz kaldığı virüs miktarına göre değişmektedir. Enfekte kişiye 1-2 metreden yakın olan kişilerin enfekte olma riski en yüksektir. Kaynaktan uzaklaştıkça ve kaynağın soluk vermesinden sonra geçen süre arttıkça enfeksiyon riski azalmaktadır. Bir kişinin havada veya virüs bulaşmış bir yüzeye dokunarak maruz kaldığı virüs miktarını, havadaki virüsün yerçekimi ve hava akımı neticesinde azalan konsantrasyonu, sıcaklık, nem ve ultraviyole radyasyon gibi çevresel faktörlerden etkilenen zaman içinde viral canlılığın ve bulaşıcılığın aşamalı kaybı belirlemektedir (CDC, 2019). Çeşitli yüzeylerde virüsün dayanma süreleri ile ilgili çalışmalar yapılmış ve aerosollerle havada 3 saat, bakır yüzeylerde 4 saat, kartonda bir gün, paslanmaz çelikte 2 gün, plastikte 3 gün bulaşıcılıklarını koruyabileceği gösterilmiştir (Doremalen, Morris, Holbrook, Gamble ve Williamson, 2020).

SARS-CoV-2'nin bulaşıcı bir kaynaktan altı fitten daha uzak mesafedeyken virüsün solunmasıyla bulaşması yakın mesafeye göre daha az olası olsa da meydana gelebilmektedir. Bu durum özellikle yetersiz havalandırılan kapalı mekanlarda enfekte kişinin fiziksel efor sarfetmesi ve sesini yükseltmesiyle (örneğin egzersiz, bağırma, şarkı söylemek) artan solunum sıvısı soluk alıp-vermesiyle ve bu koşullara uzun süre maruz kalmayla (tipik olarak 15 dakikadan fazla) tetiklenmektedir (CDC, 2021). SARS-CoV-2 salgınının raporları, kapalı, yetersiz havalandırılmış alanlarda (örneğin bir restoranda, bir otobüste) daha uzun mesafede hava yoluyla bulaşma potansiyelini vurgulamıştır (C. C. Lu, Chen, Lee ve Chang, 2020). Henüz enfeksiyon bulaşması için gereken virüs bulaşıcı dozu netlik kazanmamıştır (CDC, 2019).

Gebelik sırasında COVID-19 olan annelerden doğan yeni doğanlarda COVID-19 nadir görülmüştür. Bazı yeni doğanlarda doğumdan kısa bir süre sonra COVID-19 testi pozitif çıkmıştır. Bu yeni doğanların virüsü doğumdan önce mi, doğum sırasında mı yoksa

doğumdan sonra mı kapıldığı net olarak bilinmemektedir. Mevcut kanıtlar ayrıca anne sütünün virüsü bebeklere yaymasının muhtemel olmadığını göstermektedir (CDC, 2019).

COVID-19'la enfekte bir kişinin enfeksiyonu başkalarına bulaştırabileceği kesin aralık henüz belirsizliğini korumaktadır. SARS-CoV-2'yi bulaştırma potansiyeli, semptomların gelişmesinden önce başlamakta ve hastalığın seyrinin erken dönemlerinde en yüksek düzeye çıkmaktadır. Daha sonra bulaşma riski azalmaktadır (Sağlık Bakanlığı, 2021). Bulaşıcılığın belirti başlangıcından iki gün önce ve bir gün sonra zirve yaptığı ve yedi gün içinde azaldığı tahmin edilmektedir (He ve diğerleri, 2020).

Viral RNA tespiti belirtilerin gerilemesiyle azalırken, SARS-CoV-2 RNA günler veya haftalarca tespit edilmeye devam edebilmektedir. Bu nedenle, iyileşme döneminde viral RNA'nın saptanması, mutlaka çoğalma yetkin virüsü (bulaşıcılık) veya yeni bulaşıcı virüsün varlığını göstermemektedir. İyileşen bazı kişilerde, hastalığın başlangıcından 3 ay sonrasına kadar üst solunum yolu örneklerinde SARS-CoV-2 RNA'sı saptanabilmektedir ancak hastalık sırasında olduğundan çok daha düşük konsantrasyonlarda, çoğalma yetkin virüsün geri kazanılmadığı ve bulaşıcılık olasılığının olmadığı aralıktadır. Ağır hastalığı olan bazı kişiler, belirtilerin başlamasından sonra 20 güne kadar izolasyon ve önlemlerin uzatılmasını gerektirebilecek, 10 günden uzun süre çoğalma yetkin virüs üretebilmektedir. Sınırlı veriler, bazı ciddi düzeyde bağışıklığı baskılanmış hastaların (örneğin, lenfoma, hipogamaglobulinemi, hemopoiyetik kök hücre nakli alıcıları, AIDS, kemoterapi, sistemik kortikosteroidler ve biyolojik ilaçlarla immünosupresyonu olanlar) 20 günden uzun süre çoğalma yetkin virüs üretebildiğini gösterdiği için ek testler ve konsültasyon gerektirebilmektedir (CDC, 2019).

2.4.3. COVID-19 klinik özellikleri

COVID-19'un klinik özellikleri, belirtisiz / hafif belirtili şiddetli hastalık ve ölüme kadar uzanmaktadır. Belirtiler virüse maruz kaldıktan 2-14 gün sonra ortaya çıkmaktadır. Herkesin hafif veya ağır belirtilerle karşılaşma riski bulunmaktadır. COVID-19'un belirtileri ateş, titreme, öksürük, nefes darlığı, yorgunluk, kas ağrıları, baş ağrısı, tat veya koku kaybı, boğaz ağrısı, burun tıkanıklığı veya burun akıntısı, kusma veya ishal ve deri döküntülerini içerebilmektedir. Bunlar ayrıca olası tüm belirtileri içermemektedir (CDC, 2019). COVID-19 hastalarında sık görülen belirtiler Çizelge 2.2'de sunulmuştur.

Çizelge 2.2. COVID-19 hastalarında sık görülen belirtiler (CDC, 2021)

Öksürük	Boğaz Ağrısı	Halsizlik
Ateş	İshal	Göğüste Ağrı veya Bası
Miyalji	Bulantı, Kusma	Konfüzyon
Burun Akıntısı veya Tıkanıklığı	Koku Kaybı veya Diğer Koku Anormallikleri	Tat Kaybı veya Diğer Tat Anormallikleri
Dispne	Titreme	Baş Ağrısı

COVID-19 bazı hastalarda, belirtilerin başlamasından yaklaşık bir hafta sonra nefes darlığı ve şiddetli hastalığa ilerleyebilmektedir. COVID-19 için kuluçka süresinin, belirtilere maruz kalmanın başlangıcından itibaren 4-5 günlük bir medyan süre olmak üzere 14 güne kadar uzadığı düşünülmektedir. Semptomlar hastalığın şiddetine göre farklılık gösterebilmektedir. Örneğin COVID-19 ile hastaneye yatırılan kişilerde nefes darlığı, daha hafif hastalığı olan kişilere (hastaneye yatırılmamış hastalar) göre daha yaygın olarak bildirilmektedir (CDC, 2021).

COVID-19'un atipik sunumları sıklıkla görülmektedir. Yaşlılar ve tıbbi komorbiditeleri olan kişiler, hastalığın seyri sırasında daha genç veya komorbiditesi olmayan kişilere göre daha sonra ateş ve solunum belirtileri yaşayabilmektedir. Yorgunluk, baş ağrısı ve miyaljinin, hastaneye kaldırılmayan kişilerde en sık bildirilen belirtiler arasında olduğu ve boğaz ağrısı, burun tıkanıklığı veya rinorenin de belirgin belirtileri olduğu tespit edilmiştir. COVID-19'lu birçok kişi, bazen ateş ve alt solunum yolu belirtilerinden önce bulantı, kusma veya ishal gibi gastrointestinal belirtiler yaşamaktadır (CDC, 2019).

Hastaların üçte birinde, özellikle kadınlar ve genç veya orta yaşlı hastalarda koku veya tat kaybı yaygın olarak bildirilmiştir (Giacomelli ve diğerleri, 2020).

Dermatolojik belirtiler de COVID-19 ile ilişkili olabilmektedir. Sıklık bilinmemekle birlikte, raporlar pandeminin başlarında %0,2'den %20,4'e kadar çıkmaktadır. COVID-19 hastalarında hastalık şiddetinin, cilt belirtilerinin ortaya çıkış zamanı ile ilişkisi net olarak bilinmemektedir. Klinik tablo çeşitli görünse de, laboratuvar tarafından onaylanmış COVID-19'lu hastaların (hafif ila şiddetli hastalık arasında değişen) bildirilen en yaygın cilt belirtileri; makülopapüler döküntü, el ve ayak parmaklarının soluk lezyonlar ve ürtiker

olmuştur. COVID-19 ve herhangi bir cilt belirtisi olan hastaların yaklaşık %60'ı ateş ve/veya öksürük bildirmiştir. Belirtiler çeşitli diğer hastalık durumlarına benzeyebileceğinden, COVID-19 hastalarında cilt belirtilerini değerlendirmek zor olmaya devam etmektedir (CDC, 2019).

SARS-CoV-2 enfeksiyonu olan kişilerin %33'ünde hiçbir zaman belirti gelişmediği tahmin edilmektedir (Oran ve Topol, 2021).

Genel olarak SARS-CoV-2 enfeksiyonlu yetişkinler, hastalık şiddeti kategorilerinde gruplandırılmaktadır. Bununla birlikte, her kategori için kriterler, klinik kılavuzlar ve klinik araştırmalar arasında benzerlik veya farklılık göstermekte ve bir hastanın klinik durumu zamanla değişebilmektedir (National Institutes of Health ,2021).

Hastalık şiddeti hafif ila kritik arasında değişmektedir. Hafif hastalık COVID-19'un çeşitli belirtilerinden herhangi birine (örneğin ateş, öksürük, boğaz ağrısı, halsizlik, baş ağrısı, kas ağrısı, mide bulantısı, kusma, ishal, tat ve koku kaybı) sahip olan ancak nefes darlığı olmayan hastalar olarak belirlenmiştir. Orta derecede hastalık klinik değerlendirme veya görüntüleme sırasında alt solunum yolu hastalığı kanıtı gösteren ve deniz seviyesinde oda havasında oksijen satürasyonu (SpO_2) $\geq 94\%$ olan hastalar olarak belirlenmiştir. Hastaların yaklaşık %81'inin hafif veya orta derecede hastalığa sahip olduğu tahmin edilmektedir. Ağır hastalık, dispne, hipoksi, $SpO_2 < 94\%$, solunum sayısı > 30 soluk/dakika, parsiyel arteriyel oksijen basıncı / solunan havadaki fraksiyone oksijen (PaO_2/FiO_2) < 300 mm/Hg ve görüntülemede %50'den fazla akciğer tutulumu olan hastalar olarak ifade edilmektedir. Hastaların yaklaşık %14'ünün ağır hastalığa sahip olduğu tahmin edilmektedir. Kritik hastalıkta ise akut respiratuvar distres sendromu (ARDS), kardiyak disfonksiyon, hiperinflamatuvar yanıt, solunum yetmezliği, septik şok, şok veya multi-organ yetmezliği görülebilmektedir. Akciğer ve kalp hastalığına ek olarak, kritik hastalığı olan hastalarda hepatik, renal, santral sinir sistemi veya trombotik hastalıklar da görülebilmektedir. Kritik hastalığın hastaların yaklaşık %5'inde görüldüğü tahmin edilmektedir (National Institutes of Health ,2021, (Wu ve McGoogan, 2020).

COVID-19 hastalığına bağlı artmış inflamatuvar yanıt gelişen hastaların bir kısmında, özellikle enfeksiyonun ilk haftasından sonra makrofaj aktivasyon sendromu ya da sitokin fırtınası tabloları ile uyumlu bir durum gelişebilmektedir. Virüse karşı gelişen inflamatuvar

yanıtın çok daha abartılı ve kontrolsüz olmasıyla ortaya çıkan bu durumun erken tanı ve etkin tedavisi ARDS ve multi-organ yetmezliği başta olmak üzere ölümcül komplikasyonların gelişmesini engelleyebilmektedir (Sağlık Bakanlığı, 2021).

COVID-19 nedeniyle hastanede yatan hastalarda sık görülen komplikasyonlar arasında pnömoni (%75), ARDS (%15), akut böbrek yetmezliği (%9) ve akut karaciğer hasarı da (%19) yer almaktadır. Troponin yükselmesi, akut kalp yetmezliği, aritmiler ve miyokardit dâhil olmak üzere kardiyak hasar giderek daha fazla not edilmiştir. Hastanede yatan COVID-19 hastalarının %10-25'i venöz ve arteriyel tromboembolik olaylarla sonuçlanan protrombotik koagülopati yaşamaktadır. Nörolojik belirtiler arasında mental durum bozukluğu ve serebrovasküler olay (SVO) bulunmaktadır (Vitantonio, Fede ve Cennimo, 2019).

Pandeminin başlarında yapılan raporlamalarda tüm ölümler kritik hastalığı olan hastalarda meydana gelmiş ve genel vaka ölüm oranı %2.3, kritik hastalığı olan hastalarda vaka ölüm oranı ise %49 olarak tespit edilmiştir. Çocuklar arasında hastalık şiddeti yetişkinlerden daha hafif ve etkilenen çocukların %94'ünde belirtisiz, hafif veya orta derecede hastalık, %5'inde ağır hastalık ve %1'den azında kritik hastalık görülmüştür (Wu ve McGoogan, 2020).

Çin'in Wuhan kentinde yapılan çok sayıda erken çalışmada, ağır COVID-19 hastalığı olan hastalar arasında, hastalık başlangıcından nefes darlığı yaşadıkları zamana kadar geçen ortalama süre 5-8 gün, hastalığın başlangıcından ARDS'ye kadar geçen ortalama süre 8-12 gün ve hastalığın başlangıcından yoğun bakım ünitesine (YBÜ) kabule kadar geçen ortalama süre 9,5-12 gün olarak tespit edilmiştir. COVID-19'lu bazı hastaların hastalık başlangıcından yaklaşık bir hafta sonra hızla kötüleşme potansiyeli bulunmaktadır. Hastanede yatan tüm hastalar arasında, hastaların %26-%32'si yoğun bakım ünitesine kabul edilmiştir. Tüm hastaların % 3-17'si ARDS'ye sahipken, hastanede yatan hastaların %20-42'sinin ve YBÜ'ye kabul edilen hastaların % 67-85'inin ARDS'ye sahip olduğu görülmüştür. Yoğun bakım ünitesine kabul edilen hastalar arasındaki ölüm oranı, çalışmaya ve hasta popülasyonunun özelliklerine bağlı olarak %39 ile %72 arasında değişmiştir. Hayatta kalanlar arasında ortalama hastanede yatış süresi 10-13 gün olarak tespit edilmiştir (CDC, 2019).

Yaşın ağır hastalık, komplikasyonlar ve ölüm için güçlü bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir. Çin’de 44.000’den fazla onaylanmış COVID-19 vakasının bulunduğu grupta, vaka ölüm oranı ilerleyen yaşla birlikte artış göstermiş ve en yaşlı grupta en yüksek seviyede ölüm gözlenmiştir. Seksen yaş ve üzeri kişilerde ölüm oranı %14,8; 70-79 yaşta %8,0; 60-69 yaşta %3,6; 50-59 yaşta %1,3; 40-49 yaşta %0,4 ve 40 yaşından küçükler için %0,2 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada vaka ölüm oranı komorbidite ile artmaktadır ve altta yatan kardiyovasküler hastalığı olanların %10,5’inin, diyabetlilerin %7,3’ünün, kronik solunum hastalığı olanların %6,3’ünün ve kanserlilerin %5,6’sının COVID-19 ilişkili sebeplerden öldüğü belirtilmiştir (Wu ve McGoogan, 2020).

Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), astım (orta ila ağır şiddette), interstisyel akciğer hastalığı, kistik fibrozis ve pulmoner hipertansiyon dâhil olmak üzere kronik akciğer hastalıkları, geçmişte veya şimdi kanser öyküsü, herhangi bir evredeki kronik böbrek yetmezliği (KBY), alzheimer ve diğer nörolojik hastalıklar, tip-1 veya tip-2 diabetes mellitus (DM), down sendromu, kalp yetmezliği, koroner arter hastalığı, kardiyomiyopatiler ve hipertansiyon gibi kardiyak hastalıklar, İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü (HIV) enfeksiyonu, immünsupresyon yaratan durumlar (primer immün yetmezlik veya kortikosteroid veya diğer immünsupresif ilaçların uzun süreli kullanımı sekonder bağışıklık yetmezliği vb.), alkole bağlı karaciğer hastalığı, non-alkolik steatohepatit veya siroz gibi kronik karaciğer hastalığı, fazla kilolu [Beden kitle indeksi (BKİ) $> 25 \text{ kg/m}^2$ fakat $< 30 \text{ kg/m}^2$], obezite (BKİ $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ fakat $< 40 \text{ kg/m}^2$), ya da morbid obezite (BMI $\geq 40 \text{ kg/m}^2$)], gebelik veya lohusalık, orak hücreli anemi veya talasemi gibi hemoglobinopatiler, geçmişte veya şimdi sigara içicisi olmak, solid organ veya kök hücre transplantasyonu geçirmiş olmak, SVO geçirmiş olmak, bir madde kullanım bozukluğuna (alkol, opioid veya kokain kullanım bozukluğu gibi) sahip olmak COVID-19’u ağır şiddette geçirme olasılığını arttırmaktadır (CDC, 2019). COVID-19’da ciddi hastalık riskini artıran temel tıbbi durumların listesi çizelge 2.3’de sunulmuştur.

Çizelge 2.3. COVID-19’da ciddi hastalık riskini artıran temel tıbbi durumların listesi

Kanser	<u>Serebrovasküler hastalık</u>
Kronik böbrek yetmezliği	KOAH
Tip 1 DM	Tip 2 DM
Kalp rahatsızlıkları (kalp yetmezliği, koroner arter hastalığı veya kardiyomiyopatiler gibi)	Diğer akciğer hastalıkları (<u>interstisyel akciğer hastalığı</u> , <u>pulmoner fibrozis</u> , <u>pulmoner hipertansiyon dahil</u>)
Sigara içmek, şimdi veya geçmişte	Gebelik, şimdi veya geçmişte
Altta yatan belirli hastalıklara sahip çocuklar	<u>Kortikosteroidlerin</u> veya diğer <u>immünosupresif ilaçların kullanımı</u>
HIV	Nörolojik hastalıklar
Fazla kilolu	<u>Obezite</u>
<u>Down sendromu</u>	Solid organ veya kök hücre nakli
Madde kullanım bozuklukları	Orak hücre hastalığı
<u>Kistik fibrozis</u>	<u>Talasemi</u>
Astım	Hipertansiyon
Karaciğer hastalığı	<u>Immun yetmezlikler</u>

Bugüne kadar, COVID-19’dan iyileştikten sonra SARS-CoV-2 ile reenfeksiyon hakkında sınırlı veri mevcuttur. Yayınlanmış vaka raporları reenfeksiyonun mümkün olduğunu göstermiştir ancak COVID-19’dan iyileşen kişilerin SARS-CoV-2 ile yeniden enfeksiyona karşı ne kadar süreyle korunduğu, koruma sağlamak için hangi antikor konsantrasyonuna ihtiyaç olduğu ve ne sıklıkta reenfeksiyonun meydana gelebileceği belirsizliğini korumaktadır (CDC, 2019).

SARS-CoV-2 ile enfekte olan bazı hastalarda enfeksiyondan dört veya daha fazla hafta sonra, bazen ilk semptomların iyileşmesinden sonra yeni, tekrarlayan veya devam eden semptomlar ve bulgular görülmektedir. Hafif veya belirtisiz enfeksiyonları olanlar da dâhil olmak üzere, akut enfeksiyon sırasında değişen şiddette hastalığı olan kişilerde bu durum ortaya çıkabilmektedir (CDC, 2019).

Uzamış (Long) COVID-19, Kronik COVID-19 Sendromu veya Post-akut COVID-19 olarak adlandırılan akut COVID-19'dan sonra kalıcı belirtiler ve/veya organ disfonksiyonu yaşayan hastaların sayısında artış olmuştur. Bu belirtilerin içeriği, doğal seyri ve etiyolojisi hakkında veriler ortaya çıkmaktadır. Bununla birlikte, bu raporların, üzerinde anlaşmaya varılmış bir vaka tanımının olmaması ve çoğu raporun yalnızca COVID-19 sonrası kliniklere giden hastaları içermesi ve karşılaştırmalı gruplar içermemesi nedeniyle çeşitli sınırlamaları bulunmaktadır. COVID-19'un kalıcı etkileri için henüz belirli bir tedavi tanımlanmamıştır (National Institutes of Health, 2021).

Uzamış COVID-19, COVID-19'dan dört veya daha fazla hafta sonra ortaya çıkan çeşitli sağlık sorunları olarak da tanımlanmaktadır. Akut COVID-19 hastalığını takiben olağan sağlık durumuna dönüş eksikliği olarak da kabul edilebilmektedir. Dört veya daha fazla haftalık zaman çerçevesi, akut dönemin ötesinde meydana gelen etkilerin kabaca bir tahminini sağlamaktadır ancak daha fazla bilgi edindikçe terminolojinin güncelleneceği tahmin edilmektedir. Bu etkiler hakkında, bunlara neyin sebep olduğu ve ne sıklıkta meydana geldikleri de dâhil olmak üzere, bilimsel bilgiler hala sınırlıdır (CDC, 2019). Uzamış COVID-19'da sık bildirilen belirti veya bulgular Çizelge 2.4'de sunulmuştur.

Çizelge 2.4. Uzamış COVID-19'da sık bildirilen semptom veya bulgular

<u>Dispne</u>	Tükenmişlik, yorgunluk
Fiziksel veya zihinsel aktivitelerden sonra kötüleşen <u>semptomlar</u>	Zayıf bellek veya zayıf <u>konsantrasyon</u> (bazen —beyin sisil olarak anılır)
Öksürük	Göğüs veya karın ağrısı
Baş ağrısı	Çarpıntı
Eklemler veya kas ağrısı	<u>Parestezi</u>
İshal	Ateş
Uyku problemleri	Ayaktayken baş dönmesi
Döküntü	<u>Duygudurum değişiklikleri</u>
Koku veya tat değişikliği	<u>Menstrual siklus değişikliği</u>
Ağrı	Bozulmuş günlük işlev ve <u>mobilité</u>

COVID-19'un multi-organ sistemi etkileri, kardiyovasküler, pulmoner, renal, dermatolojik, nörolojik ve psikiyatrik dâhil olmak üzere tüm vücut sistemlerinde olmasa da çoğunda belgelenmiştir. COVID-19'dan sonra multisistem inflamatuvar sendrom (MIS) ve otoimmün durumlar da ortaya çıkabilmektedir. Akut hastalık düzeldikten sonra çeşitli sağlık etkileri devam edebilmektedir (örneğin pulmoner fibrozis, miyokardit). Çoklu organ sistemi etkilerinin ne kadar süreceği ve etkilerin kronik sağlık sorunlarına yol açıp açmayacağı bilinmemektedir. COVID-19 sonrası koşulların neden olduğu belirtileri başka nedenlerle ortaya çıkan belirtilerden ayırt etmek zor olabilmektedir. COVID-19 pandemi önleme tedbirlerinden kaynaklanan sosyal izolasyonun yanı sıra COVID-19'un akut dönem ve sonrası etkilerini yaşayan hastalar, sıklıkla depresyon, anksiyete veya duygudurum değişiklikleri semptomlarından yakınmaktadırlar (CDC, 2019).

Hafif, orta, ağır, kritik gibi hastalık şiddeti kategorileri için yapılan tanımlar gebe hastalar için de geçerliliğini korumaktadır. Bununla birlikte, bazı müdahaleler için eşik, gebe hastalar ve gebe olmayan hastalar için farklı olabilmektedir. Örneğin gebelik sırasında oksijen talebinde fizyolojik değişikliklere uyum sağlamak ve fetüse yeterli oksijen sunumunu sağlamak için deniz seviyesinde oda havasında satürasyon % 95 altına düştüğünde oksijen takviyesi gebe hastalar için önerilmektedir (National Institutes of Health, 2021).

Giderek artan veriler, COVID-19'lu çocukların yaşadığı klinik belirtilerin yetişkinlere benzer olduğunu, ancak hastalığın genellikle yetişkinlerden daha hafif olduğunu ve belirtilerin ciddiyetinin çocuğun yaşına göre değiştiğini göstermektedir. SARS-CoV-2 ile enfekte olan birçok çocuk belirtisiz kalmakta veya hafif hastalık geçirmektedir. COVID-19'lu çocuklarda yaygın olarak bildirilen belirtiler arasında öksürük veya ateş bulunmakta ve birçok çocuk ayrıca gastrointestinal veya başka belirtiler yaşamaktadır. COVID-19'lu çocukların çoğunda belirtisiz veya hafif hastalık olsa da, çocuklarda ölümler dâhil ciddi sonuçlar da bildirilmiştir. Altta yatan belirli hastalıkları olan her yaştan çocuklarda ciddi hastalık riski yüksek olabilir ayrıca bebekler (<12 aylık) COVID-19'dan kaynaklanan ciddi hastalık riski altında bulunmaktadır (CDC, 2019).

Multisistem inflamatuvar sendrom (MIS) kalp, akciğerler, böbrekler, beyin, cilt, gözler veya gastrointestinal organlar dâhil olmak üzere farklı vücut bölümlerinin inflamasyonuyla seyreden COVID-19 ile ilişkili nadir fakat ciddi bir durum olarak belirtilmiştir. Çocukları (MIS-C) ve yetişkinleri (MIS-A) etkileyebilmektedir. MIS-C ve MIS-A birçok yönden

benzemekte ve MIS-C, MIS-A'dan daha yaygın görülmektedir. Çocuklara kıyasla yetişkinlerin bağışıklık sistemlerindeki farklılıklar ve yetişkinlerde altta yatan ek hastalıkların daha fazla olması nedeniyle MIS-A için ağır sonuçlar daha olası görünmektedir. MIS-C vaka tanımı CDC tarafından 21 yaşından küçük kişileri, MIS-A vaka tanımı ise 21 yaş ve üzeri kişileri kapsamaktadır (103). ABD'de MIS-C vaka sayısı Haziran 2021 itibarıyla dört bini aşmıştır (104) (CDC, 2019). CDC'nin MIS-C tanı kriterleri çizelge 2.5'de sunulmuştur.

Çizelge 2.5. CDC MIS-C tanı kriterleri

CDC MIS-C Vaka Tanımı
4 kriterin tümü karşılanmalıdır.
1. yaş <21
2.Aşağıdakilerin tümünü içeren MIS-C ile uyumlu klinik sunum
Ateş ? 24 saat süren kanıtlanmış ateş >38,0°C Veya ? 24 saat süren subjektif ateş
Enflamasyonun laboratuvar kanıtı Aşağıdakilerden herhangi biri dahil ancak bunlarla sınırlı değildir: Artmış CRP, ESR, fibrinojen, prokalsitonin, D-dimer, ferritin, LDH, IL-6 seviyesi Nötrofili Lenfositopeni Hipoalbuminemi
Birden fazla sistem tutulumu Kardiyovasküler (örn. şok, artmış troponin, BNP, anormal elektrokardiyografi, aritmi) Solunum (örn. pnömoni, ARDS, pulmoner emboli) Renal (örn. Akut böbrek hasarı, böbrek yetmezliği) Nörolojik (örn. nöbet, SVO, aseptik menenjit) Hematolojik (örneğin koagülopati) Gastrointestinal (örn. kann ağrısı, kusma, ishal, ileus, gastrointestinal kanama, artmış karaciğer enzimleri) Dermatolojik (örneğin entrodenma, mukozit, diğer döküntüler)
Hastaneye yatmayı gerektiren ağır hastalık
3.Alternatif tanı yokluğu
4. Yakın zamanda veya mevcut SARS-CoV-2 enfeksiyonu veya maruziyeti
Aşağıdakilerden herhangi biri: Pozitif SARS-CoV-2 RT-PCR Pozitif seroloji Pozitif antijen testi Semptomların başlamasından önceki 4 hafta içinde COVID-19 maruziyeti

Şu anda bildiklerimize dayanarak, MIS-C veya MIS-A'yı önlemenin en iyi yolu, COVID-19 aşısı ve COVID-19'a yakalanmaktan korunmak için önlemler almaktır (CDC, 2021). Çocukların sağlığını korumanın bir yolu da, bir hanedeki tüm yetişkinlerin COVID-19'a karşı tam aşı olmasını sağlamaktır (CDC, 2019).

2.4.4. COVID-19 tanı yöntemleri

Enfeksiyon şüphesi olan tüm belirtisiz hastalarda COVID-19 olasılığının düşünülmesi ve hasta maske takmadıysa maskesi takılarak COVID-19 için ayrılmış alana yönlendirilerek test yapılması önerilmektedir. Özellikle solunum yolu belirtileri ve yeni başlayan ateşi olan hastalarda veya belirgin bir nedeni olmayan şiddetli alt solunum yolu belirtileri olan hastalarda COVID-19'un olasılık olarak düşünülmesi gerektiği belirtilmektedir. Bu tür hastalar, SARS-CoV-2 bulaşının olduğu bir bölgede bulunuyorsa veya önceki 14 gün içinde COVID-19'u doğrulanmış veya şüphelenilen bir kişiyle yakın temas halindeyse, şüphe artmaktadır (European Centre for Disease Prevention and Control, 2021). COVID-19 vaka tanımı çizelge 2.6'da sunulmuştur.

Laboratuvar testleri için numunelerin enfeksiyonun erken döneminde toplanması önerilmektedir. Yüksek viral yüklerin, belirti başlangıcında veya hemen sonrasında olduğu tespit edilmiş ve daha sonra azalma eğiliminde olduğu gösterilmiştir. COVID-19 akut enfeksiyon kesin tanısı moleküler yöntemlerle konulmaktadır. COVID-19 mevcut enfeksiyonunu tespit etmek için serolojik testlerin kullanılması (European Center for Disease Prevention and Control, 2021).

Çizelge 2.6. COVID-19 vaka tanımı

OLASI VAKA
A: » Ateş, öksürük, nefes darlığı, boğaz ağrısı, baş ağrısı, kas ağrıları, tat ve koku alma kaybı veya ishal belirti ve bulgularından en az biri VE » Klinik tablonun başka bir neden/hastalık ile açıklanamaması VE » Semptomların başlamasından önceki 14 gün içerisinde kendisi veya yakın temasının hastalık açısından yüksek riskli bölgede bulunma öyküsü VEYA B: » Ateş, öksürük, nefes darlığı, boğaz ağrısı, baş ağrısı, kas ağrıları, tat ve koku alma kaybı veya ishal belirti ve bulgularından en az biri VE » Semptomların başlamasından önceki 14 gün içerisinde doğrulanmış COVID-19 vakası ile yakın temas eden VEYA C: » Ateş ve ağır akut solunum yolu enfeksiyonu belirti ve bulgularından en az biri (öksürük ve solunum sıkıntısı), VE » Hastanede yatış gerekliliği varlığı (SARI)* VE » Klinik tablonun başka bir neden/hastalık ile açıklanamaması *SARI (Severe Acute Respiratory Infections-Ağır Akut Solunum Yolu Enfeksiyonları) son 14 gün içinde gelişen akut solunum yolu enfeksiyonu olan bir hastada, ateş, öksürük ve dispne, takipne, hipoksemi, hipotansiyon, akciğer görüntülemesinde yaygın radyolojik bulgu ve bilinç değişikliği nedeniyle hastaneye yatış gerekliliği VEYA D: » Ateş, öksürük, nefes darlığı, boğaz ağrısı, baş ağrısı, kas ağrıları, tat ve koku alma kaybı veya ishal belirti ve bulgularından en az ikisinin bir arada olması ve bu durumun başka bir neden/hastalık ile açıklanamaması.
KESİN VAKA
» Olası vaka tanımına uyan olgulardan moleküler yöntemlerle SARS-CoV-2 saptanan olgular.

COVID-19 tanısında kullanılan mikrobiyolojik testler

Mevcut enfeksiyonu göstermek için viral testler kullanılırken, serolojik testler SARS-CoV-2 ile geçirilmiş enfeksiyon olduğuna dair kanıt elde etmek için kullanılmaktadır.

Bir kişiye SARS-CoV-2 bulaşıp bulaşmadığını belirlemek için kullanılabilecek 3 tür test bulunmaktadır:

- Viral nükleik asit (RNA) tespiti
- Viral antijen tespiti
- Virüse karşı antikorların tespiti (Vitantonio ve diğerleri, 2019).

Viral testler olarak NAAT ve antijen testleri, seroloji testlerinden ise antikor testi yapılmaktadır (CDC, 2019). Viral testler, diğer kişilerden izole edilmesi gereken enfekte

kişileri belirleyerek SARS-CoV-2'nin bulaşmasını azaltmak için tarama testleri olarak da kullanılabilir (CDC, 2019).

COVID-19 olgularının rutin doğrulamasında altın standart, gerçek-zamanlı reverse transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (rRT-PCR) gibi bir NAAT ile virus RNA'sının özgül dizilerinin saptanması ve gerekli olduğunda nükleik asit dizi analizi yöntemi ile doğrulanması temeline dayanmaktadır (Sağlık Bakanlığı, 2021).

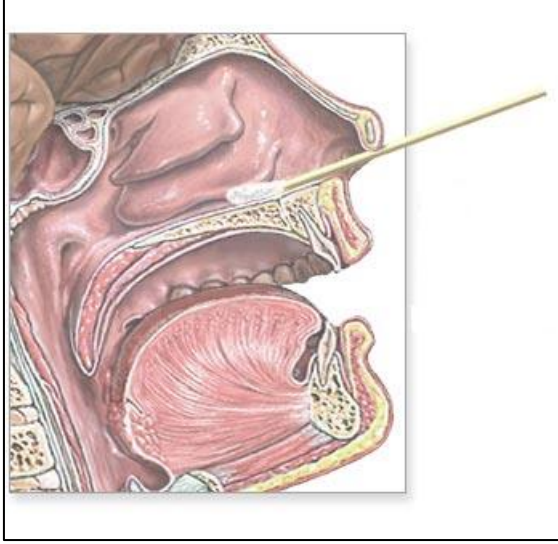
NAAT, SARS-CoV-2 enfeksiyonunu teşhis etmek için yüksek sensitiviteye ve spesifiteye sahip testtir ve mevcut bir enfeksiyonu veya yeni bir enfeksiyonu göstermektedir ancak uzun süreli viral RNA tespiti nedeniyle, replike olabilen veya başkalarına bulaşabilen virüsün varlığı için her zaman doğrudan kanıt olmamaktadır (CDC, 2019).

NAAT'ler, nazofaringeal, orofaringeal, nazal orta konka, ön burun ucu, alt solunum yolu (bronkoalveolar lavaj, trakeal aspirat, plevral sıvı, akciğer biyopsisi, balgam) veya tükürük gibi üst solunum yolu numunelerinde gerçekleştirilebilmektedir (CDC, 2019).

Üst solunum yolu numunelerinden olan kombine sürüntü (nazofaringeal sürüntü + orofaringeal sürüntü) aynı eküvyonla alınmaktadır. Kombine sürüntü örneği alınması durumunda önce orofaringeal sürüntü sonrasında aynı eküvyon kullanılarak nazofaringeal sürüntü alınması ve aynı virüs taşıma ortamına konularak gönderilmesi önerilmektedir. Orofaringeal sürüntü alınırken eküvyon hem tonsil alanlarına hem de posterior farenkse sürülerek dile, dişlere ve diş etlerine dokunmaktan kaçınılarak viral nükleik asit koruyucu sıvı ve/veya viral taşıma ortamına konulmakta ve yine aynı eküvyon kullanılarak nazofaringeal sürüntü alınmaktadır (National Library of Medicine, 2023).

Nazofaringeal sürüntü alınmadan önce hastanın burnunu temizlemesi istenmekte ve burun pasajı ile ilgili herhangi bir sorun (deviasyon, polip, kanama eğilimi vs.) olup olmadığı sorgulanmaktadır. Hastanın başı 70° arkaya doğru itilmekte, tavana bakması istenmekte ve eküvyon, burun deliğinden ağız tavanına paralel bir şekilde kulağın dış açıklığına kadar olan mesafeye ya da arka farinks duvarına değinceye dek itilmektedir (hastanın o taraftaki gözünden yaş gelmesi uygun mesafede olduğunun göstergesidir). Eküvyonu ilerletirken dirençle karşılaşılması halinde çubuğun yönünün değiştirilerek engelin aşılma çalışması önerilmektedir. İstenilen noktaya ulaşıldığında çubuk birkaç saniye yerinde bırakıldıktan

sonra kendi etrafında döndürülerek yavaş yavaş dışarı çıkartılmaktadır. Aynı çubuk ile her iki burun deliğinden numune alınabilmekte ancak fırçamsı uç ilk uygulamada yeterince sıvıyla doymuşsa her iki taraftan birden alınması gerekliliği bulunmamaktadır. Nazofarengeal numune alımı şekil 2.12’te sunulmuştur (Sağlık Bakanlığı, 2021).



Şekil 2.12. Nazofarengeal numune alımı (National Library of Medicine, 2023)

Antijen testleri, spesifik bir viral antijenin varlığını saptayan testlerdir. Influenza virüsleri ve respiratuar sinsityal virüs dâhil olmak üzere solunum yolu patojenlerinin tanısında yaygın olarak kullanılmaktadır. Antijen testleri genellikle benzer özelliğe sahiptir ancak çoğu NAAT’den daha az duyarlıdır. Çoğu NAAT’lerden daha ucuzdur ve dakikalar içinde sonuçlar elde edilebilmekte ve bu nedenle bulaşıcı olması muhtemel kişileri hızlı bir şekilde belirlemek için tarama programlarında kullanılabilir. Nazofaringeal veya ön burun ucu numuneleri üzerinde yapılmasına izin verilmektedir.

Tanısal testlerin klinik performansı büyük ölçüde kullanıldıkları koşullara bağlıdır. Hem antijen testleri hem de NAAT’ler, kişi viral yükleri genellikle en yüksek olduğunda test edilirse en iyi performansı göstermektedir (CDC, 2019).

Numunelerin doğru zamanda, doğru yerden uygun şekilde elde edilmesi, bulaşıcı hastalıkların laboratuvar tanısında en önemli adımdır. Örneğin doğru şekilde alınmaması ve uygun koşullarda laboratuvara ulaştırılmaması yanlış negatif test sonuçlarına yol açabilmektedir. Numune alındıktan sonra sürüntü çubuklarının hızla steril viral nükleik asit

koruyucu sıvı ve/veya viral taşıma ortamına konulması ve laboratuvara gönderilene kadar + 2-8 C de tutulması önerilmektedir. Numuneler toplandıktan sonra 48 saate kadar + 2-8°C’de saklanabilmekte, 48. Saatten sonra -70°’de saklanması önerilmektedir (European Centre for Disease Prevention and Control, 2021).

Antijen testlerinin performans özellikleri nedeniyle, bazı antijen testi sonuçlarının (örn. belirtileri olan kişilerde negatif test veya belirtisiz kişilerde pozitif test) laboratuvar tabanlı bir NAAT ile doğrulanması gerekebilmektedir. Antijen testlerinin yüksek özgüllüğüne rağmen, özellikle enfeksiyon yaygınlığının düşük olduğu topluluklarda kullanıldığında yanlış pozitif sonuçlar ortaya çıkabilmektedir (O.G ve diğerleri, 2020).

Antikor testleri serolojik testleri olarak kullanılmaktadır ve mevcut enfeksiyonu teşhis etmek için antikor testi kullanılması önerilmemektedir. Genel olarak, pozitif bir antikor testinin, bir kişinin geçmişte bir noktada COVID-19’a neden olan virüs olan SARS-CoV-2 ile enfekte olduğu anlamına geldiği varsayılmaktadır. Örnek alındığında enfekte oldukları anlamına gelmemektedir. Antikorlar genellikle enfeksiyondan 1 ila 3 hafta sonra üretilmeye başlamaktadır. Birinin enfekte olduğu zamana ve testin zamanlamasına bağlı olarak, test mevcut enfeksiyonu olan bir kişide antikor tespit etmeyebilmektedir. Ayrıca pozitif bir antikor testi sonucunun SARS-CoV-2’ye karşı bağışıklığı gösterip göstermediği şu anda bilinmemektedir. Bu nedenle, şu anda bir kişinin yeniden enfeksiyona karşı bağışık olup olmadığını belirlemek için antikor testleri kullanılması önerilmemektedir (CDC, 2019).

Tanı testi olarak kullanılan NAAT’den, gerçek zamanlı reverse transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu testi kişi COVID-19 hastası olduğu halde çeşitli gerekçelerle (enfekte bireyde hasta materyalinin çok az olduğu kalitesiz örnek, örneğin enfeksiyonun çok erken ya da geç evresinde alınması, örneğin uygun bir şekilde işlenmemesi ve gönderilmemesi, PCR inhibisyonu veya virüs mutasyonu gibi testin doğasında bulunan teknik nedenler, SARS-CoV-2 virüsünün belirtili ve belirtisiz vakalarda dalgalı saçılım göstermesi vb.) negatif sonuç verebilmektedir (Sağlık Bakanlığı, 2021).

Bildirilen yanlış negatif sonuçların, referans standardı olmadığı için tahminler sınırlı olsa da, % 4 - 40 arasında değiştiği tahmin edilmektedir. COVID-19 olduğundan şüphelenilen ve SARS-CoV-2 NAAT’si negatif olan hastalarda, karakteristik laboratuvar veya görüntüleme bulguları COVID-19’un klinik tanısını daha fazla destekleyebilmektedir. Hastalıktan üç ila

dört hafta sonra NAAT'si negatif olan bu hastalar için serolojik test de bilgilendirici olabilmektedir (O.G ve diğerleri, 2020).

Hemogram (tam kan sayımı, CBC)

Hemogram en sık yapılan kan testidir. Kolayca istenip ve yorumlanabilmektedir. Pahalı olmaması nedeniyle rutin muayenelerin önemli bir bölümünü oluşturmaktadır. Tam kan sayımı ile hematokrit (HCT), hemoglobin (Hb), eritrosit sayısı (RBC), ortalama korpüsküler hacim (MCV), ortalama korpüsküler hemoglobin (MCH), ortalama korpüsküler hemoglobin konsantrasyonu (MCHC), farklı tip ve sayıdaki lökositlerin sayısı ve oranı (lenfositler, nötrofiller, monositler, eozinofiller, bazofiller), trombosit (PLT) sayısı ve ortalama trombosit hacmi (MPV) istenilen ve değerlendirilen testlerdir (Celkan, 2020).

Hemogramda değerlendirilen parametrelerden eritrositler oksijen (O₂) ve karbondioksit (CO₂) taşıyan çapı 6 ile 9 mikron arasında değişen bikonkav disk şeklindeki çekirdeksiz hücrelerdir. Eritrosit (RBC) sayısı, mikrolitre (mikroL) kan başına RBC sayısıdır (veya RBC sayısı x 10¹²/L). Artmış bir RBC polisitemi veya bir globin sentezi bozukluğunu yansıtabilmektedir. Azalmış bir RBC tipik olarak anemiyi yansıtmaktadır. Hemoglobin eritrositin gaz alışverişini sağlayan proteindir. Gram/desilitre (g/dL) cinsinden tam kandaki konsantrasyonu ifade edilmektedir. Artmış bir Hb, bir polisitemiyi (reaktif veya neoplastik) yansıtabilmekte veya dehidrasyona bağlı olabilmektedir. Düşük bir Hg tipik olarak anemiyi yansıtmaktadır ve anemilerin sınıflandırılmasında kullanılmaktadır (Celkan,2020).

Hematokrit (HCT), eritrositlerin tam kan içindeki hacim oranıdır ve yüzde (%) olarak ifade edilmektedir (Celkan,2020). $HCT = (RBC \times MCV)/10$ olarak ölçülebilmekte veya hesaplanabilmektedir. Artmış bir hematokrit, polisitemiyi (reaktif veya neoplastik) yansıtabilmektedir (George-Gay ve Parker, 2003).

Ortalama korpüsküler hacim (MCV), hastanın eritrositlerinin ortalama hacmidir. Femtolitre (fL) cinsinden $= 10 \times HCT \text{ (yüzde)} \div RBC \text{ (milyon/mikroL)}$ hesaplanmaktadır. MCV'nin düşük, normal veya yüksek olması anemilerin sınıflandırılmasında çok sık kullanılmaktadır. Ortalama korpüsküler hemoglobin (MCH), bir eritrositteki ortalama hemoglobin miktarıdır. $MCH \text{ pikogram (pg)/ hücre} = Hb \text{ (g/dL)} \times 10 \div RBC \text{ (milyon/mikroL)}$ olarak hesaplanmaktadır. Düşük bir MCH, hücre başına düşen hemoglobin içeriğine işaret eder ve

tipik olarak periferik kan yaymasında hipokromi olarak görünmektedir. Bu durum demir eksikliğinde ve globin sentezi bozukluklarında görülebilmektedir. Ortalama korpüsküler hemoglobin konsantrasyonu (MCHC), gram/dL cinsinden eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonudur. $MCHC (g/dL) = Hgb (g/dL) \times 100 \div HCT (\text{yüzde})$ olarak hesaplanmaktadır. Bu parametre genellikle cihazlar için kontrol parametresi olarak kullanılmaktadır. Düşük ve yüksek MCHC değerleri, anemilerin sınıflandırılmasında yardımcı olmaktadır. MCHC değeri kişinin ömrü boyunca pek az değişmektedir. MCHC düzeyini etkileyen çok az patolojik durum söz konusu olmaktadır. Çok düşük MCHC değerleri (<32) tipik olarak demir eksikliği anemisi ve çok yüksek (>36) MCHC değerleri tipik olarak hereditör sferositozu yansıtmaktadır. Periferik kan yaymasının incelenmesi bu bulguların ayırt edilmesinde yardımcıdır (Celkan, 2020; George-Gay ve Parker, 2003).

Eritrosit dağılım aralığı (RDW) testi, tam kan sayımının bir parçası olarak eritrosit boyutundaki veya hacmindeki değişimi ölçer ve özellikle ortalama korpüsküler hacim (MCV) ile birlikte anemi nedenlerini belirlemeye yardımcı olmak için kullanılmaktadır (National Library of Medicine).

Trombositler (PLT) kanın pıhtılaşmasını başlatan hücrelerdir. Tam kan sayımları trombosit fonksiyonları açısından bilgi vermemektedir. Trombosit sayısı, mikrolitre kan başına düşen trombosit sayısıdır (veya trombosit sayısı $\times 10^9/L$). Reaktif ve neoplastik durumlarda trombositoz görülebilmektedir (Franceschi, Dal Maso ve La Vecchia, 1999). Trombositopeni tespit edildiğinde, öncelikle trombositopeninin izole olup olmadığı ve diğer hücrelerin (RBC'ler ve WBC'ler) dâhil olup olmadığının incelenmesi önerilmektedir. Her üç serinin de dâhil olduğu pansitopeni varlığında durum genellikle kemik iliğinden kaynaklanmaktadır. Trombositopeniye eşlik eden hepatosplenomegali ve lenfadenomegali varlığında enfeksiyon bulguları tespit edilemezse en sık nedenlerden biri lösemidir. Hepatosplenomegali ve lenfadenomegali olmaksızın trombositopeni varlığında, son 10-15 gün içinde viral enfeksiyon veya aşı öyküsü varsa en olası tanı immün trombositopenidir (Celkan, 2020).

Periferik kan yaymasının incelenmesi olası nedenleri ayırt etmede yardımcı olmaktadır. Trombositopeninin başlıca patofizyolojik mekanizmaları arasında kemik iliğinde trombosit üretiminin azalması; antikorlar tarafından periferik trombosit yıkımı; trombüs nedeniyle tüketimi; sıvı resüsitasyonu veya yoğun transfüzyondan kaynaklanan dilüsyon ve portal

hipertansiyon ve/veya splenomegali olan bireylerde dalakta trombositlerin sekestrasyonu yer almaktadır. Karaciğer, trombopoetinin üretiminin yeridir ve karaciğer hastalığı, karaciğer sentetik fonksiyonu önemli ölçüde bozduğunda, düşük trombopoetinin seviyeleri nedeniyle trombositopeniye neden olabilmektedir. Kızamıkçık, kabakulak, suçiçeği, parvovirüs, hücre içi parazitler (örneğin sıtma, babesia) hepatit C, Epstein-Barr virüsü (EBV), malignite, heparine bağlı trombositopeni, trombotik trombositopenik purpura, ilaca bağlı immün trombositopeni, B12 vitamini , folat, bakır eksikliği, romatolojik/otoimmün bozukluklar [örneğin sistemik lupus eritematozus (SLE), romatoid artrit (RA)], alkol kullanımı, gebelik ve hereditör nedenler diğer trombositopeni nedenleri arasında yer almaktadır (Provan ve diğerleri, 2019).

Ortalama trombosit hacmi (MPV), hastanın trombositlerinin femtolitre (fL) cinsinden ölçülen ortalama hacmidir (boyutudur). MPV'nin değerlendirilmesinin trombosit sayısı bağlamında yapılması önerilmektedir. Artan MPV ve artan sayıda büyük trombosit, artmış trombopoezin bulgularıdır (Emmons ve diğerleri, 1996). Trombositopenisi olan tüm hastalarda ortalama trombosit hacmine bakılması önerilmektedir. MPV >8 fL ise kanama riskinin daha düşük olduğu belirtilmiştir. MPV değeri >11 fL ise ailevi makrotrombosit bozukluklarını düşündürmektedir. Bazı çalışmalarda, özellikle yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda ve bazı kalp hastalığı olan hastalarda MPV değerlerinin prognoz ile ilişkili olduğu vurgulanmıştır (Celkan, 2020).

Trombosit dağılım genişliği (PDW, platelet distribution width) trombosit boyutundaki varyasyonu yansıtır ve trombositopeninin ayırıcı tanısında kullanılmaktadır (Takeuchi ve diğerleri, 2017).

Lökositler (WBC) ışık mikroskobu altında alyuvarlara göre renksiz göründükleri için bu adı almışlardır. Işık mikroskobunda görünüşlerine göre beş ayrı türe ayrılmaktadırlar: Nötrofil, lenfosit, bazofil, monosit, eozinofil. Lökosit sayısındaki artış enfeksiyonla ilişkili bulunsa da yaş, vücut ısısı, egzersiz ve nöbet geçirmek gibi faktörler WBC sayısını etkilemektedir. Neoplastik ve neoplastik olmayan koşullarda lökositoz görülebilmektedir. WBC azalırsa hangi hücre tipinin azaldığını belirlemek için periferik kan yaymasını incelemek gerekmektedir (George-Gay ve Parker, 2003). Lökopeni ve ayrıca lökositoz, bir enfeksiyonun varlığını gösterebilmektedir. Genellikle lökopeni, viral enfeksiyonun başlangıcından 1-2 gün önce başlamakta ve haftalarca sürebilmektedir (Celkan, 2020).

Periferik kan ve kemik iliğindeki lökositlerin çoğunluğunu nötrofiller oluşturduğundan, neredeyse tüm lökopeni vakaları nötropeni olarak kendini göstermektedir (Berliner ve diğerleri, 2005).

Nötrofiller mikrobiyal enfeksiyonlara karşı savunmada önemli görev üstlenen fagositoz yapan ve istilacı bakterileri yok eden lökositlerdir (Emmons ve diğerleri, 1996). Dolaşımdaki lökositlerin yaklaşık %50-70'i nötrofillerdir. Nötropeni etnik, ailesel, konjenital, EBV, hepatit, HIV gibi viral, bakteriyel, paraziter veya riketsiyal enfeksiyonlar, B12, bakır veya folat gibi vitamin veya eser element eksiklikleri, maligniteler, SLE, RA gibi romatolojik hastalıklar ve otoimmün nedenler olmak üzere birçok etmenden kaynaklanabilmektedir (Berliner ve diğerleri, 2005).

Lenfositler lökositlerin yaklaşık %20-40 kadarını oluşturmaktadır. Kendi aralarında T hücresi, B hücresi, doğal öldürücü hücre (natural killer, NK) gibi alt türlere ayrılmaktadırlar. Hem kalıtsal, hem de edinsel bağışıklıkta görev alan bu hücreler neredeyse immün sistemin bütün savunma olaylarına aracılık etmektedirler. Antikor yapan, virüs bulaşmış hücreleri öldüren ve diğer lökositlerin aktivitelerini düzenleyen lökositlerdir (Emmons ve diğerleri, 1996). Lenfositopeni: HIV, influenza, koronavirüsler (örn. SARS, SARS-CoV-2), hepatit, kızamık gibi viral enfeksiyonlar; bakteriyel, mikobakteriyel, mantar ve parazit enfeksiyonları; malnutrisyon, stres, travma, çinko eksikliği; böbrek yetmezliği gibi sistemik hastalıklar; yaygın değişken immün yetmezlik gibi konjenital immün yetmezlik hastalıkları ve glukokortikoidler dâhil olmak üzere kemoterapi, radyoterapi veya immünosupresif tedavi gibi durumlarda görülebilmektedir (Berliner ve diğerleri, 2005).

Monositler istilacı mikroorganizmaları ve yabancı cisimleri ve ayrıca hasarlı yaşlanan hücreleri fagosit eden ve doku makrofajları haline gelen lökositlerdir. Lökositlerin yaklaşık %2-10'nunu oluşturmaktadırlar (Thapa ve Farber, 2019). Monositler kemik iliğinde gelişmekte ve makrofajlara veya dendritik hücrelere farklılaştıkları dokulara yerleşmeden önce kanda dolaşmaktadır. Bazıları antijenleri almakta ve makrofaj haline gelmeden bölgesel lenf düğümlerine taşımaktadır. Çoğu, içinde bulundukları doku için karakteristik olan makrofajlara farklılaşmaktadır (örneğin akciğerde interstisyel ve alveolar makrofajlar, karaciğerde kupffer hücreleri, kemikte osteoklastlar, kardiyak makrofajlar ve beyin ve retinadaki mikrogliya) (Rondanelli ve diğerleri, 2018).

Eosinofiller özellikle paraziter enfeksiyonlara karşı savunmada görev alan, alerjik durumlarda da sayıları artan ve alerjik inflamatuvar yanıtları modüle eden lökositlerdir (Emmons ve diğerleri, 1996). Lökositlerin yaklaşık %1-3'ünü oluşturmaktadırlar. Eozinofiller kanda dolaşmakta ancak esas olarak gastrointestinal sistemin lamina propriasında bulunmaktadır (Rondanelli ve diğerleri, 2018). Ateş, bakteriyel ve viral enfeksiyonlar ve sistemik glukokortikoid uygulaması, kandaki eozinofil sayılarını önemli ölçüde baskılayabilmektedir. Tam bir eozinofil yokluğu son derece nadirdir ancak timoma (Good sendromu) olan hastalarda tanımlanmıştır (Bernstein, 2021).

Bazofiller, yalnızca kanda görülen miyeloid kökenli lökositlerdir (Rondanelli ve diğerleri, 2018). Bazofiller belirli immün reaksiyonlarda histamin (ve bazen serotonin) salgılayan lökositlerdir. Özellikle alerjik durumlarda sayıları artmaktadır. Dolaşımdaki lökositlerin yaklaşık %0.5-1'ni oluşturmaktadırlar (Emmons ve diğerleri, 1996; Rondanelli ve diğerleri, 2018).

İnflamatuvar biyobelirteçler

CRP inflamasyonun aşamalarını etkileyebilir ve CRP'nin hem proinflamatuvar hem de antiinflamatuvar etkileri vardır ancak birincil etkisi antiinflamatuardır. CRP patojenlerin tanınmasını ve ortadan kaldırılmasını destekleyebilmekte ve nekrotik ve apoptotik hücrelerin temizlenmesini artırabilmektedir. CRP merkezi bir gözenek etrafında simetrik olarak düzenlenmiş, her biri yaklaşık 23 kilodalton moleküler ağırlığa sahip beş özdeş, kovalent olmayan ilişkili alt birimden oluşmaktadır. CRP ve bu yapıya sahip proteinler, doğuştan immün cevapta yer alan bir yapısal tanıma molekülleri ailesi olan pentraksinler olarak adlandırılmaktadırlar. CRP yükselmeleri, bulaşıcı hastalıklar ve enfeksiyöz olmayan inflamatuvar bozukluklar dâhil olmak üzere çeşitli nedenlere bağlı olarak akut ve kronik inflamasyonla bağlantılı olarak ortaya çıkmaktadır. Akut veya kronik inflamatuvar durumların yokluğunda metabolik streslerle ilişkili olarak da CRP yüksekliği ortaya çıkabilmektedir (Markozannes ve diğerleri, 2021).

Eritrosit sedimantasyon hızı (ESR) plazmada asılı duran eritrositlerin dikey bir tüpe yerleştirildiğinde düşme hızı (milimetre (mm)/saat olarak ifade edilen) olarak tanımlanmaktadır ve akut faz yanıtının dolaylı bir ölçümüdür. ESR, eritrosit boyutu, şekli

ve sayısındaki değişiklikler dâhil olmak üzere, inflamasyon ile ilgili olmayan değişikliklerden de etkilenebilmektedir (Bray ve diğerleri, 2016).

Ferritin demirin depolanmasında görev almaktadır. Ferritin, enfeksiyon veya iltihaplanma durumunda artan bir akut faz reaktanıdır. Karaciğer hastalığı olan hastalarda da ferritin yükselebilmektedir. Yüksek serum ferritini, aşırı demir yüklenmesi için hassas bir testtir ancak çok spesifik değildir çünkü aşırı demir yüklenmesi dışındaki birçok durum serum ferritininde yükselmelere neden olabilmektedir. Ferritin maligniteler, sistemik jüvenil idiyopatik artrit, sistemik lupus eritematozus, böbrek yetmezliği, hemofagositik lenfositik lenfositik/makrofaj aktivasyon sendromu ve metabolik sendrom dâhil olmak üzere çeşitli enflamasyon ortamlarında artabilmektedir (Kernan ve Carcillo, 2017).

Kardiyak test

Kardiyak Troponin I ve T, miyokard hasarının spesifik ve hassas biyobelirteçleridir. Akut miyokard enfarktüsü şüphesi olan hastaların değerlendirilmesi için tercih edilen serolojik testlerdir (Inker ve diğerleri, 2021).

Renal fonksiyon testleri

Glomerüler filtrasyon hızı (GFR), fonksiyone tüm nefronlardaki filtrasyon hızlarının toplamına eşittir. Bu nedenle GFR, fonksiyone nefronların sayısının kaba bir ölçüsünü vermektedir. Böbreğin filtreleme birimleri olan glomerüller, günde yaklaşık 180 litre (125 ml/dk) plazmayı süzmektedir. GFR normal değeri, yaşı, cinsiyet ve vücut büyüklüğüne bağlıdır. Böbrek hastalığı olan hastalarda GFR’de bir azalma meydana gelmektedir. GFR klinik olarak özellikle böbrek yetmezliğinin derecesini değerlendirmek ve hastalığın seyrini takip etmek için kullanılmaktadır. GFR, tek bir sayı ile böbrek fonksiyonunu en iyi yansıtan parametredir. Kreatinin üzerinden estimated glomerüler filtrasyon hızı (eGFR, tahmini GFR) hesaplaması yapılırken, The Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) formülü 2009’da geliştirilmiş ve daha iyi sonuç alınmıştır. CKD-EPI formülü ile $>90 \text{ mL/dakika (dk)}/1.73 \text{ m}^2$ üzerindeki GFR değerleri sayısal olarak da, $>90 \text{ mL/dk}/1.73 \text{ m}^2$ olarak da verilebilmektedir. Bu laboratuvarın kendisinin belirleyeceği bir karardır. CKD-EPI ile $>60 \text{ mL/dk}$ eGFR değerleri güvenle verilebilmektedir. Bu yüzden serum kreatinini

üzerinden otomatik olarak eGFR verilirken CKD-EPI formülünün kullanılması önerilmektedir (Inker ve diğerleri, 2021).

Kreatinin, iskelet kasındaki kreatinin metabolizmasından ve diyetle et alımından elde edilmektedir. Nispeten sabit bir oranda dolaşıma salınmaktadır. Kreatinin glomerülden serbestçe süzülmemektedir ve böbrek tarafından ne reabsorbe ne de metabolize edilmektedir. Bununla birlikte üriner kreatinininin yaklaşık %10-40'ı, proksimal tübüldeki organik katyon salgılama yolları tarafından tübüler sekresyonla oluşturulmaktadır. Renal tübüller tarafından kreatinin sekresyonu nedeniyle, kreatin alımı (diyetle) ve vücuttaki kreatinin havuzu boyutu (yani kas kütlesi) sabit kalırsa, plazma kreatinin konsantrasyonu da sabit kalması gerekmektedir. Hafif böbrek hastalığı olan hastalarda, serum kreatinin düzeyindeki küçük bir artış genellikle GFR'de belirgin bir düşüşü yansıtırken, ilerlemiş hastalığı olan hastalarda serum kreatinin düzeyindeki belirgin bir artış, GFR'de küçük bir mutlak azalmayı yansıtmaktadır (Miller ve Jones, 2018).

Kan üre nitrojeni (BUN) böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesinde kullanılan bir diğer testtir. GFR ile ters orantılı olarak değişse de BUN, GFR'den bağımsız olarak değişebildiğinden genellikle serum kreatinininden daha az faydalıdır. Bu duruma üre üretim hızının sabit olmaması, özellikle yüksek proteinli bir diyetle ve kanama, travma veya glukokortikoid tedavisine bağlı doku yıkımıyla artması ve düşük proteinli bir diyet veya karaciğer hastalığı ile (azalan üre üretimi nedeniyle) GFR'de değişiklik olmaksızın BUN'u düşürebilmesi neden olmaktadır (Inker ve diğerleri, 2021).

Sodyum (Na) bir katyondur ve ekstraselüler sıvıda bol miktarda bulunmaktadır. Bu nedenle ekstraselüler sıvı hacmi ve vücuttaki dağılımı büyük ölçüde sodyum tarafından kontrol edilmekte ve yine kanın ve ekstraselüler sıvının ozmalitesi büyük ölçüde sodyum tarafında belirlenmektedir. Vücut sodyumunun tükenmesi, ekstraselüler sıvının azalmasına neden olduğu için kanda hiponatremi olarak yansıtılmaktadır. Fazla sodyum (artan alım veya retansiyon nedeniyle) ekstraselüler artışa yol açar ve kanda hipernatremi olarak yansıtılmaktadır. Hiponatremi ishal, kusma, ileus gibi üçüncü boşluğa sıvı kaybı, böbrek yetmezliği, diüretik kullanımı gibi su tutulumuna bağlı dilüsyon veya sodyum kaybına bağlı olabilirken, hipernatremi nedenleri arasında ise orofaringeal veya özofagus hastalığı, yüksek ortam sıcaklıkları, terleme, yorucu egzersiz, antidiüretik hormon üretiminde veya yanıtta

azalma, şiddetli yanıklar gibi su kaybı veya alımının azaldığı durumlar bulunmaktadır (Vasudevan, Sreekumari ve Vaidyanathan, 2013).

Potasyum (K) başlıca hücre içi katyondur ve hücre içi hacmin korunmasından ve hücresel membran potansiyelinin belirlenmesinden sorumludur. Hipokalemi diüretikler, gastrointestinal kayıp, ishal ve/veya kusma, böbrek hastalıkları, böbrek yetmezliği, insülin ve glukoz tedavisine bağlı olabilirken, hiperkalemiye potasyum tutucu diüretikler, azalmış idrar potasyum atılımı, böbrek yetmezliği (anürik veya oligürik), travma, rabdomiyoliz gibi nedenler yol açmaktadır (Vasudevan ve diğerleri, 2013).

Ekstraselüler sıvıda en bol bulunan anyon olan klorür (Cl), ozmotik basınç üzerindeki etkisiyle hücre bütünlüğünü korumaktadır. Asit-baz dengesi ve su dengesinin izlenmesinde de önemlidir. Azalan klorür seviyeleri şiddetli kusma, şiddetli ishal, ülseratif kolit, pilorik tıkanıklık, şiddetli yanıklar, ateş ve pnömoni gibi akut enfeksiyonlarda görülebilen, dehidratasyon, cushing sendromu, hiperventilasyon, eklampsi, anemi ve kardiyak dekompanseasyonda artan düzeylerde klorür tespit edilmektedir (Vasudevan ve diğerleri, 2013).

Karaciğer enzimleri

Alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), karaciğer hasarının biyokimyasal belirteçleridir. Serum aminotransferazlar olarak da adlandırılmaktadırlar. Karaciğer enzimlerindeki yükselmeler sıklıkla karaciğerdeki hasarı veya biliyer obstrüksiyonu yansıtmaktadır. Yüksek serum aminotransferazları için ayırıcı tanı geniş ve viral hepatit, ilaçlardan veya toksinlerden kaynaklanan hepatotoksisite, alkolik karaciğer hastalığı, iskemik hepatit ve malign infiltrasyon gibi sebepleri içermektedir (Kunutsor, Apekey, Seddoh ve Walley, 2014).

LDH vücuttaki dokularda bulunan sitoplazmik bir enzimdir. LDH'nin beş izoenzim formu serumda bulunur ve çeşitli elektroforetik tekniklerle ayrılabilir. Hemoliz belirteci olarak, iskemik hepatit viral hepatitten ayırt etmek için ve miyokard enfarktüsünün bir belirteci olarak kullanılabilmektedir (Kunutsor ve diğerleri, 2014).

Serum alkalın fosfataz, ağırlıklı olarak karaciğer ve kemiklerden elde edilmektedir. Yükselmiş bir alkalın fosfatazın, karaciğerden mi yoksa kemiklerden mi kaynaklandığını belirlemek için pratikte karaciğer kaynaklıysa genellikle diğer kolestatik ölçümlerinin (örneğin gama-glutamil transpeptidaz (GGT) veya serum 5'-nükleotidaz) aynı anda yükselmesiyle doğrulanmaktadır. Gama-glutamil transpeptidaz hepatositlerde ve biliyer epitel hücrelerinde, ayrıca böbrek, seminal veziküller, pankreas, dalak, kalp ve beyinde bulunmaktadır. Pankreas hastalığı, miyokard enfarktüsü, böbrek yetmezliği, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, diabetes mellitus ve alkolizm dâhil olmak üzere çok çeşitli klinik durumlarda yüksek serum GGT seviyeleri bildirilmiştir (Whitfield, 2008).

Koagülasyon testleri

Protrombin zamanı (PT) pıhtılaşmanın ekstresek ve ortak yollarını değerlendirmekte ve doku faktörüne maruz kaldığında plazmanın pıhtılaşması için geçen süreyi ölçmektedir (Zehnder v.d., 2021; Aksungar v.d., 2020). Uzun PT nedenleri arasında protrombin, fibrinojen, faktör V veya faktör X eksikliği, karaciğer hastalığı, dissemine intravasküler koagülasyon (DIC), K vitamini eksikliği, antikoagülanlar, edinilmiş protrombin, fibrinojen, faktör V veya faktör X inhibitörü bulunmaktadır (Zehnder, Benson, Zehnder ve Benson, 1996).

Aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT) pıhtılaşmanın intrinsek ve ortak yollarını değerlendirmekte ve kontakt faktörü aktive eden maddelere maruz kalındığında plazmanın pıhtılaşması için geçen süreyi ölçmektedir (Zehnder v.d., 2021, Aksungar v.d., 2020). Uzun aPTT heparin kullanımı, antikoagülanlar, karaciğer hastalığı, DIC, von willebrand hastalığı, hemofili A ve B, lupus antikoagülanı gibi nedenlerden kaynaklanmaktadır (Zehnder ve diğerleri, 1996).

Bir trombotik olayın ardından doğal antikoagülanların kaybı (tükenmesi) ortaya çıkabildiği için trombozdan kısa süre sonra yapılacak olan testler, hatalı değerlendirmeye neden olabilmektedir. Doğru test sonuçları için gerekli olan kan/antikoagülan oranının sağlanması için, üretici firma tarafından belirlenmiş kan miktarının (dolum çizgisinde) alınmasına dikkat edilmesi önerilmektedir. Genel yaklaşım tüp dolum çizgisinin $\pm 10\%$ 'una kadar ($90\%-110\%$) kan ile doldurulabileceği yönündedir. Hem aPTT hem de PT testlerinin sabah saatlerinde daha kısa ölçüldüğü yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (134). Çoğu durumda PT

ve/veya aPTT'nin kısa ölçülmesi, kötü örnek toplama veya hazırlama tekniklerinden kaynaklanmaktadır D-dimer koagülasyon sisteminin herhangi bir nedenle aktivasyonu sonrasında çapraz bağlarla oluşan fibrin pıhtısının plazmin tarafından yıkılması sonucu oluşmaktadır. D-dimer derin ven trombozu, pulmoner emboli, DIC gibi hastalıkların tanısında kullanılmaktadır (Zehnder ve diğerleri, 1996).

3. MATERYAL VE METOD

COVID-19 hastalık etkeni SARS-CoV-2 virüsünü saptamak için önerilen mevcut laboratuvar testi stratejisi, SARS-COV-2'ye özgü gen bölgelerinin varlığını tespit etmek amaçlı yapılan SARS CoV-2 RT-PZR testidir.

3.1. Materyal

Hastalık etkeni SARS CoV-2 virüsünü tespit etmek amacıyla sürüntü örnekleri kullanılmıştır. Sürüntü örnekleri ticari viral taşıma çözültisi (VNAT-M) içinde muhafaza edilmiştir.

3.2. Çalışmada Kullanılan Cihazlar, Tanı Kitleri ve Malzemeler

Soğutmalı santrifüj (Thermo), Yatay jel elektroforez sistemi (Biorad), jel görüntüleme cihazı (Biorad), flow kabini (Esco), vorteks, kit saklama dolabı (+4°C) (Uğur), derin dondurucu (-20°C ve -80 °C, Uğur), mikropipetler (Eppendorf), Real Time PCR (Biorad CFX 96), NGS (Next Generation Sequencing - Yeni Nesil Sekanslama / Miseq- Illumina), viral taşıma çözültisi ve swap (VNAT-M), tanı kiti (Bioeksen Double Gene), Thermal Cyclers (Biorad), viral RNA izolasyon kiti (Diagnovital), Transcriptme Reverse Transcription Kit (Blirt S.A.), Saflaştırma kiti (NucleoFast 96 PCR clean-upplates MACHEREY-NAGEL GmbH), Quibit (İnvitrogen), manifold pompası (İntergen), Agaroz (Merck), Tris (Merck), EDTA (Merck), Borik Asit (Merck), DNA ladder (BMLabosis), Yeni nesil dizileme kartuşları (Miseq 300V2 kartuşları-Illumina Inc.), primer (Sentebiolab).

3.3. Real-Time PZR Testi

Örneklerin analizinde Real Time PCR (Biorad CFX 96) cihazı ve ticari tanı kiti (Bioeksen Double Gene) kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan kit içeriği Çizelge 3.1.'de ve program Çizelge 3.2.'de gösterilmiştir. Örnek başına, ticari kitin içinden yer alan 2x Prime miksten örnek başına 10 µl, Cvd Di Oligo Miks'ten 5 µl olacak şekilde örnek sayısı ile hesaplanarak miks hazırlanmıştır ve PZR tüplerine 15 µl olacak şekilde dağıtmıştır. Üzerlerine her örnekten 5 ul konulur. Pipetaj yaparak cihaza konulmuştur, cihaz protokolü 53 °C de 3 dk. (1 döngü), 95 °C'de 10 saniye, 95 °C'de 1 saniye, 55 °C'de 12 saniye (5 döngü), 85 °C'de 1 saniye 55°C'de 1 saniye olarak gerçek zamanlı PZR çalıştırılmıştır. Döngüler

tamamlandıktan sonra, örneklerin CT değerlerine bakılarak yüksek pozitif olarak kabul edilenler çalışmaya dâhil edilmek üzere ayrılmıştır.

Çizelge 3.1. Bioeksen Double Gene kit içeriği

İçerik	Reaksiyon (µl)
2x Prime Miks	10
Cvd Di Oligo Miks	5
Rna	5
Toplam	20

Çizelge 3.2. Real-Time PZR amplifikasyon programı aşamaları

Sıcaklık (0°C)	Süre (dk:sn)	Döngü
52	03:00	1
95	00:10	5
95	00:01	
55	00:12	
85	00:01	35
55	00:01	

3.4. Genomik Materyal Eldesi ve Muhafazası

COVID-19 hastalık etkenini tespit etmek amacıyla; hastalardan nazofarengeal, orofarengeal, orta konkav ile burun sürüntü örnekleri viral taşıma çözültisi içinde muhafaza edilerek çalışmaya dâhil edilmiştir. Virüsteki farklılaşmanın zamansal çizgisinin izlenmesi açısından, hastalar aralıklı zamanlarda, farklı kültürlerden ve yaşlardan seçilmiştir (Çizelge 3.3.).

Çizelge 3.3. Viral örneklerin numaraları ve alınma tarihleri

Sıra	Örnek Numarası	Tarih	Sıra	Örnek Numarası	Tarih
1	A001	31.08.2020	15	D5757	10.05.2021
2	A0466	7.09.2020	16	D7039	24.05.2021
3	A1267	14.09.2020	17	D8670	7.06.2021
4	A2362	21.09.2020	18	E0528	21.06.2021
5	A3491	28.09.2020	19	E2425	5.07.2021
6	A5391	12.10.2020	20	E4132	19.07.2021
7	A7004	26.10.2020	21	E5820	2.08.2022
8	A8825	9.11.2020	22	E8028	16.08.2022
9	B2773	30.11.2020	23	F0332	30.08.2022
10	B5427	14.12.2020	24	F3191	13.09.2022
11	B7298	4.01.2021	25	F7255	27.09.2022
12	B8347	18.10.2021	26	G1376	11.10.2022
13	B9107	1.02.2021	27	G5151	25.10.2022
14	D3422	26.04.2021			

Hastalardan alınan sürüntü örnekleri, viral RNA izolasyon kiti (Diagnovital) ile üreticinin belirlediği protokol izlenerek RNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Viral RNA izolasyonu için özetle; parçalama, RNA koruma çözeltisi uygulaması, atıklardan arındırma, filtre ile RNA'nın tutunması ve RNA'nın filtreden elde edilmesi işlemleri uygulanmıştır. Kullanılan izolasyon kitinin uygulama aşamaları çizelge 3.4.'da verilmiştir.

Çizelge 3.4. Viral RNA izolasyon kiti uygulama basamakları

	Uygulama Basamakları
1	600 µL parçalama çözeltisi ve 6 µL RNA koruyucu 1,5 ml 'lik bir tüp içerisinde birleştirilmiştir.
2	Parçalayıcı+ RNA koruyucu karışımının üzerine 150 µL hasta numunesi eklenerek karışım 15 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır.
3	İnkübasyon sonrası karışımın üzerine 600 µL %96'lık ethanol eklenmiş ve hafifçe vorteksledikten sonra 3 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır.
4	Elde edilen çözeltinin 700 µL'lik kısmı spin kolona aktararak 5.000 g'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi bittikten sonra filtreden geçen çözeltiyi barındıran kolon atılmış ve kalan çözelti aynı şekilde filtreden geçirilmiştir.
5	Yıkama 1 çözeltisi spin kolona aktarılmış ve 5.000 g'de 1 dakika santrifüj edilmiştir.
6	Kirlenen kolon yenisi ile değiştirilerek Yıkama 2 çözeltisi spin kolona aktarılmış ve 16.000 g'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen çözelti yeni kolona aktararak önceki aşamada olduğu gibi alttaki kolon atılmıştır. Bu işlem iki defa tekrarlanmıştır.
7	700 µL %96'lık ethanol eklenerek 16.000 g'de 1 dakika santrifüj edilmiş ve alt kolonda kalan kısım atılmıştır.
8	Numune yeni kolona alınmış ve yıkama aşaması sebebiyle spin kolonda kalan alkol ve diğer sıvıların uçurulması için 3 dakika boyunca 16.000 g'de santrifüj işlemi yapılmıştır.
9	Numunenin bulunduğu filtre ependorfa alınarak, üzerine 50 µL Elüsyon tamponu eklenmiş ve 3 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında 16.000 g'de 1 dakika santrifüj edilmiştir.
10	Filtre atılmış ve ependorf alikotlanarak -20 ye kaldırılmıştır.

3.5. cDNA Sentezi

RNA izolasyonu sonucu elde edilen SARS-CoV-2 virüs genomlarının çoğaltılabilmesi için ticari olarak satılan Transcriptme Reverse Transcription Kit (Blirt S.A.) kiti ile cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. Sentez için yüksek saflıkta cDNA ile çalışılmıştır, saflığın belirlenebilmesi için ölçümler Nanodrop (Thermo) ile yapılmıştır. cDNA sentezi için üreticinin önerdiği protokol (Çizelge 3.5.) ve reaktif karışımı (Çizelge 3.6.) kullanılmıştır.

Örnekler denatürasyon için 65°'de 5 dakika inkübe edilmiş ve buz üzerine alınarak soğutulmuştur. Her örnek için; 10x rt reaksiyon karışımından 2ul, Rnaz inhibitöründen 1 ul, geri transkripsiyon enziminden 1 ul olacak şekilde örnek sayısı ile hesaplanarak miks oluşturulmuştur. Örnekler üzerine 5 ul miksten eklenmiştir. Daha sonra, 25°C'de 10 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında; 50°C'de 30 dakika, 85°C'de 5

dakika olacak şekilde konversiyonel PZR çalıştırılmıştır. Geri transkripsiyon reaksiyonunu güçlendirmek için reaksiyona SARS-CoV-2'ye özgü primerler eklenmiştir.

Çizelge 3.5. cDNA sentezi için üreticinin önerdiği protokol basamakları

1	Örnekler denatürasyon için 65°C'de 5 dakika inkübe edilmiş ve buz üzerine alınarak soğutulmuştur.
2	Örnekler buz üstüne alındıktan sonra; 10x rt reaksiyon karışımı 2µl RNaz inhibitöründen 1µl Revers transkriptaz enzimi 1µl; oranlarında eklenmiştir.
3	Karışım hazırlandıktan sonra 25°C'de 10 dakika inkübasyona bırakılmıştır.
4	İnkübasyon sonrasında; 50°C'de 30 dakika, 85°C'de 5 dakika olacak şekilde konversiyonel PZR'de sentez programı çalıştırılmıştır.
5	PZR sonrası örnekler hemen buz üstüne alınarak -20°C'ye kaldırılmıştır.

Çizelge 3.6. Reaktif karışımının hazırlanma miktarları

	Reaktif	Miktar
RNA	Total RNA mRNA	10 pg – 5 µg 10 pg – 500 ng
Primerler	Tasarlanan primerler	1 µl (50 µM) 1 µl (50 –250 ng) 1 µl (2 pmol)
Nucleotidler	10 mM dNTP Karışımı	1 µl (son konsantasyon 0.5 mM)
Su	Nükleaz içermeyen su	16 µl'ye tamamlanacak

3.6. Örneklerin Amplifikasyonu

Çalışılacak polimorfizm bölgelerinin PZR ile amplifikasyonu, yeni nesil dizilemeye uygun olarak tasarlanan primerler (Çizelge 3.7.) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. ‘Wuhanseafod market pneumonia virus isolate’ Wuhan-Hu-1, tüm genom (2019) (NC_045512.2) genomu üzerinden parçalara bölünerek tasarlanmış, NCBI BLAST ve IDT programı kullanılarak saç tokası, tuz oranı ve GC miktarları hesaplanmıştır. Tüm genomun dizilenebilmesi için ardışık amplikonların, primer bölgeleri dışında kesişen bölgeleri de bulundurulmuş ve amplikon boyları 1215-1816 bp arasında seçilmiştir. PZR amplifikasyonu sonucu elde edilen ürünler jel elektroforezi ile görüntülenmiştir. PZR ile amplifikasyon koşulları ve reaktif karışımı Çizelge 3.8. ve Çizelge 3.9.'da verilmiştir. Örnek başına, 15 µl dH₂O, 5 µl 5x tampon, dNTP karışımı 0,5 µl, ileri primer 1 µl, geri primer 1 µl, 0,5 µl DNA polimeraz olacak şekilde örnek sayısı ile hesaplanarak miks oluşturulmuştur. PZR tüplerine 23 µl karışım örnek sayısı kadar dağıtırmıştır. Üzerlerine örnekler 2 µl olarak eklenmiştir. 95 °C de 10 dakika (1döngü), 95 °C'de 45 saniye, 60°C'de 45 saniye, 72 °C'de 45 saniye (45 döngü), 72 °C'de 10 dakika

(1 döngü) olarak konversiyonel PZR çalıştırılmıştır. PZR amplifikasyonu sonucu elde edilen ürünler agaroz jel elektroforezi ile görüntülenmiştir.

3.7. Agaroz Jel Elektroforezi

5X TBE tampon çözeltisinin hazırlanması için: Tris 810 g, Borik asit 412,5 g, EDTA 55,5 g tartılarak dH₂O içerisinde çözündürülmüş ve son hacim 15 litreye tamamlanmıştır. 0,5X TBE tampon çözeltisinin, 5X TBE tampon çözeltisi 10 kat dH₂O ile seyreltilerek hazırlanmıştır. Agaroz jel elektroforezinin gerçekleştirileceği %6'lık agar 0,5X TBE ile hazırlanmış ve 3 µl EtBr eklenerek karıştırılmıştır. Karışım jel tabağına aktararak jelleşme için soğumaya bırakılmıştır.

Soğuyan jel 0,5X TBE tampon çözeltisi içeren jel tankına aktararak; 5 µl örnek (PZR ürünü) 3 µl jel yükleme boyası ile karıştırılmış ve ilk kuyucukta DNA ladder (100 bp) olacak şekilde, örneklerin jele yüklenmesi gerçekleştirilmiştir. Agaroz jel elektroforezi işlemi, 195 V ile 20-25 dakika boyunca gerçekleştirilmiştir. İşlem tamamlandığında, Biorad jel görüntüleme cihazı ile görüntülenmiş ve kayıt altına alınmıştır.

Çizelge 3.7. Yeni nesil dizilemeye çalışmaları için tasarlanan primerler

İsim	primer 5'-->3'	genom üzerinde 5'-->3'
COV2_1F / 1R	ATTAAAGGTTTATACCTTCCCAGGTAAC	GTGTGTTCTCTTATGTTGGTTGCCATAAC
COV2_2F / 2R	CCATTCTTCGTAAGGGTGGTCGCAC	GAGTGGAGTATGGCTACATACTACTT
COV2_3F/3R	TCATAAAAACTTTGCAACCAGTATCTG	GGTGCTAGATTTTACTTTTACACCAGTA
COV2_4F/4R	CTAAAGCCATAGTTTCAACTATACAGC	CCTAAGTTGGACAATTATTATAAGAAAGA
COV2_5F/5R	CTTACAAAGTCCTCAGAATACAAAGGTCC	GTGCATGTTGTAGACGGTTGTAATTCATCA
COV2_6F/6R	GCAATTGTTTTTCAGCTATTTTGCAG	GCAGTCATAACAAGAGAAGTGGGTTTTG
COV2_7F/7R	GTGGTGTCACTCGTGACATAGCATCTACAG	CTGCACCTCTGAAGACATGCTTAACCCTAA
COV2_8F/8R	AATGGCATTCCCCTCTGGTAAAGTTGAGG	CCTCTTTTGTTTACTCAACCGCTACTTT
COV2_9F/9R	TTTTCTTCATAACTGGTAATACACTTCAGTG	GCTGTAGATGCTGCTAAAGCTTACAAAG
COV2_10F/10R	ACTTGGTAGTTTAGCTGCCACAGTACGTC	GAGCTAGGTGTTGTACATAATCAGGA
COV2_11F/11R	CACCTACAAGTTTTGGACCACTAGTGAG	GCTAGTTAAACAGGGTGATGATTATGT
COV2_12F/12R	TCAAAACAATGTTTTATGTCTGAAGC	GAGTGTTGTCAATGCCAGATTACGT
COV2_13F/13R	TGCTCTCATGCCGCTGTTGATGCAC	GGTTCAACACATGGTTGTTAAAGCTG
COV2_14F/14R	AGCTGTCCACGAGTGCTTTGTTAAGC	CAGATGCGCAAACAGGTTTCATCTAAGTG
COV2_15F/15R	GAAGGCTATGCCTTCGAACATATCG	CCTACTTATGTTAATAACGCTACTAAT
COV2_16F/16R	CTAAGAGGTTTGATAACCTGTCTACC	GAGATTCTTGACATTACCATGTTCTT
COV2_17F/17R	TCAATTCAACTTCAATGGTTTAAACAGG	GTCCTTCCCTCAGTCAGCACCTCATG
COV2_18F/18R	GTTGATCACAGGCAGACTTCAAAGTTTGC	GGTGTTGAACATGTTACCTTCTTCATCT
COV2_19F/19R	CTGAACATGACTACCAGATTGGTGG	CGTGCCAGATCAGTTTACCTAAACTG
COV2_20F/20R	TTCTGGAACATACGAGGGCAATTCACC	CCTTGAATACACAAAAGATCACATTGG
COV2_21F/21R	TAAAATGAAAGATCTCAGTCCAAGATGG	GATTTTAATAGCTTCTTAGGAGAATGACAA

Çizelge 3.8. Amplifikasyon koşulları

Sıcaklık (°C)	Süre (dk:sn)	Döngü
95	10:00	1
95	00:45	45
60	00:45	
72	00:45	
72	10:00	1
12	∞	1

Çizelge 3.9. PZR amplifikasyonu için kullanılan reaktif karışımı

İçerik	Reaksiyon Başına Miktar (µl)
dH ₂ O	15
5X Tampon	5
dNTP karışımı, her biri 10mM	0,5
İleri Primer (5 µM)	1
Geri Primer (5 µM)	1
PhireII HS DNA Polimeraz	0,5
Kalıp DNA (20-50 ng/µl)	2
Toplam	25

3.8. Yeni Nesil Dizileme (NGS)

Real-Time PZR çalışması sonucunda SARS-CoV-2 RT-PCR testi niteleyici analizi ardından pozitif olarak kabul edilen ve yüksek kopya miktarı elde edilen numuneler, bu çalışma için uygun görülerek bilinen mutasyonların saptanması amacıyla NGS (Next Generation Sequencing - Yeni Nesil Dizileme / Miseq- Illumina) testi yapılmıştır.

PZR ürünleri, ardışık primerlerin bir araya gelmemesi sağlanacak şekilde birleştirilerek, her örneğe ait 2 adet PZR havuzu oluşturulmuştur. Oluşturulan havuzlar ticari saflaştırma kiti (NucleoFast 96 PCR clean-upplates MACHEREY-NAGEL GmbH) kullanılarak saflaştırılmıştır.

PZR saflaştırılması

Saflaştırılacak örnekler 96 kuyucuklu saflaştırma plakalarının boş kuyularına mikropipet yardımı ile aktarılmıştır. Plaka vakum manifoldu üzerine yerleştirilerek vakum pompası

çalıştırılmıştır. Tüm kuyucuklara, yaklaşık 15-30 dk içinde sıvı kalmayınca kadar vakum uygulanmıştır. Tüm kuyucuklar boşaldığında kuyucuklara 100-200 µl dH₂O eklenerek tekrar vakum işlemine tabi tutulmuş ve bu işlem 2 defa tekrarlanmıştır. Tüm kuyucuklar boşaldığında vakum pompası kapatılarak vakum boşaltma vidası açılmış ve vakumun boşalması sağlanmıştır. Vakum manifoldu üzerinden kaldırılan plakanın kuyucuklarına 50 µl dH₂O eklenerek 10-15 sn. pipetaj yapıldıktan sonra, saflaştırılmış PZR örneğini içeren bu sıvı temiz tüplere alınmıştır.

Yeni Nesil Dizileme için örnek hazırlama aşaması ticari örnek hazırlama kiti (Nextera XT-Illumina Inc) kullanılarak yapılmıştır. Örneklerin dizilenmesi için hazırlanan PZR havuzları işaretlenmiştir. PZR'ler ardışık amplikonlar bir araya gelmeyecek şekilde birleştirilerek, her örneğe ait 2 adet PZR havuzu oluşturulmuştur. Her bir PZR için alınacak miktarlar Çizelge 3.10.'de açıklanmıştır. Yeni nesil dizileme işlemi NGS sisteminde (Miseq 300V2 kartuşları-Illumina Inc.) kullanılarak yapılmış ve cihaza yükleme işlemi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen verilerin analizleri IGV (Broad Institute) yazılımı kullanılarak yapılmıştır.

Çizelge 3.10. Havuzların oluşturulmasında kullanılan miktarlar

Amplikon Durumu	µl
Normal amplifikasyon	2
Zayıf amplifikasyon	9
Uzun amplikon	9
Zayıf amplifikasyon ve Uzun amplikon	20
Çok zayıf amplifikasyon	20

3.9. Veri Analizi

3.9.1. Yeni nesil sekanslama veri analizi

Aşağıdaki temel aşamaları içeren analiz yaklaşımı kullanılmıştır. Ham verinin basecalling ve de-multiplexing aşamaları Miseq sistemi tarafından, Miseq Reporter yazılımı (Illumina Inc.) kullanılarak yapılmış ve her örneğe ait 2 dizi verisi, SARS-CoV-2 genomuna (NC_045512.2) ayrı ayrı hizalanarak, 2 adet bam uzantılı dosya elde edilmiştir. Bu dosyalarından adaptör bölgeleri atılmıştır. Elde ettiğimiz verileri görselleştirmek için, diziler IGV (Integrative Genomics Viewer- Broad Institute) yazılımı kullanılmıştır. Data sonuçları üzerinden hesaplama yapılırken belirli bir konumdaki tek bir nükleotidin frekansı %50'den

büyükse ve ikinci en sık nükleotidin sayısının beş katından fazla ise konsensüs nükleotidi olarak atanmıştır. Örneklerin IGV programından görülen mutasyonları aynı zamanda açık kaynak yazılımı olan <https://coalign.pasteur.cloud/> dizileme aracı ile karşılaştırmalı olarak gösterilmiştir. Burdan örneklerde görülen nadir mutasyonların bilgileri toplanmıştır.

Mutasyon profilinin çıkarılması için açık kaynak yazılımlı ve erişim adresi <http://giorgilab.unibo.it/coronannotator/> olan, Coronapp (Mercatelli, Triboli, Fornasari, Ray ve Giorgi, 2021), kullanılmıştır. NC_045512.2 sekans numaralı referans genom ile karşılaştırma yapılarak, elde edilen sekanslardaki mutasyon profili belirlenmiştir. Varyant profilinin çıkarılması ve elde edilen sekansların bilinen SARS-cov-2 filogenetik ağacındaki yerinin belirlenmesi için açık kaynak yazılımı olan Nextstrain (<https://nextstrain.org/>) kullanılmıştır. Görselleştirme için Python (<https://www.python.org/>) programlama dili ve seaborn kütüphanesi kullanılmıştır (Hadfield ve diğerleri, 2018; Mercatelli ve diğerleri, 2021).

3.9.2. Karşılaştırmalı veri analizi

NCBI'nin içerisinde yer alan ve açık bir kaynak olan SARS-CoV-2 data hub sitesi çalışmanın karşılaştırmalı nükleotid dizi analiz kısmında kullanılmıştır. Sitede yer alan filtrelerden araştırma sorusu yönergesinde proteinler sekmesindeki yüzey proteini filtresiyle; Türkiye ile yoğun ticari ve turistik etkilişimi bulunan ülkeler olan Çin, Almanya, Yunanistan, Pakistan, Suudi Arabistan bölgelerinde yayınlanmış olan veri setlerinin (Çizelge 3.11) genom dizileri indirilmiş ve analiz edilmek üzere kaydedilmiştir. Yeni nesil sekanslamadan çıkan verilerle farklı coğrafik bölgelerden araştırmacıların elde ettiği diziler Geneious yazılımı kullanılarak karşılaştırılmış ve filogenetik ağaçları çizilerek mutasyonlarla olan çeşitlenmenin bölgesel farklılıkları elde edilmiştir.

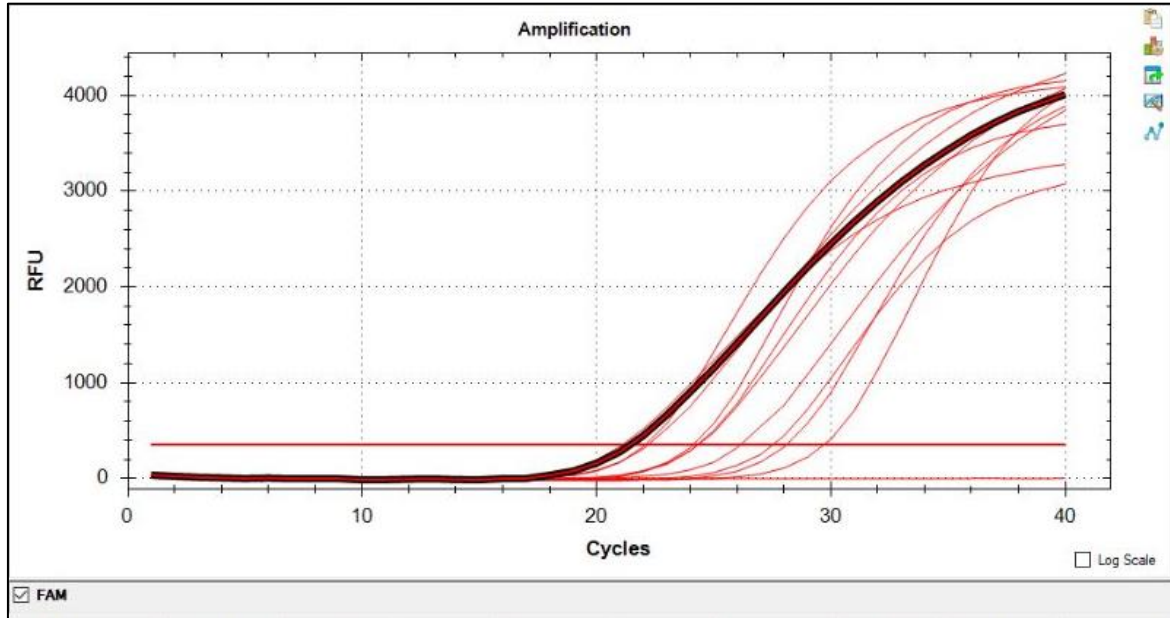
Çizelge 3.11. Çin, Almanya, Yunanistan, Pakistan, Suudi Arabistan ülkelerinin veri setlerinin referans kodları

SA1	MZ895662.1 extraction
SA2	MZ895666.1 extraction
SA3	OK081888.1 extraction
SA4	MZ895668.1 extraction
SA5	OQ642337.1 extraction
PK1	OP872675.1 extraction
PK2	OP872678.1 extraction
PK3	OP872681.1 extraction
PK4	OP926924.1 extraction
PK5	OQ155246.1 extraction
CN1	OQ586439.1 extraction
CN2	OQ586440.1 extraction
CN3	OQ586441.1 extraction
CN4	OQ586645.1 extraction
CN5	OQ653373.1 extraction
DE1	OQ332759.1 extraction
DE2	OQ343407.1 extraction
DE3	OQ343408.1 extraction
DE4	OQ343410.1 extraction
DE5	OQ343417.1 extraction
GR1	MT459832.1 extraction
GR2	MT459833.1 extraction
GR3	MT459845.1 extraction
GR4	MT459846.1 extraction
GR5	MT459847.1 extraction

4. BULGULAR

4.1. Real-Time PZR Sonuçları

Virüs örneklerinin pozitiflik derecelerine bakmak üzere Real-Time PZR analizi yapılmıştır. Yapılan analizlerde CT (eşik döngüsü) 20-25 arasında olan örnekler (Çizelge 4.1) çalışmaya dâhil edilmiştir. Çalışmaya dâhil edilen örneklerden elde edilen cDNA ile tekrar Real-Time PZR analizi gerçekleştirilmiş olup cDNA oluşumunda önceki analiz sonuçları ile farklılık olup olmadığına bakılmıştır. Farklılık gözükmeyen örnekler ile çalışmaya devam edilmiştir.



Şekil 4.1. Real-Time PZR sonuçları

Çizelge 4.1. Yapılan analizlerde elde edilen CT (Eşik döngüsü) değerleri

Sıra	Örnek Numarası	CT	Sıra	Örnek Numarası	CT
1	A001	25	16	D5757	26
2	A0466	22	17	D7039	25
3	A1267	26	18	D8670	24
4	A2362	24	19	E0528	25
5	A3491	25	20	E2425	24
6	A5391	25	21	E4132	23
7	A7004	26	22	E5820	27
8	A8825	20	23	E8028	22
9	B2773	21	24	F0332	22
10	B5427	21	25	F3191	25
11	B7298	20	26	F7255	27
12	B8347	23	27	G1376	21
13	B9107	20	28	G5151	20
14	D3422	21	29	G6711	26
15	D3712	23	30	H1219	27

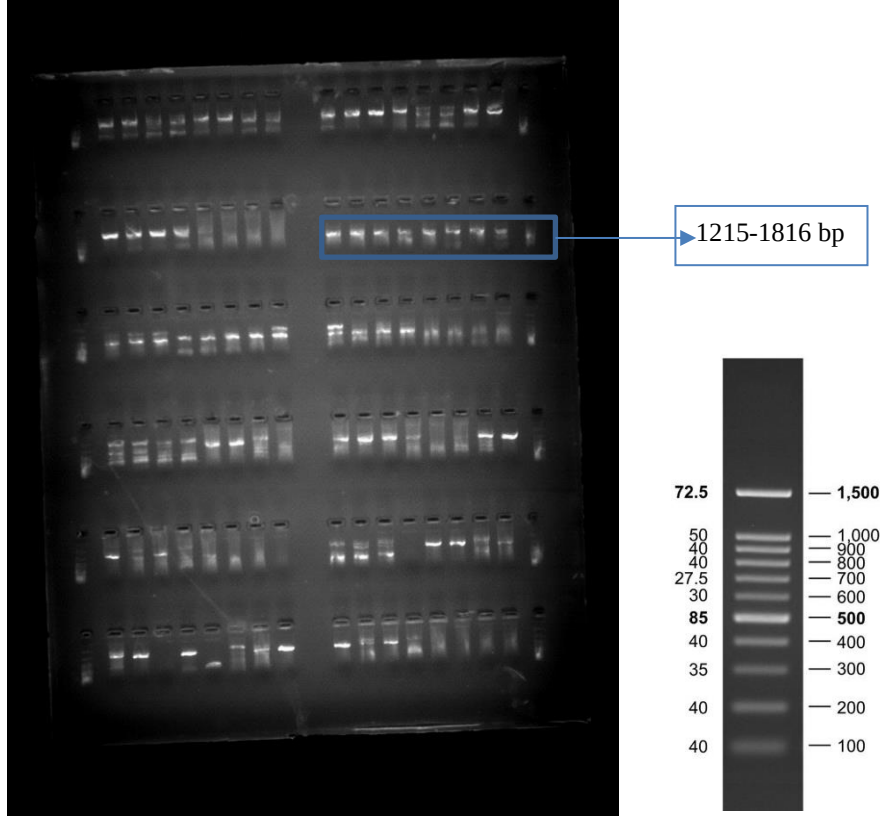
4.2. Amplifikasyon Sonrası Jel Görüntülenmesi

Spike bölgesine ait özel tasarlanmış olan primerlerle çoğaltma işlemi yapılmıştır. Çoğaltma işlemi yapılırken ardışık gelen primerlerin aynı havuz içerisinde olmamasına özen gösterilmiştir. Oluşturulan 4 farklı primer ile her bir örnek ayrı 4 parça halinde çoğaltılmış ve jel görüntülenmesi yapılmıştır. Daha sonrasında iki farklı havuz olarak her bir örnek toplanmış ve yenil nesil dizilemeye alınmıştır.

Çalışma sırasında virüsün RNA'nın kırık halde olduğu saptanmış ve spike bölgesine ait primerler geliştirilerek kullanılmıştır. Çizelge 4.2 de spike bölgesine spesifik primerler gösterilmiştir.

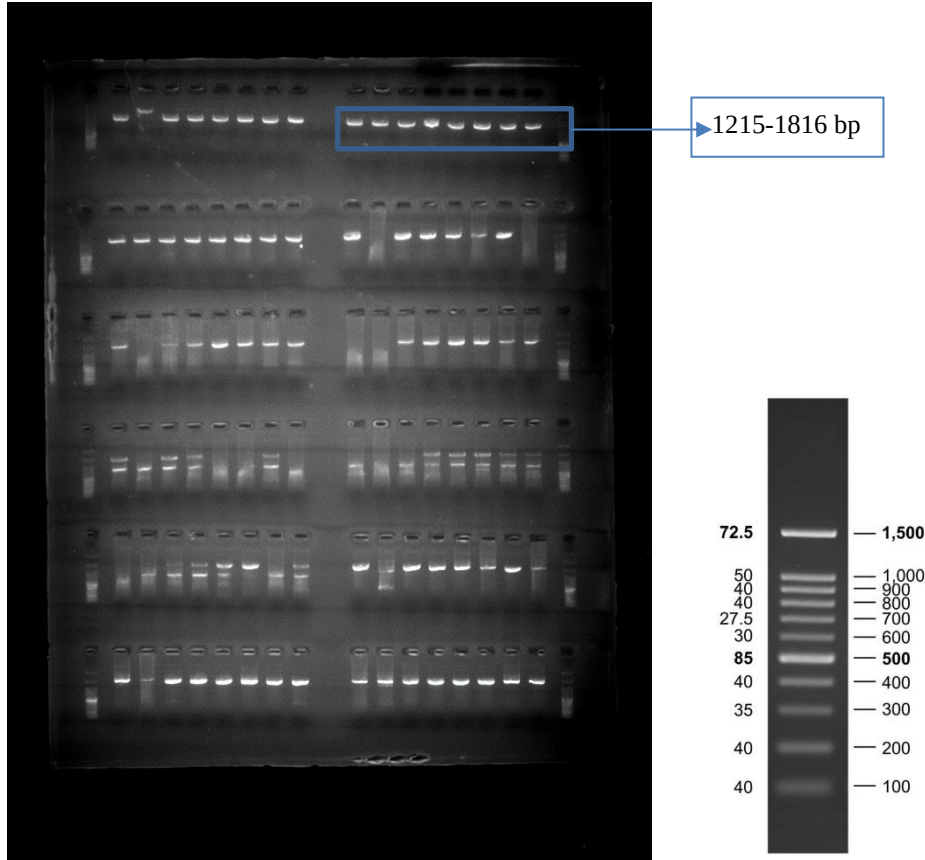
Çizelge 4.2. Spike bölgesine özgü primerler

COV2_15F/15R	GAAGGCTATGCCTTCGAACATATCG	CCTACTTATTGTTAATAACGCTACTAAT
COV2_16F/16R	CTAAGAGGTTTGATAACCCTGTCCTACC	GAGATTCTTGACATTACCCATGTTCTT
COV2_17F/17R	TCAATTTCAACTTCAATGGTTAACAGG	GTCCTTCCCTCAGTCAGCACCTCATG
COV2_18F/18R	GTTGATCACAGGCAGACTTCAAAGTTTGC	GGTGTGAACATGTTACCTTCTTCATCT



Resim 4.1. Çalışılan örneklerin jel görüntüsü-1, referans bp görüntüsü

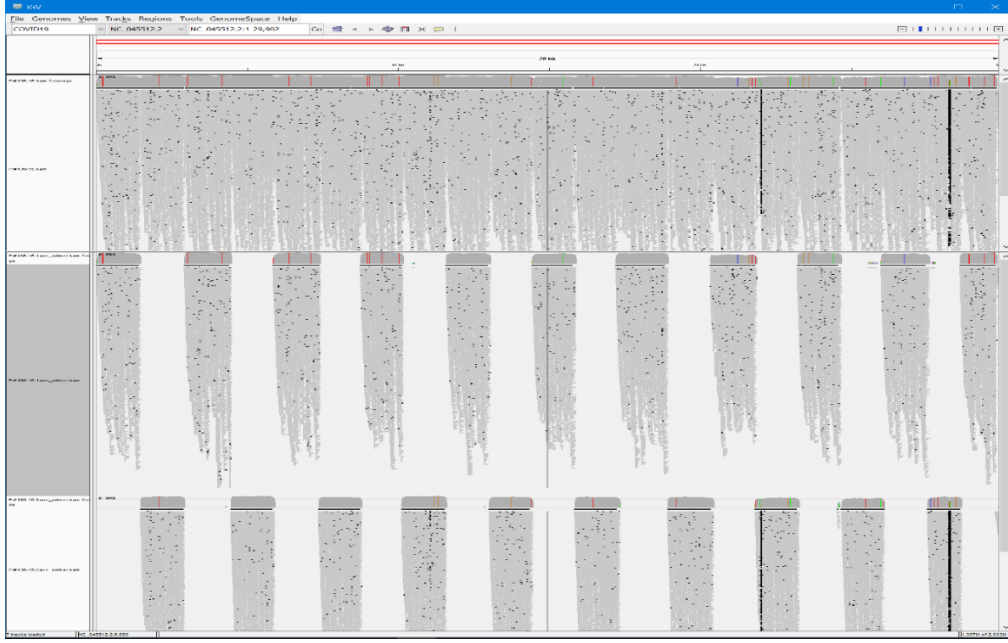
Jel görüntülemeye tüm ampliconları çalışmış, toplamda 27 örnekten 14'ü yeni nesil dizilemeye alınmıştır. Farklı bp'lerde çıkan kırık RNAlar bütün ampliconları çıksa dahi çalışmaya alınmamıştır.



Resim 4.2. Çalışılan örneklerin jel görüntüsü-2, referans bp görüntüsü

4.3. Yeni Nesil Dizileme ve Veri Analizi

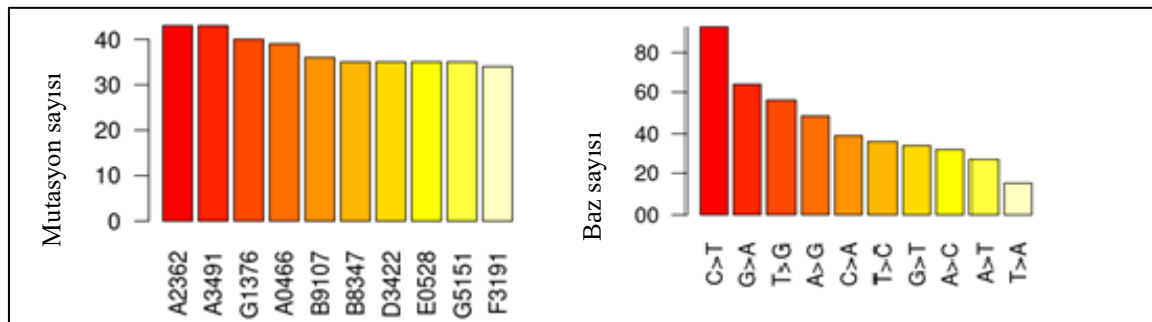
Hesaplama yapılırken belirli bir konumdaki tek bir nükleotidin frekansı %50'den büyükse ve ikinci en sık nükleotidin sayısının beş katından fazla ise uzlaşma nükleotidi olarak atandı. IGV programı üzerinde önceden oluşturulmuş olan bir örneğe ait iki farklı havuzdan çıkan .bam dosyaları birleştirilerek spike bölgesinin tüm datası oluşturulmuştur. Konsensüs dizileri IGV (Integrative Genomics Viewer) yazılım kullanılarak elde edildi. IGV örnek görüntüsü Şekil 4.2'de gösterilmiştir.



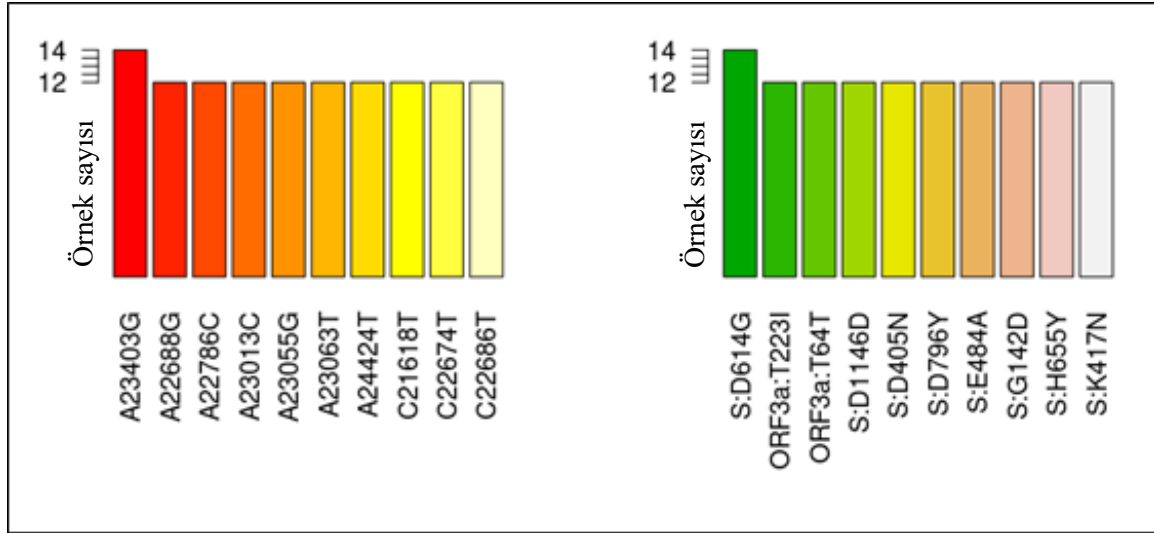
Şekil 4.2. IGV örnek analiz görüntüsü

Açık kaynak yazılım olan Coronapp kullanılarak elde edilen sekanslarda mutasyon profili çıkarılmıştır. Mutasyonların belirlenmesinde referans olarak NC_045512.2 genom referans kodlu sekans esas alınmıştır. 14 örnek için 454 mutasyon tespiti yapılmıştır (EK-1).

Elde edilen mutasyon profiline göre en çok mutasyon saptanan 10 örnek ile en sık gözlemlenen nükleotid değişimi Şekil 4.3'te verilmiştir. Yapılan analizlerde en çok mutasyona uğramış olan örnekler; A2362 ve A3491 olarak belirlenirken en sık gözlemlenen mutasyon tipinin nükleotid değişimininse C>T olduğu bulunmuştur. Analizi yapılan örneklerde en sık görülen nükleotid ve protein değişimleri Şekil 4.4'te gösterilmiştir. A23403G en çok gözlenen nükleotid değişimi olarak tespit edilmişken, en çok görülen protein değişimi S:D614G olmuştur.

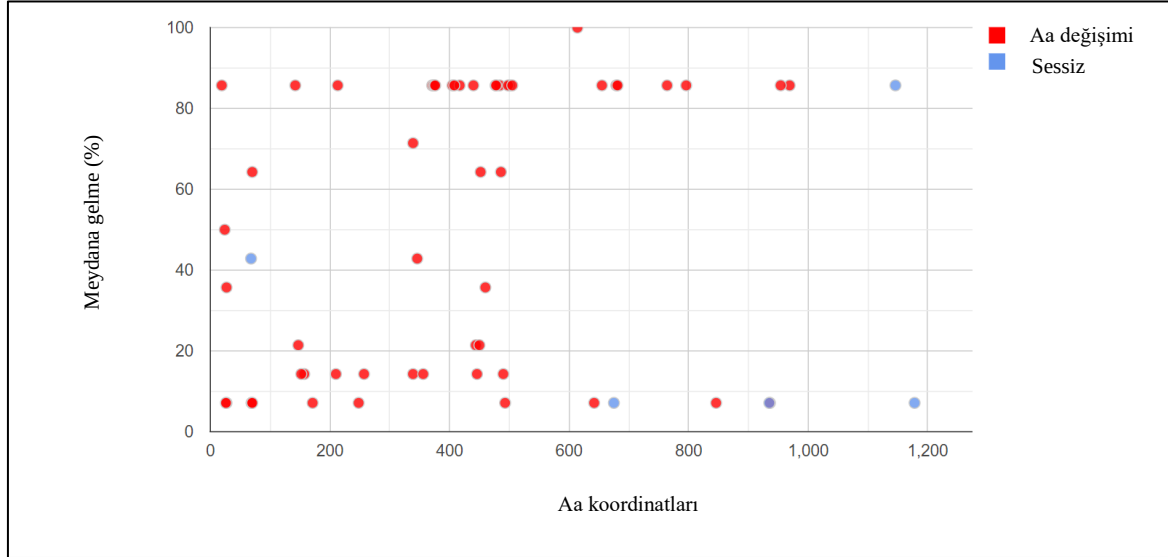


Şekil 4.3. Örneklerde en çok mutasyon saptanan 10 örnek ile örneklerde en sık gözlemlenen nükleotid değişimi



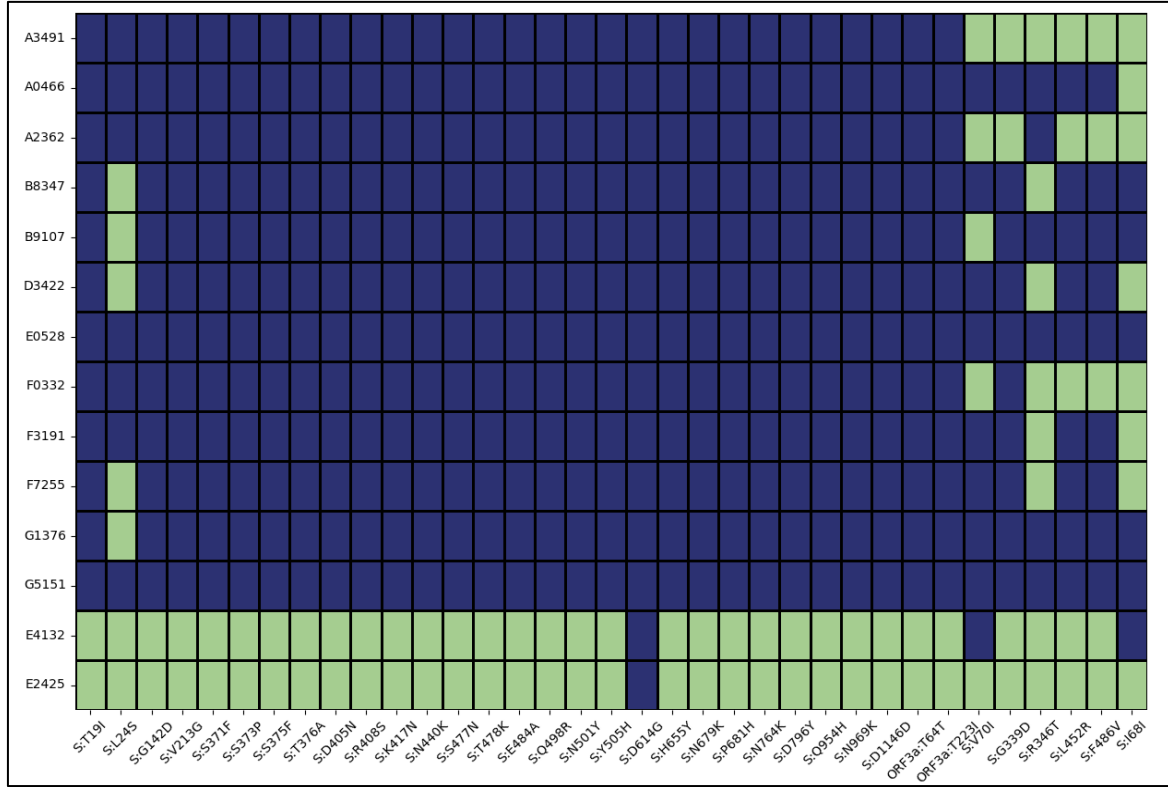
Şekil 4.4. Analizi yapılan 14 örnekte en sık görülen nükleotid ve protein değişimleri

Spike proteinde gözlemlenen mutasyonların hangi aminoasit koordinatlarına karşılık geldiği Şekil 4.5’de verilmiştir. Elde edilen sekansların çoğunda gözlemlenen mutasyonlara ek olarak, 0-600 koordinatları aralığında yoğun mutasyonların varlığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.5. Spike proteinde gözlemlenen mutasyonların koordinatları

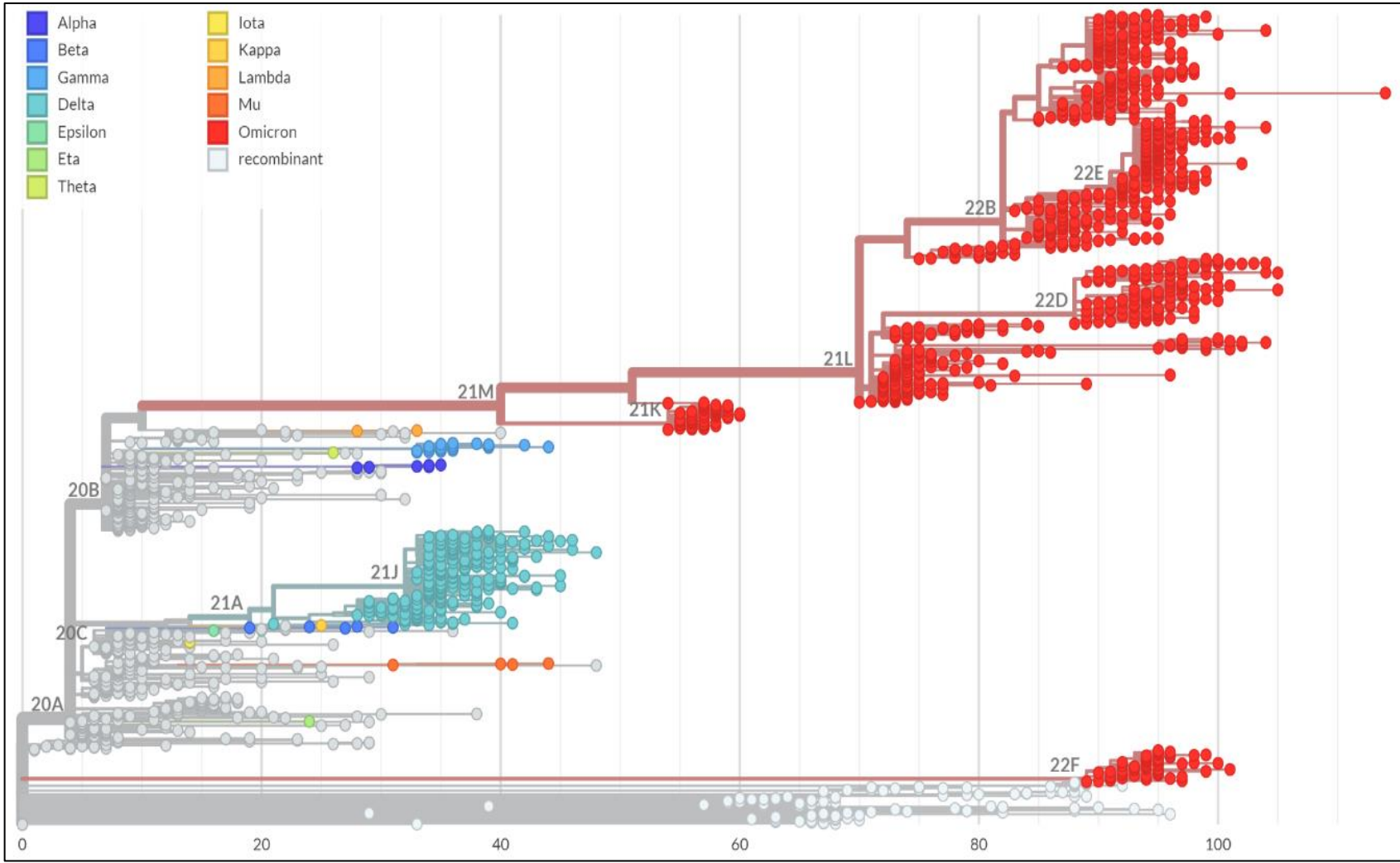
Örnekler tespit edilmiş olan mutasyonların bulunma durumu Şekil 4.6’da verilmiştir. Mavi ile gösterilen kareler mutasyonun varlığını göstermektedir. Protein bazında bütün örneklerde gözlemlenen tek mutasyon Spike proteinindeki D614G değişimidir.



Şekil 4.6. Örneklerde tespit edilmiş olan mutasyonların bulunma durumu

Örneklerin varyant tiplerinin belirlenmesi ve bilinen SARS-CoV-2 filogenetik ağacındaki yerlerinin belirlenmesi için açık yazılım olan Nextstrain kullanılmıştır. Pandeminin başlangıcından beri sekanslanmış 1707 referans genom kullanılarak SARS-CoV-2 için oluşturulmuş filogenetik ağaç Şekil 4.7’de verilmiştir. Dünya Sağlık örgütünün tanımladığı varyantların ağaçtaki hangi dallara karşılık geldiği belirtilmiştir.

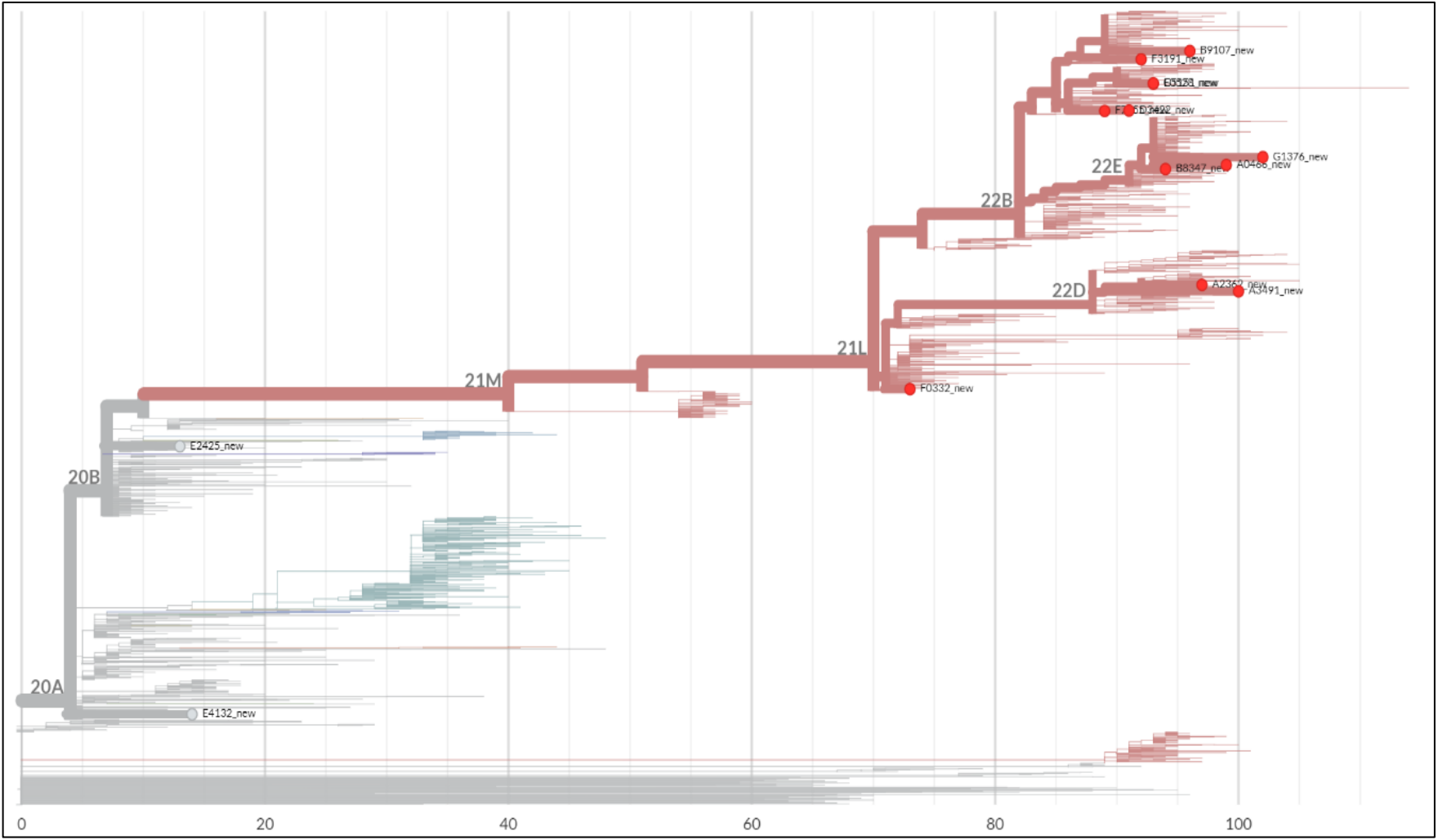
Şekil 4.7. 1707 referans genom kullanılarak SARS-CoV-2 için oluşturulmuş filogenetik ağaç



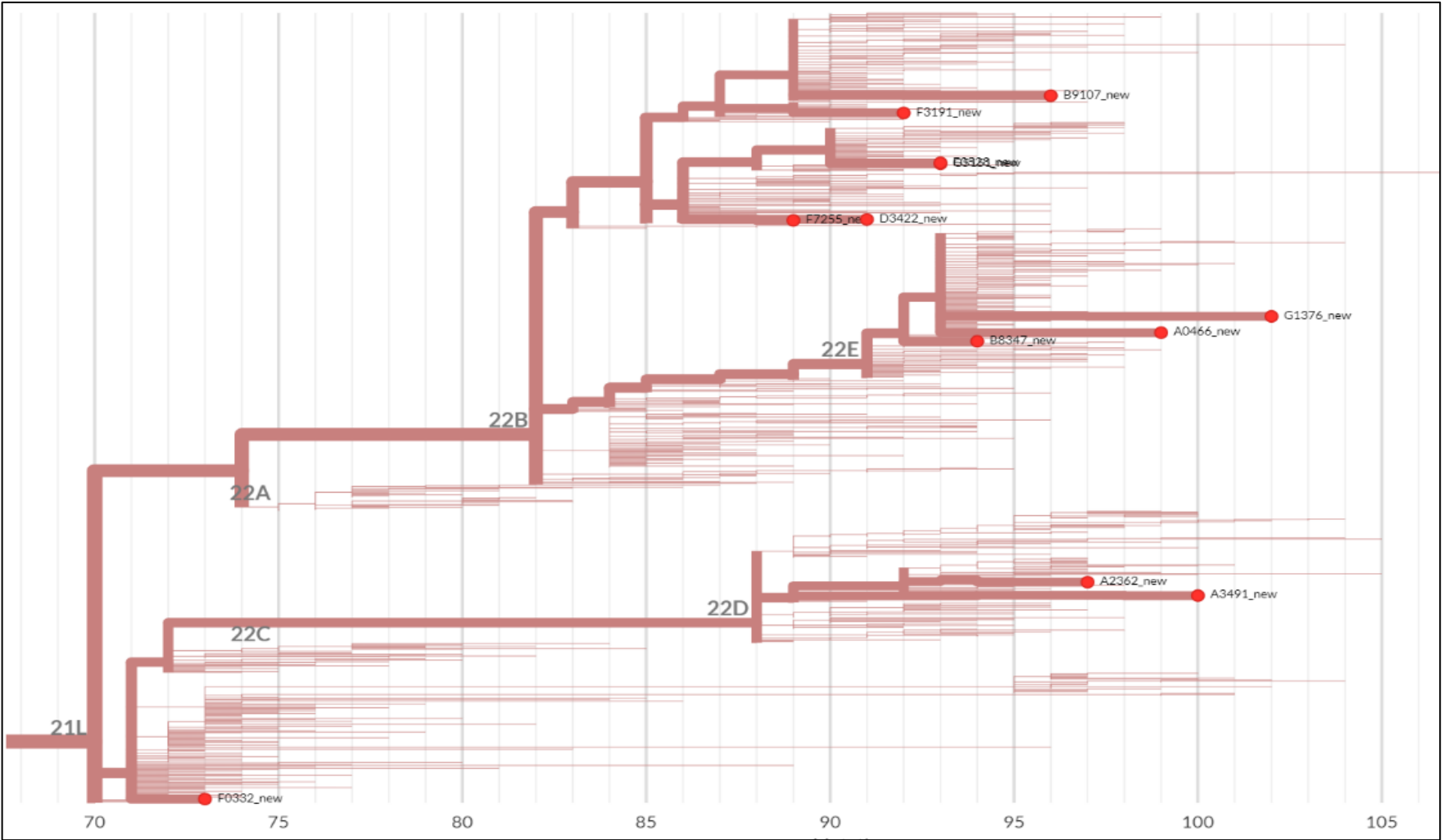
Oluşturulmuş filogenetik ağaca göre belirlenen belli başlı varyantlar: 19A ve 19B Wuhan'da ortaya çıkan ve erken salgına hâkim olan varyantlardır. 20A, mart ayında Avrupa salgınında baskın olan, 19A'dan ortaya çıkan ve o zamandan beri küresel olarak yayılan varyantı tanımlamaktadır. 20B ve 20C, 2020'nin başlarında ortaya çıkarak genetik olarak farklı, 20A'nın büyük alt sınıflarındandır. 20D ile 20J, 2020 yazında ortaya çıkarak üç "Endişe Varyantı"nı (VoC) içermektedir. 21A ile 21F, VoC deltasını ve birkaç "Dikkate Alınması Gereken Varyant"ı (VoI) içermektedir. 21K ila 22D, çeşitli VoC omikronun'da farklı sınıflardandır.

Elde edilen örneklerin filogenetik ağaçtaki konumları şekil 4.8'de verilmiştir. İki örnek hariç (E2425 VE E4132) diğeri bütün örneklerin omikron varyantı olarak sınıflandırılabilceğı belirlenmiştir (şekil 4.9).

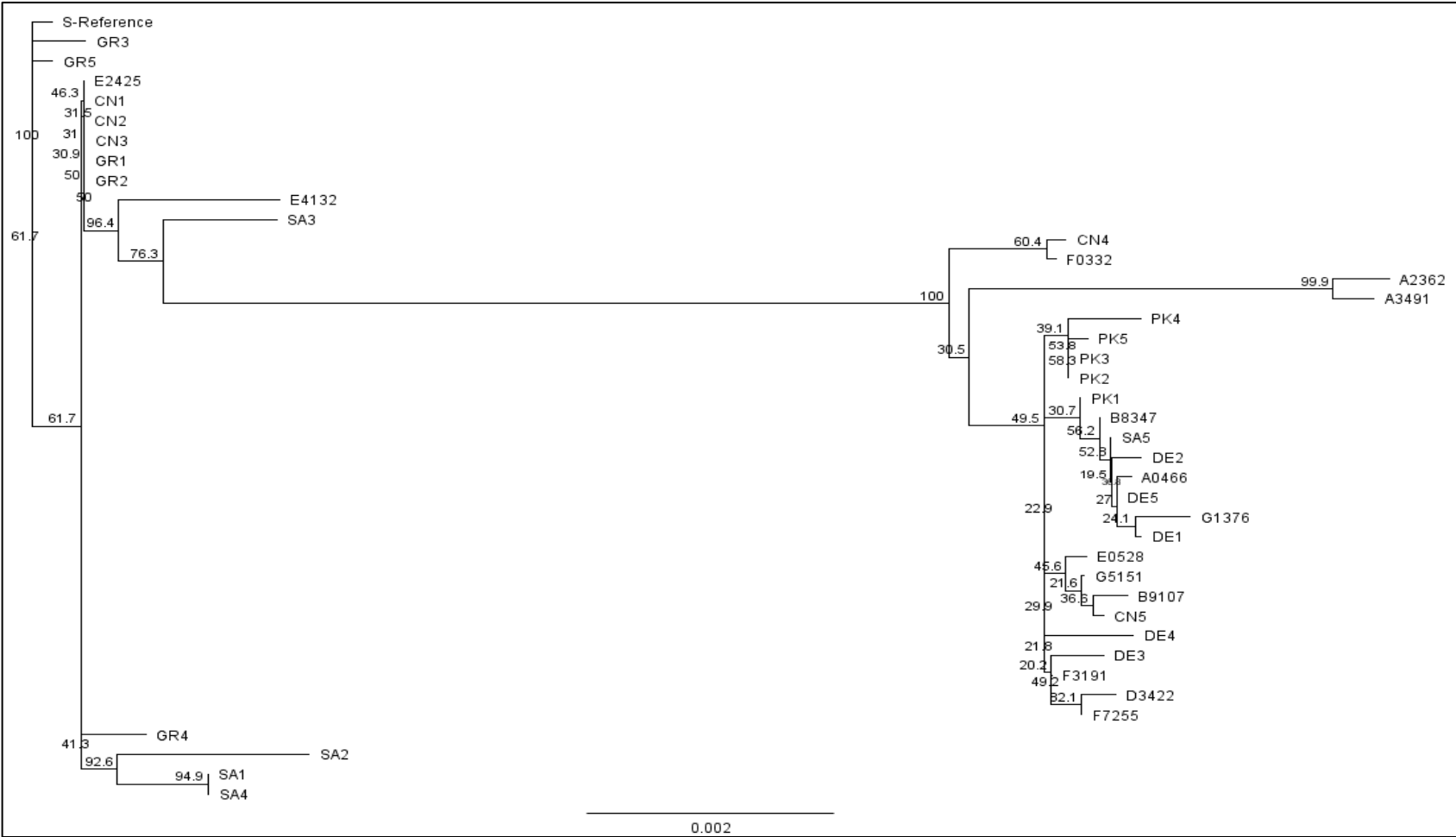
Şekil 4.8. Elde edilen örneklerin filogenetik ağaçtaki konumları-1



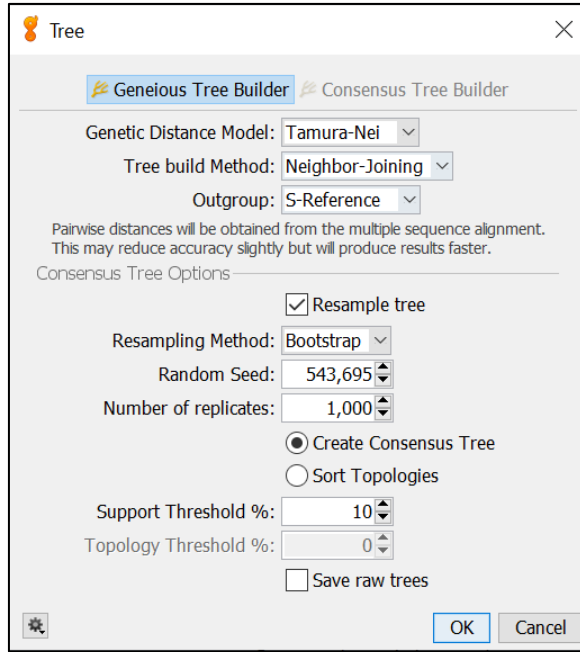
Şekil 4.9. Elde edilen örneklerin filogenetik ağaçtaki konumları- omikron varyantları



NCBI'dan elde edilmiş olan; Çin, Almanya, Yunanistan, Pakistan, Suudi Arabistan bölgelerinde yayınlanmış veri setlerinden 5'er genom dizisi indirilmiştir. Bu genomlardan ve çalışması gerçekleştirilen örneklerin dizilerinden, Spike proteininin kodlandığı kısım filtrelenmiştir. Elde edilen bu dizilerden Geneious programı kullanılarak filogenetik ağaç oluşturulmuştur (Şekil 4.10). Filogenetik ağaç oluşturulurken "Neighbor-Joining" metodu ve Tamura-Nei (Tamura, Stecher ve Kumar, 2021) genetik uzaklık modeli kullanılmıştır. Tekrar sayısı 1000 defa olarak seçilmiş ve elde edilen "bootstrap" değerleri ağaçta verilmiştir (Şekil 4.11). Ağaç incelendiğinde elde edilen dizilerin ülke orijinlerinden bağımsız kümelenme gösterdiği görülmüştür. Omikron varyantı olmayan E2425 ve E4132 beklendiği gibi diğer örneklerden ayrı kümelenmiştir.



Şekil 4.10. Çin, Almanya, Yunanistan, Pakistan, Suudi Arabistan bölgelerinde yayınlanmış veri setleri ile çalışması gerçekleştirilen örneklerin dizilerinden oluşturulan filogenetik ağaç modeli



Şekil 4.11. Filogenetik ağaç oluştururken kullanılan parametreler

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda incelemiş olduğumuz 30 COVID-19 pozitif (yüksek) virüs örneğinin spike protein dizileri üzerinde yer alan mutasyonların analizi yapılmış olup önemli protein değişikliklerine göre kategorize edilmesi gerçekleştirilmiştir. Benzer şekilde, Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde COVID-19 spike protein dizilerinin çoklu dizi hizalaması çalışmalarında, birkaç yerde çoklu mutasyonlar görülmüşken, bu spike proteinin bazı bölümlerinin korunduğu belirtilmiştir. ABD izolatlarında gözlemlenen mutasyonların Spike protein sekansında çeşitli bölgelere dağılmış pek çok mutasyon olmasına rağmen, birkaç mutasyonun daha sık meydana geldiği bildirilmiştir. Bu mutasyonlardan biri olan 614 pozisyonunda, izolatların 99'unda (342 izolattan) D'den G'ye sıkça mutasyon meydana geldiği bildirilmiştir (Banerjee ve Ray, 2020). Elde ettiğimiz örneklerin hepsinde bu mutasyon tespit edilmiştir. Bu da aynı mutasyonun Türkiye'deki SARS-CoV-2 genomlarında yüksek frekansta bulunduğunu göstermektedir.

Lisette Pérez ve diğerleri (2022), S ve N genlerinin kısmi nükleotid dizilimi ile Mart'tan Eylül 2020'ye kadar Küba'da dolaşan SARS-CoV-2 suşlarını karakterize etmişlerdir. Araştırmacılar, birinci ekzonda bulunan, viral oligomerizasyon arayüzlerinde yer alan A846V mutasyonu 79 dizide (tüm S dizilerinin %0,06'sı) ve 15 ülkede (Birleşik Krallık, Norveç, Fransa, İsviçre, Hollanda, Belçika, İsveç, Portekiz, Avusturya, Yeni Zelanda, Avustralya, Amerika Birleşik Devletleri, Güney Afrika, Kongo, Çin) gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Avrupa, Amerika ve Asya'dan çok sayıda enfekte yolcu girişi olduğundan, mutasyonların dağılımında değişkenlik gözlemiştirler (Perez ve diğerleri, 2022). Aynı şekilde, çalışmamızda A846V mutasyonunun diğer mutasyonlardan farklı olarak, nadir olarak gözlemlenmesi ile dikkat çekmiştir.

Hongyan Huang ve diğerleri (2021) 20I/501Y.V1 veya VOC 202012/01 olarak da bilinen B.1.1.7 soyu, ilk olarak Aralık 2020'de Birleşik Krallık'ta (Birleşik Krallık) tespit edildiğini; %50-100 daha yüksek yeniden üretim sayısı ile diğer VOC olmayan varyantlara göre önemli bir aktarım avantajı gösterdiğini ve en az 130 ülkede tanımlandığını belirtmişlerdir. 20H/501Y.V2 veya VOC 202012/02 olarak da bilinen B.1.351 soyunun, ilk olarak Aralık 2020'de Güney Afrika'da (SA) tanımlandığına; bu varyantın hızla yayıldığına ve diğer soyların birden fazla SA bölgesinde haftalar içinde yer değiştirmesine yol açtığına dikkat çekmişlerdir. 20J/501Y.V3 veya B.1.1.28 olarak da bilinen P.1 soyu, Aralık 2020'de

Brezilya'dan Japonya'ya giden dört gezginde tanımlandığını; bu varyantın, Brezilya'da dolaşımda olan baskın bir varyant olduğunu (>%72) ve en az 45 ülkede tespit edildiğini gözlemlemişlerdir. Bu varyantların yüksek iletilirliği anjiyotensin dönüştürücü enzim-2 (ACE2) reseptörüne bağlanmadan sorumlu spike (S) proteininin reseptör bağlanma alanındaki (RBD) edinilmiş mutasyonlara en azından kısmen atfedilmiştir (Huang, Zhu, Niu, Zhou ve Sun, 2021). Aynı şekilde çalışmamızda, %98 oranında N501Y mutasyonuna rastlanmıştır. Türkiye’de İngiliz mutasyonu olarak kayıtlara geçen bu mutasyon ikinci dalgayı başlatmış olduğundan Türkiye’de görülen en yaygın mutasyonlardandır. Dolayısıyla çalışmamızda, N501Y mutasyonundan sonra oluşmuş virüs örnekleri dâhil olmak üzere mutasyonu görebilmekteyiz.

Ramona Groenheit ve diğerlerinin (2022), çalışmalarında baskın olan belirli bir alt soy yerine, belirli bir fenotipe sahip birkaç farklı alt değişken birlikte bir baskın küme oluşturabileceğinden söz edilmiştir. Araştırmacılar, bu tür önemli mutasyonlardan birinin R346X ve özellikle R346T mutasyonları olduğunu bildirilmiştir. Bu mutasyonların spike proteininin reseptör bağlanma alanında (RBD) yer aldığından ve nötralize edici antikorlardan kaçmak için gelişmiş bir kapasiteye sahip olduğundan bahsetmişlerdir. Dolayısıyla, mevcut sıralama verilerinin, büyük ölçüde gruba özgü testlerden üretildiğini ve muhtemelen toplumdaki yeni varyantlar ile iletim modellerinin tespitini gecikmeye yol açtığını göstermektedir (Groenheit ve diğerleri, 2023). Türkiye’de yapılan çalışmamızda N501Y kadar baskın bulunmasa da önemli fenotipik değişikliklere sebep olabilecek olan R346T mutasyonu görülmüştür.

Delta varyantı; L452R, T478K, D614G, P681R mutasyonlarından oluşmaktadır. Bunlara ek olarak spike proteininde yer alan K417N mutasyonu ile delta plus haziran 2021’de tanımlanmıştır. Meydana gelen bu yeni mutasyonun virüsün etkinliğini azalttığı tespit edilmiştir (Kannan ve diğerleri, 2021). Çalışmamızda; L452R ve T478K mutasyonları %50 oranında, D614G ve P681R mutasyonları ise çalışılan örneklerin 8’inde görülmüştür.

Araştırmacılar, Q493R mutasyonunun tedavide sıklıkla kullanılan bamlanivimab+ etesevimab ilaç kombinasyonuna direnç gösteren bir varyantta bulunduğunu bildirmişlerdir (Focosi, Maggi, Franchini, McConnell ve Casadevall, 2022). Çalışmamızda ise Q493R mutasyonu taşıyan yalnızca bir varyant gözlemlenmiştir. Bu da bamlanivimab + etesevimab

ilaç kombinasyonunun ülkemizde başarılı bir tedavi yöntemi olabileceğini düşündürmektedir.

D614G mutasyonu tüm VOC'lerde mevcuttur. Araştırmacılar; in vivo ve ex vivo çalışmaların, virüs enfeksiyonunun erken aşamalarında, D614G virüslerinin hamsterler arasında önemli ölçüde daha hızlı damlacık iletimi sergilediğini ve D614G mutasyonuna sahip virüsün, yabanıl suşa göre 0,5 ila iki kat daha yüksek gen ekspresyonu ile sonuçlandığını göstermişlerdir (Hou ve diğerleri, 2020). D614G psödovirüsünün enfeksiyon etkinliğinin, yabanıl türden 8-10 kat daha yüksek olduğu bildirilmiştir. D614G'nin "RBD'yi" yukarı "konformasyona kaydırması, ACE2 reseptörü ile bağlanmayı teşvik ettiği ve gelişmiş virion enfektivitesine yol açtığı" varsayılmaktadır. Ayrıca, D614G mutanti ile enfekte olmuş klinik numunelerde yüksek bir SARS-CoV-2 RNA titresi gösterilmiştir. Bu nedenle, hem klinik enfeksiyon çalışmaları hem de psödovirüs enfeksiyonu hayvan deneyleri, D614G mutasyonuna sahip virüsün yabanıl suşa göre daha yüksek bulaşıcılığa sahip olduğunu göstermiştir (Tian, Sun, Zhou ve Ye, 2022).

Elde edilen örneklerin literatürde çalışılmış olan diğer genomlarla olan filogenetik ilişkisi incelendiğinde ise 14 örnekten 12'sinin omikron varyantı olarak sınıflandırıldığı görülmüştür. Bu gözlem, omikron'un Türkiye'de örneklerin alım tarihlerindeki baskın varyant türü olmasıyla uyumaktadır. NCBI'dan alınan diğer ülke orijinli virüslerin sekanslarıyla oluşturulmuş filogenetik ağaç incelendiğinde, ülke orijiniyle, genetik uzaklık arasında direkt bir korelasyon saptanamamıştır. Bu virüsün mutasyon hızı ve yayılma hızı göz önüne alındığında beklenen sonuçtur. Ülke orijinine kıyasla, varyant tipi virüs genomları arasındaki genetik uzaklık açısından daha önemli bir belirleyici faktördür.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu yüksek lisans tezi kapsamında yapılan araştırmalardan elde edilen sonuçlar ve öneriler aşağıdaki gibidir:

1. Bu çalışma Türkiye’de görülen Covid-19 vakalarındaki mutasyonların (R346T, N501Y, T678S, G908G, K444T, N460K, Q675Q, N450D, T716S, A846V, T345S, K147E, V642I, N717fs, T724S ve G838G) seyrinin gözlemlendiği ilk çalışmalardandır.
2. Polimeraz zincir reaksiyonu ile yapılan çalışmalarda standardizasyon sağlanmış ve viral genomun izole edilerek çoğaltılması kolaylaştırılmıştır.
3. Çalışmamız verileri ile Türkiye’de görülen virüslerdeki evrimsel gelişime bakılarak, alınabilecek önlemlerin ve geliştirilebilecek aşı ve benzeri uygulamalara veri kazandırılması sağlanmıştır.
4. SARS-CoV-2 virüsünün ORF bölgesinin yanında bulunan ve yapısal bir protein olan spike proteinini sentezleyen, spike geni üzerindeki mutasyonların yeni nesil dizileme yöntemiyle evrimsel gelişimi incelenmiş ve veriler kayıt altına alınmıştır.
5. Ülkemizde gözlemlenen mutasyonlara, ağaç analizi yöntemi uygulanarak çok yönlü mutasyonların evrimsel gelişimi gözlemlenmiştir. Gözlem sonucunda küresel mutasyonların yanı sıra alt mutasyonların Türkiye’de kitlesel etkiye sahip olduğu ortaya konmuştur.
6. Çalışmanın laboratuvar aşamasında dünyada pandemi sırasında yoğun olarak kullanılmış olan hızlı izolasyon yapılmasını sağlayan çözelti içerisinde olan RNA örneklerinin tüm genom analizi sırasında parçalı halde kırık olarak bulunduğu ve bunun hızlı izolasyon çözeltisi nedeniyle olduğu gözlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Alanagreh, L., Alzoughool, F., and Atoum, M. (2020). The human coronavirus disease covid-19: Its origin, characteristics, and insights into potential drugs and its mechanisms. *Pathogens*, 9(5).
- Angel, C.-D., Xiao, L. and Sakagami, H. (2020). ACE2: The Key Molecule for Understanding the Pathophysiology of Severe and Critical Conditions of. *Viruses*, 12(491), 2002–2003.
- Arinola, O. G., Edem, V. F., Rahamon, S. K., Yaqub, S. A., Fashina, A. O., and Alonge, T. O. (2020). Sars-Cov-2 Infection Screening Using Two Serological Testing Methods: Serologic diagnosis of SARS-CoV-2 infection. *Nigerian Journal of Physiological Sciences*, 35(2), 117-121.
- Banerjee, A. K. and Ray, U. (2020). Mutation hot spots in Spike protein of COVID-19 virus: Mutation in spike protein. *Proceedings of the Indian National Science Academy*, 86(6).
- Berliner, S., Shapira, I., Toker, S., Melamed, S., Shirom, A. and Rogowski, O. (2005). Benign hereditary leukopenia-neutropenia does not result from lack of low grade inflammation. A new look in the era of microinflammation. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 34(2), 135–140.
- Bernstein, J. A. (2021). *Primary and Secondary Immunodeficiency. A Case-Based Guide to Evaluation and Management*. Springer Cham., 1-11.
- Bray, C., Bell, L. N., Liang, H., Haykal, R., Kaiksow, F., Mazza, J. J. and Yale, S. H. (2016). Erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein measurements and their relevance in clinical medicine. *Wisconsin Medical Journal*, 115(6), 317–321.
- Celkan, T. T. (2020). What does a hemogram say to us? *Turkish Archives of Pediatrics*, 55(2), 103–116.
- Chen, Y., Liu, Q. and Guo, D. (2020). Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *Journal of Medical Virology*, 92(4), 418–423.
- Davies, N. G., Abbott, S., Barnard, R. C., Jarvis, C. I., Kucharski, A. J., Munday, J. D., and Edmunds, W. J. (2021). Estimated transmissibility and impact of SARS-CoV-2 lineage B. 1.1. 7 in England. *Science*, 372(6538), eabg3055.
- de Groot, R. J., Baker, S. C., Baric, R. S., Brown, C. S., Drosten, C., Enjuanes, L., and Ziebuhr, J. (2013). Commentary: Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV): Announcement of the Coronavirus Study Group. *Journal of Virology*, 87(14), 7790–7792.
- Doremalen, N. van, Morris, D. H., Holbrook, M. G., Gamble, A. and Williamson, B. N. (2020). Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *The New England Journal of Medicine*, 382, 1564–1567.

- Emmons, R. V. B., Reid, D. M., Cohen, R. L., Meng, G., Young, N. S., Dunbar, C. E. and Shulman, N. R. (1996). Human thrombopoietin levels are high when thrombocytopenia is due to megakaryocyte deficiency and low when due to increased platelet destruction. *Blood*, 87(10), 4068–4071.
- Epstein, J. H., McEachern, J., Zhang, J., Daszak, P., Wang, H., Field, H., and Smith, C. (2005). Bats Are Natural Reservoirs of SARS-Like Coronaviruses. *Science*, 310(5748), 676–679.
- Fabricant, J. (1998). The Early History of Infectious Bronchitis. *American Association of Avian Pathologists Stable*, 42(4), 648–650.
- Faria, N. R., Mellan, T. A., Whittaker, C., Claro, I. M., Candido, D. D. S., Mishra, S., and Sabino, E. C. (2021). Genomics and epidemiology of the P. 1 SARS-CoV-2 lineage in Manaus, Brazil. *Science*, 372(6544), 815–821.
- Focosi, D., Maggi, F., Franchini, M., McConnell, S. and Casadevall, A. (2022). Analysis of immune escape variants from antibody-based therapeutics against covid-19: A systematic review. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(1).
- Fouchier, R. A. M., Hartwig, N. G., Bestebroer, T. M., Niemeyer, B., De Jong, J. C., Simon, J. H. and Osterhaus, A. D. M. E. (2004). A previously undescribed coronavirus associated with respiratory disease in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(16), 6212–6216.
- Franceschi, S., Dal Maso, L. D. and La Vecchia, C. L. (1999). Advances in the epidemiology of HIV-associated non-Hodgkin's lymphoma and other lymphoid neoplasms. *International Journal of Cancer*, 83(4), 481–485. doi:10.1002/(SICI)1097-0215(19991112)83:4<481::AID-IJC8>3.0.CO;2-5
- Frutos, R., Serra-Cobo, J., Chen, T. and Devaux, C. A. (2020). COVID-19: Time to exonerate the pangolin from the transmission of SARS-CoV-2 to humans. *Infection, Genetics and Evolution*, 84, 1–5.
- George-Gay, B. and Parker, K. (2003). Understanding the complete blood count with differential. *Journal of Perianesthesia Nursing*, 18(2), 96–117.
- Giacomelli, A., Pezzati, L., Conti, F., Bernacchia, D., Sinao, M., Oreni, L., and Galli, M. (2020). Self-reported Olfactory and Taste Disorders in Patients With Severe Acute Respiratory Coronavirus 2 Infection: A Cross-sectional Study To. *Clinical Infectious Diseases*, 71(15), 888–889.
- Goletic, T., Konjhodzic, R., Fejzic, N., Goletic, S., Eterovic, T., Softic, A., and Hukic, M. (2021). Phylogenetic pattern of sars-cov-2 from covid-19 patients from bosnia and herzegovina: Lessons learned to optimize future molecular and epidemiological approaches. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*, 21(4), 484–487.
- Groenheit, R., Galanis, I., Sonden, K., Sperk, M., Mover, E., Bacchus, P., and Blom, K. (2023). Rapid emergence of omicron sublineages expressing spike protein R346T. *The Lancet Regional Health - Europe*, 24, 2022–2023.

- Guan, Y., Zheng, B. J., He, Y. Q., Liu, X. L., Zhuang, Z. X., Cheung, C. L., and Poon, L. L. M. (2003). Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in Southern China. *Science*, 302(5643), 276–278.
- Hadfield, J., Megill, C., Bell, S. M., Huddleston, J., Potter, B., Callender, C., and Neher, R. A. (2018). NextStrain: Real-time tracking of pathogen evolution. *Bioinformatics*, 34(23), 4121–4123.
- Hamre, D. and Procknow, J. J. (1966). A New Virus Isolated from the Human Respiratory Tract. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 121(1), 190–193.
- He, X., Lau, E. H. Y., Wu, P., Deng, X., Wang, J., Hao, X., and Leung, G. M. (2020). Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nature Medicine*, 26(5), 672–675.
- Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., Krüger, N., Herrler, T., Erichsen, S., and Pöhlmann, S. (2020). SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*, 181(2), 271–280.e8.
- Hou, Y. J., Chiba, S., Halfmann, P., Ehre, C., Kuroda, M., Dinno, K. H., and Baric, R. S. (2020). SARS-CoV-2 D614G variant exhibits efficient replication ex vivo and transmission in vivo. *Science*, 370(6523), 1464–1468.
- Huang, H., Zhu, Y., Niu, Z., Zhou, L. and Sun, Q. (2021). SARS-CoV-2 N501Y variants of concern and their potential transmission by mouse. *Cell Death and Differentiation*, 28(10), 2840–2842.
- Inker, L. A., Eneanya, N. D., Coresh, J., Tighiouart, H., Wang, D., Sang, Y., and Levey, A. S. (2021). New Creatinine- and Cystatin C–Based Equations to Estimate GFR without Race. *New England Journal of Medicine*, 385(19), 1737–1749.
- İnternet: American Academy of Ophthalmology. *Eye Care During COVID-19: Masks, Vaccines and Procedures*. URL: <https://www.aao.org/eye-health/tips-prevention/coronavirus-covid19-eye-infection-pinkeye>, Son Erişim Tarihi: 10.11.2022.
- İnternet: Anadolu Ajansı. *Cuma gününden itibaren 18 yaşından gün almış herkesin aşı randevusu açılacak*. URL: <https://www.aa.com.tr/tr/gundem/cuma-gununden-ibaren-18-yasindan-gun-almis-herkesin-asi-randevusu-acilacak/2283264>, Son Erişim Tarihi: 29.06.2021.
- İnternet: Centers for Disease control and prevention. *Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)*. URL: <https://www.cdc.gov/dotw/covid-19/index.html>, Son Erişim Tarihi: 10.11.2022.
- İnternet: *Coronavirus (COVID-19) Infection Survey-Office for National Statistics*. URL: <https://www.ons.gov.uk/peoplepopulationandcommunity/healthandsocialcare/conditionsanddiseases/articles/coronaviruscovid19infectionsinthecommunityinengland/characteristicsofpeopletestingpositiveforcovid19inengland>, Son Erişim Tarihi: 17.08.2021.

- İnternet: Curry CV and Staros EB (ed.). *Red Cell Distribution Width (RDW) Test*. Medscape. URL: <https://emedicine.medscape.com/article/2098635-overview#showall>, Son Erişim Tarihi: 10.11.2022.
- İnternet: Doğan, Y. (2015). *Kronik böbrek hastalığı konusunda tıbbi laboratuvar hizmetine yönelik kısa kılavuz*. URL: <http://www.turkbiyokimyadernegi.org.tr/upload/48/Dosyalar/tmp/201837131635.pdf>, Son Erişim Tarihi: 10.11.2022.
- İnternet: DSÖ. (2022). *Mers Situation Update 2022*. URL: <https://applications.emro.who.int/docs/WHOEMCSR518E-eng.pdf?ua=1>, Son Erişim Tarihi: 10.05.2023.
- İnternet: National Institutes of Health. *COVID-19 treatment guidelines, Antithrombotic Therapy in Patients With COVID-19*. URL: <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/therapies/antithrombotic-therapy/>, Son Erişim Tarihi: 10.11.2022.
- İnternet: T.C. Sağlık Bakanlığı. *Genel koronavirüs tablosu*. URL: <https://covid19.saglik.gov.tr/TR-66935/genel-koronavirus-tablosu.html>, Son Erişim Tarihi: 10.11.2022.
- İnternet: The Economist. *Understanding SARS-CoV-2 and the drugs that might lessen its power*. URL: <https://www.economist.com/briefing/2020/03/12/understanding-SARS-cov-2-and-the-drugs-that-might-lessen-its-power>, Son Erişim Tarihi: 15.04.2023.
- İnternet: Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. *COVID-19, genel bilgiler, epidemiyoloji ve tanı*. URL: <https://covid19.saglik.gov.tr/Eklenti/39551/0/covid-19rehberigenelbilgilerepidemiyojojivetanipdf.pdf>, Son Erişim Tarihi: 10.11.2022.
- İnternet: U.S. National Library of Medicine, Medical Encyclopedia. *Nasopharyngeal culture*. URL: <https://medlineplus.gov/ency/article/003747.htm>, Son Erişim Tarihi: 15.04.2023.
- İnternet: United States Environmental Protection Agency. *List N Tool: COVID-19 Disinfectants*. URL: <https://cfpub.epa.gov/wizards/disinfectants/> adresinden, Son Erişim Tarihi: 10.11.2022.
- İnternet: World Health Organization. *COVID-19 situation report*. URL: <https://covid19.who.int/>, Son Erişim Tarihi: 15.04.2023.
- İnternet: World Health Organization. *COVID-19 vaccines*. URL: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/covid-19-vaccines>, Son Erişim Tarihi: 10.11.2022.
- Jaiswal, N. K. and Saxena, S. K. (2020). Classical Coronaviruses, 2019, 141–150.
- Jin, Y., Yang, H., Ji, W., Wu, W., Chen, S., Zhang, W. and Duan, G. (2020). Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of covid-19. *Viruses*, 12(4), 1–17.
- Kannan, S. R., Spratt, A. N., Cohen, A. R., Naqvi, S. H., Chand, H. S., Quinn, T. P., and Singh, K. (2021). Evolutionary analysis of the Delta and Delta Plus variants of the SARS-CoV-2 viruses. *Journal of Autoimmunity*, 124, 102715.

- Kaslow, R. A., Stanberry, L. R. and Le Duc, J. W. (2014). Viral infections of humans: Epidemiology and control. *Viral Infections of Humans: Epidemiology and Control*, 1–1215.
- Kernan, K. F. and Carcillo, J. A. (2017). Hyperferritinemia and inflammation. *International Immunology*, 29(9), 401–409.
- Killerby, M. E., Biggs, H. M., Haynes, A., Dahl, R. M., Mustaquim, D., Gerber, S. I. and Watson, J. T. (2018). Human coronavirus circulation in the United States 2014–2017. *Journal of Clinical Virology*, 101(January), 52–56.
- Ksiazek, T. G., Erdman, D., S., G. C., Zaki, S. R., Peret, T., Emery, S., and Anderson, L. J. (2003). A Novel Coronavirus Associated with Severe Acute Respiratory Syndrome. *New England Journal of Medicine*, 348(20), 1953–1966.
- Kumar, A., Singh, R., Kaur, J., Pandey, S., Sharma, V., Thakur, L., and Kumar, N. (2021). Wuhan to World: The COVID-19 Pandemic. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11(March), 1–21.
- Kunutsor, S. K., Apekey, T. A., Seddoh, D. and Walley, J. (2014). Liver enzymes and risk of all-cause mortality in general populations : a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Epidemiology*, 43(1), 187–201.
- Lam, T. T. Y., Jia, N., Zhang, Y. W., Shum, M. H. H., Jiang, J. F., Zhu, H. C., and Cao, W. C. (2020). Identifying SARS-CoV-2-related coronaviruses in Malayan pangolins. *Nature*, 583(7815), 282–285.
- Lau, S. K. P., Woo, P. C. Y., Li, K. S. M., Huang, Y., Tsoi, H. W., Wong, B. H. L., and Yuen, K. Y. (2005). Severe acute respiratory syndrome coronavirus-like virus in Chinese horseshoe bats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(39), 14040–14045.
- Li, Q., Guan, X., Wu, P., Wang, X., Zhou, L., Tong, Y., and Feng, Z. (2020). Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus–Infected Pneumonia. *New England Journal of Medicine*, 382(13), 1199–1207.
- Lia, H., Pyrc, K., Jebbink, M. F., Vermeulen-Oost, W., Berkhout, R. J. M., Wolthers, K. C., and Berkhout, B. (2004). Identification of a new human coronavirus. *Nature Medicine*, 10(4), 368–373.
- Lu, C. C., Chen, M. Y., Lee, W. S. and Chang, Y. L. (2020). Potential therapeutic agents against COVID-19: What we know so far. *Journal of the Chinese Medical Association*, 83(6), 534–536.
- Lu, H., Shrivastava, M., Whiteway, M. and Jiang, Y. (2021). *Candida albicans* targets that potentially synergize with fluconazole. *Critical Reviews in Microbiology*, 47(3), 323–337.
- Markozannes, G., Koutsoumpa, C., Cividini, S., Monori, G., Tsilidis, K. K., Kretsavos, N., and Tzoulaki, I. (2021). Global assessment of C-reactive protein and health-related outcomes: an umbrella review of evidence from observational studies and Mendelian randomization studies. *European Journal of Epidemiology*, 36(1), 11–36.

- McIntosh, K., Dees, J. H., Becker, W. B., Kapikian, A. Z. and Chanock, R. M. (1967). Recovery in tracheal organ cultures of novel viruses from patients with respiratory disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 57(4), 933–940.
- Mercatelli, D., Triboli, L., Fornasari, E., Ray, F. and Giorgi, F. M. (2021). Coronapp: A web application to annotate and monitor SARS-CoV-2 mutations. *Journal of Medical Virology*, 93(5), 3238–3245.
- Miller, W. G. and Jones, G. R. D. (2018). Estimated Glomerular Filtration Rate; Laboratory Implementation and Current Global Status. *Advances in Chronic Kidney Disease*, 25(1), 7–13.
- Oran, D. P. and Topol, E. J. (2021). The proportion of sars-cov-2 infections that are asymptomatic: A systematic review. *Annals of Internal Medicine*, 174(5), 655–662.
- Perez, L., Tejero, Y., Aguodo, M., Valdez, O., Álvares, M., Gonzales, G., and Guzman, M. G. (2022). Sequencing of S and N genes of SARS-CoV-2 strains circulating in Cuba during March- September 2020. *Journal of Microbiology and Infectious Diseases*, 12, 77–87.
- Pillaiyar, T., Meenakshisundaram, S. and Manickam, M. (2020). Recent discovery and development of inhibitors targeting coronaviruses. *Drug Discovery Today*, 25(4), 668–688.
- Provan, D., Arnold, D. M., Bussel, J. B., Chong, B. H., Cooper, N., Gernsheimer, T., and Kuter, D. J. (2019). Updated international consensus report on the investigation and management of primary immune thrombocytopenia. *Blood Advances*, 3(22), 3780–3817.
- Rastogi, M., Pandey, N., Shukla, A. and Singh, S. K. (2020). SARS coronavirus 2: from genome to infectome. *Respiratory Research*, 21(1), 1–15.
- Rondanelli, M., Miccono, A., Lamburghini, S., Avanzato, I., Riva, A., Allegrini, P., and Perna, S. (2018). Self-Care for Common Colds: The Pivotal Role of Vitamin D, Vitamin C, Zinc, and Echinacea in Three Main Immune Interactive Clusters (Physical Barriers, Innate and Adaptive Immunity) Involved during an Episode of Common Colds - Practical Advice on Dosages . *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, Vol:2018, 1-34.
- Sadav, D., Hillis, D. M., Heller, H. C. and Berenbaum, M. R. (2014). *Yaşam Bilimi Biyoloji* (C. 1), 60-75.
- Sanchez-Vega, F., Mina, M., Armenia, J., Chatila, W. K., Luna, A., La, K. C., and Schultz, N. (2018). Oncogenic Signaling Pathways in The Cancer Genome Atlas. *Cell*, 173(2), 321-337.
- Singh, P. and Chouhan, S. (2021). Indian Public Interest and Anxiety Surge in COVID-19 Subsequent to a Strong Epidemic in Italy and Spain through a Survey using Google Trends. *Proceedings - 2021 3rd International Conference on Advances in Computing, Communication Control and Networking, ICACEN 2021*, 2082–2084.

- Su, S., Wong, G., Shi, W., Liu, J., Lai, A. C. K., Zhou, J., and Gao, G. F. (2016). Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses. *Trends in Microbiology*, 24(6), 490–502.
- Takeuchi, H., Abe, M., Takumi, Y., Hashimoto, T., Kobayashi, R., Osoegawa, A., and Sugio, K. (2017). The prognostic impact of the platelet distribution width-to-platelet count ratio in patients with breast cancer. *PloS One*, 12(12), 1–11.
- Tamura, K., Stecher, G. and Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38(7), 3022–3027.
- Thapa, P. and Farber, D. L. (2019). The Role of the Thymus in the Immune Response. *Thoracic surgery clinics*, 29(2), 123–131.
- Tian, D., Sun, Y. H., Zhou, J. M. and Ye, Q. (2022). The global epidemic of SARS-CoV-2 variants and their mutational immune escape. *Journal of Medical Virology*, 94(3), 847–857.
- Tyrrell, J. D. Almeida, C. H. Cunningham, W. R. Dowdle, M.S. Hofstad, K. McIntosh, M.Tajima, L. Ya. Zakstelskaya, B.C. Easterday, A. K. and R. W. B. (1975). Coronaviridae. *Intervirology*, 5, 76–82.
- Vasudevan, D., Sreekumari, S. and Vaidyanathan, K. (2013). *Textbook of Biochemistry* for medical students. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers, 2013.
- Vitantonio, T. A., Fede, R. and Cennimo, D. J. (2019). Immunodeficiency and Ataxia An Atypical Presentation of Cryptococcal Meningitis in an Human Immunodeficiency Virus–Positive Individual *Infectious Diseases in Clinical Practice*, 27(5), 16–17.
- Wang, P., Nair, M. S., Liu, L., Iketani, S., Luo, Y., Guo, Y., and Ho, D. D. (2021). Antibody resistance of SARS-CoV-2 variants B.1.351 and B.1.1.7. *Nature*, 593(7857), 130–135.
- Wegner, G. I., Murray, K. A., Springmann, M., Muller, A., Sokolow, S. H., Saylors, K. and Morens, D. M. (2022). Averting wildlife-borne infectious disease epidemics requires a focus on socio-ecological drivers and a redesign of the global food system. *eClinicalMedicine*, 47, 101386.
- Wertheim, J. O., Chu, D. K. W., Peiris, J. S. M., Kosakovsky Pond, S. L. and Poon, L. L. M. (2013). A Case for the Ancient Origin of Coronaviruses. *Journal of Virology*, 87(12), 7039–7045.
- Whitfield, J. B. (2008). Gamma Glutamyl Transferase. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 38(4), 263–355.
- Woo, P. C. Y., Lau, S. K. P., Chu, C., Chan, K., Tsoi, H., Huang, Y., and Yuen, K. (2005). Characterization and Complete Genome Sequence of a Novel Coronavirus, Coronavirus HKU1, from Patients with Pneumonia. *Journal of Virology*, 79(2), 884–895.

- Woo, P. C. Y., Lau, S. K. P., Lam, C. S. F., Lau, C. C. Y., Tsang, A. K. L., Lau, J. H. N., and Yuen, K.-Y. (2012). Discovery of Seven Novel Mammalian and Avian Coronaviruses in the Genus Deltacoronavirus Supports Bat Coronaviruses as the Gene Source of Alphacoronavirus and Betacoronavirus and Avian Coronaviruses as the Gene Source of Gammacoronavirus and Deltacoronavi. *Journal of Virology*, 86(7), 3995–4008.
- Wu, Z. and McGoogan, J. M. (2020). Characteristics of and Important Lessons from the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72314 Cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *Journal of the American Medical Association*, 323(13), 1239–1242.
- Zehnder, J. L., Benson, R. C., Zehnder, J. L. and Benson, R. C. (1996). Sensitivity and Specificity of the APC Resistance Assay in Detection of Individuals With Factor V Leiden Sensitivity and Specificity of the APC Resistance Assay in Detection of Individuals With Factor V Leiden. *Coagulation and Transfusion Medicine*, 106(1), 6.
- Zhang, J., Cao, C., Zheng, S., Li, W., Li, B. and Xie, X. (2020). Poly (butylene adipate-co-terephthalate)/magnesium oxide/silver ternary composite biofilms for food packaging application. *Food Packaging and Shelf Life*, 24(February), 100487.
- Zhou, H., Ji, J., Chen, X., Bi, Y., Li, J., Wang, Q., and Shi, W. (2021). Identification of novel bat coronaviruses sheds light on the evolutionary origins of SARS-CoV-2 and related viruses. *Cell*, 184(17), 4380-4391.
- Zhu, N., Zhang, D., Wang, W., Li, X., Yang, B., Song, J., and Tan, W. (2020). A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *New England Journal of Medicine*, 382(8), 727–733.

EKLER

EK-1. Çalışmada Tespit Edilen Mutasyonlar

sample	refpos	refvar	qvar	qpos	qlength	protein	variant	varclass	annotation	varname
A3491	21077	C	T	769	5823	NSP16	T140I	SNP	2'-O-ribose methyltransferase	NSP16:T140I
A3491	21618	C	T	1310	5823	S	T19I	SNP	Spike	S:T19I
A3491	21633	T	C	1325	5823	S	L24S	SNP	Spike	S:L24S
A3491	21641	G	T	1333	5823	S	A27S	SNP	Spike	S:A27S
A3491	21987	G	A	1679	5823	S	G142D	SNP	Spike	S:G142D
A3491	22001	A	G	1693	5823	S	K147E	SNP	Spike	S:K147E
A3491	22016	T	C	1708	5823	S	W152R	SNP	Spike	S:W152R
A3491	22033	C	A	1725	5823	S	F157L	SNP	Spike	S:F157L
A3491	22190	A	G	1882	5823	S	I210V	SNP	Spike	S:I210V
A3491	22200	T	G	1892	5823	S	V213G	SNP	Spike	S:V213G
A3491	22331	G	A	2023	5823	S	G257S	SNP	Spike	S:G257S
A3491	22577	GG	CA	2269	5823	S	G339H	SNP	Spike	S:G339H
A3491	22629	A	C	2321	5823	S	K356T	SNP	Spike	S:K356T
A3491	22674	C	T	2366	5823	S	S371F	SNP	Spike	S:S371F
A3491	22679	T	C	2371	5823	S	S373P	SNP	Spike	S:S373P
A3491	22686	C	T	2378	5823	S	S375F	SNP	Spike	S:S375F
A3491	22688	A	G	2380	5823	S	T376A	SNP	Spike	S:T376A
A3491	22775	G	A	2467	5823	S	D405N	SNP	Spike	S:D405N
A3491	22786	A	C	2478	5823	S	R408S	SNP	Spike	S:R408S
A3491	22813	G	T	2505	5823	S	K417N	SNP	Spike	S:K417N
A3491	22882	T	G	2574	5823	S	N440K	SNP	Spike	S:N440K
A3491	22898	G	A	2590	5823	S	G446S	SNP	Spike	S:G446S
A3491	22910	A	G	2602	5823	S	N450D	SNP	Spike	S:N450D
A3491	22942	T	G	2634	5823	S	N460K	SNP	Spike	S:N460K
A3491	22992	G	A	2684	5823	S	S477N	SNP	Spike	S:S477N
A3491	22995	C	A	2687	5823	S	T478K	SNP	Spike	S:T478K
A3491	23013	A	C	2705	5823	S	E484A	SNP	Spike	S:E484A
A3491	23031	T	C	2723	5823	S	F490S	SNP	Spike	S:F490S
A3491	23055	A	G	2747	5823	S	Q498R	SNP	Spike	S:Q498R
A3491	23063	A	T	2755	5823	S	N501Y	SNP	Spike	S:N501Y
A3491	23075	T	C	2767	5823	S	Y505H	SNP	Spike	S:Y505H
A3491	23403	A	G	3095	5823	S	D614G	SNP	Spike	S:D614G
A3491	23525	C	T	3217	5823	S	H655Y	SNP	Spike	S:H655Y
A3491	23599	T	G	3291	5823	S	N679K	SNP	Spike	S:N679K
A3491	23604	C	A	3296	5823	S	P681H	SNP	Spike	S:P681H
A3491	23854	C	A	3546	5823	S	N764K	SNP	Spike	S:N764K
A3491	23948	G	T	3640	5823	S	D796Y	SNP	Spike	S:D796Y
A3491	24424	A	T	4116	5823	S	Q954H	SNP	Spike	S:Q954H
A3491	24469	T	A	4161	5823	S	N969K	SNP	Spike	S:N969K
A3491	25000	C	T	4692	5823	S	D1146D	SNP_silent	Spike	S:D1146D
A3491	25416	C	T	5108	5823	ORF3a	F8F	SNP_silent	ORF3a protein	ORF3a:F8F
A3491	25584	C	T	5276	5823	ORF3a	T64T	SNP_silent	ORF3a protein	ORF3a:T64T
A3491	26060	C	T	5752	5823	ORF3a	T223I	SNP	ORF3a protein	ORF3a:T223I
A0466	21618	C	T	1307	5820	S	T19I	SNP	Spike	S:T19I
A0466	21633	T	C	1322	5820	S	L24S	SNP	Spike	S:L24S
A0466	21639	C	A	1328	5820	S	P26H	SNP	Spike	S:P26H
A0466	21641	G	A	1330	5820	S	A27T	SNP	Spike	S:A27T
A0466	21766	AC	CA	1455	5820	S	H69N	SNP	Spike	S:H69N
A0466	21770	G	A	1459	5820	S	V70I	SNP	Spike	S:V70I
A0466	21987	G	A	1676	5820	S	G142D	SNP	Spike	S:G142D
A0466	22200	T	G	1889	5820	S	V213G	SNP	Spike	S:V213G
A0466	22578	G	A	2267	5820	S	G339D	SNP	Spike	S:G339D
A0466	22599	G	C	2288	5820	S	R346T	SNP	Spike	S:R346T
A0466	22674	C	T	2363	5820	S	S371F	SNP	Spike	S:S371F
A0466	22679	T	C	2368	5820	S	S373P	SNP	Spike	S:S373P
A0466	22686	C	T	2375	5820	S	S375F	SNP	Spike	S:S375F
A0466	22688	A	G	2377	5820	S	T376A	SNP	Spike	S:T376A
A0466	22775	G	A	2464	5820	S	D405N	SNP	Spike	S:D405N
A0466	22786	A	C	2475	5820	S	R408S	SNP	Spike	S:R408S
A0466	22813	G	T	2502	5820	S	K417N	SNP	Spike	S:K417N
A0466	22882	T	G	2571	5820	S	N440K	SNP	Spike	S:N440K
A0466	22893	A	C	2582	5820	S	K444T	SNP	Spike	S:K444T
A0466	22917	T	G	2606	5820	S	L452R	SNP	Spike	S:L452R
A0466	22942	T	A	2631	5820	S	N460K	SNP	Spike	S:N460K
A0466	22992	G	A	2681	5820	S	S477N	SNP	Spike	S:S477N
A0466	22995	C	A	2684	5820	S	T478K	SNP	Spike	S:T478K
A0466	23013	A	C	2702	5820	S	E484A	SNP	Spike	S:E484A
A0466	23018	T	G	2707	5820	S	F486V	SNP	Spike	S:F486V

EK-1. (devam) Çalışmada Tespit Edilen Mutasyonlar

sample	refpos	refvar	qvar	qpos	qlength	protein	variant	varclass	annotation	vamame
A0466	23055	A	G	2744	5820	S	Q498R	SNP	Spike	S:Q498R
A0466	23063	A	T	2752	5820	S	N501Y	SNP	Spike	S:N501Y
A0466	23075	T	C	2764	5820	S	Y505H	SNP	Spike	S:Y505H
A0466	23403	A	G	3092	5820	S	D614G	SNP	Spike	S:D614G
A0466	23525	C	T	3214	5820	S	H655Y	SNP	Spike	S:H655Y
A0466	23599	T	G	3288	5820	S	N679K	SNP	Spike	S:N679K
A0466	23604	C	A	3293	5820	S	P681H	SNP	Spike	S:P681H
A0466	23854	C	A	3543	5820	S	N764K	SNP	Spike	S:N764K
A0466	23948	G	T	3637	5820	S	D796Y	SNP	Spike	S:D796Y
A0466	24424	A	T	4113	5820	S	Q954H	SNP	Spike	S:Q954H
A0466	24469	T	A	4158	5820	S	N969K	SNP	Spike	S:N969K
A0466	25000	C	T	4689	5820	S	D1146D	SNP_silent	Spike	S:D1146D
A0466	25584	C	T	5273	5820	ORF3a	T64T	SNP_silent	ORF3a protein	ORF3a:T64T
A0466	26060	C	T	5749	5820	ORF3a	T223I	SNP	ORF3a protein	ORF3a:T223I
A2362	21618	C	T	1307	5822	S	T19I	SNP	Spike	S:T19I
A2362	21633	T	C	1322	5822	S	L24S	SNP	Spike	S:L24S
A2362	21641	G	T	1330	5822	S	A27S	SNP	Spike	S:A27S
A2362	21987	G	A	1676	5822	S	G142D	SNP	Spike	S:G142D
A2362	22001	A	G	1690	5822	S	K147E	SNP	Spike	S:K147E
A2362	22016	T	C	1705	5822	S	W152R	SNP	Spike	S:W152R
A2362	22033	C	A	1722	5822	S	F157L	SNP	Spike	S:F157L
A2362	22190	A	G	1879	5822	S	I210V	SNP	Spike	S:I210V
A2362	22200	T	G	1889	5822	S	V213G	SNP	Spike	S:V213G
A2362	22331	G	A	2020	5822	S	G257S	SNP	Spike	S:G257S
A2362	22577	GG	CA	2266	5822	S	G339H	SNP	Spike	S:G339H
A2362	22599	G	C	2288	5822	S	R346T	SNP	Spike	S:R346T
A2362	22629	A	C	2318	5822	S	K356T	SNP	Spike	S:K356T
A2362	22674	C	T	2363	5822	S	S371F	SNP	Spike	S:S371F
A2362	22679	T	C	2368	5822	S	S373P	SNP	Spike	S:S373P
A2362	22686	C	T	2375	5822	S	S375F	SNP	Spike	S:S375F
A2362	22688	A	G	2377	5822	S	T376A	SNP	Spike	S:T376A
A2362	22775	G	A	2464	5822	S	D405N	SNP	Spike	S:D405N
A2362	22786	A	C	2475	5822	S	R408S	SNP	Spike	S:R408S
A2362	22813	G	T	2502	5822	S	K417N	SNP	Spike	S:K417N
A2362	22882	T	G	2571	5822	S	N440K	SNP	Spike	S:N440K
A2362	22898	G	A	2587	5822	S	G446S	SNP	Spike	S:G446S
A2362	22942	T	G	2631	5822	S	N460K	SNP	Spike	S:N460K
A2362	22992	G	A	2681	5822	S	S477N	SNP	Spike	S:S477N
A2362	22995	C	A	2684	5822	S	T478K	SNP	Spike	S:T478K
A2362	23013	A	C	2702	5822	S	E484A	SNP	Spike	S:E484A
A2362	23031	T	C	2720	5822	S	F490S	SNP	Spike	S:F490S
A2362	23055	A	G	2744	5822	S	Q498R	SNP	Spike	S:Q498R
A2362	23063	A	T	2752	5822	S	N501Y	SNP	Spike	S:N501Y
A2362	23075	T	C	2764	5822	S	Y505H	SNP	Spike	S:Y505H
A2362	23403	A	G	3092	5822	S	D614G	SNP	Spike	S:D614G
A2362	23525	C	T	3214	5822	S	H655Y	SNP	Spike	S:H655Y
A2362	23599	T	G	3288	5822	S	N679K	SNP	Spike	S:N679K
A2362	23604	C	A	3293	5822	S	P681H	SNP	Spike	S:P681H
A2362	23854	C	A	3543	5822	S	N764K	SNP	Spike	S:N764K
A2362	23948	G	T	3637	5822	S	D796Y	SNP	Spike	S:D796Y
A2362	24368	G	A	4057	5822	S	D936N	SNP	Spike	S:D936N
A2362	24424	A	T	4113	5822	S	Q954H	SNP	Spike	S:Q954H
A2362	24469	T	A	4158	5822	S	N969K	SNP	Spike	S:N969K
A2362	25000	C	T	4689	5822	S	D1146D	SNP_silent	Spike	S:D1146D
A2362	25416	C	T	5105	5822	ORF3a	F8F	SNP_silent	ORF3a protein	ORF3a:F8F
A2362	25584	C	T	5273	5822	ORF3a	T64T	SNP_silent	ORF3a protein	ORF3a:T64T
A2362	26060	C	T	5749	5822	ORF3a	T223I	SNP	ORF3a protein	ORF3a:T223I
B8347	21618	C	T	1305	5818	S	T19I	SNP	Spike	S:T19I
B8347	21766	A	T	1453	5818	S	I68I	SNP_silent	Spike	S:I68I
B8347	21770	G	A	1457	5818	S	V70I	SNP	Spike	S:V70I
B8347	21987	G	A	1674	5818	S	G142D	SNP	Spike	S:G142D
B8347	22200	T	G	1887	5818	S	V213G	SNP	Spike	S:V213G
B8347	22578	G	A	2265	5818	S	G339D	SNP	Spike	S:G339D
B8347	22674	C	T	2361	5818	S	S371F	SNP	Spike	S:S371F
B8347	22679	T	C	2366	5818	S	S373P	SNP	Spike	S:S373P
B8347	22686	C	T	2373	5818	S	S375F	SNP	Spike	S:S375F
B8347	22688	A	G	2375	5818	S	T376A	SNP	Spike	S:T376A
B8347	22775	G	A	2462	5818	S	D405N	SNP	Spike	S:D405N

EK-1. (devam) Çalışmada Tespit Edilen Mutasyonlar

sample	refpos	refvar	qvar	qpos	qlength	protein	variant	varclass	annotation	varname
B8347	22786	A	C	2473	5818	S	R408S	SNP	Spike	S:R408S
B8347	22813	G	T	2500	5818	S	K417N	SNP	Spike	S:K417N
B8347	22882	T	G	2569	5818	S	N440K	SNP	Spike	S:N440K
B8347	22893	A	C	2580	5818	S	K444T	SNP	Spike	S:K444T
B8347	22917	T	G	2604	5818	S	L452R	SNP	Spike	S:L452R
B8347	22942	T	A	2629	5818	S	N460K	SNP	Spike	S:N460K
B8347	22992	G	A	2679	5818	S	S477N	SNP	Spike	S:S477N
B8347	22995	C	A	2682	5818	S	T478K	SNP	Spike	S:T478K
B8347	23013	A	C	2700	5818	S	E484A	SNP	Spike	S:E484A
B8347	23018	T	G	2705	5818	S	F486V	SNP	Spike	S:F486V
B8347	23055	A	G	2742	5818	S	Q498R	SNP	Spike	S:Q498R
B8347	23063	A	T	2750	5818	S	N501Y	SNP	Spike	S:N501Y
B8347	23075	T	C	2762	5818	S	Y505H	SNP	Spike	S:Y505H
B8347	23403	A	G	3090	5818	S	D614G	SNP	Spike	S:D614G
B8347	23525	C	T	3212	5818	S	H655Y	SNP	Spike	S:H655Y
B8347	23599	T	G	3286	5818	S	N679K	SNP	Spike	S:N679K
B8347	23604	C	A	3291	5818	S	P681H	SNP	Spike	S:P681H
B8347	23854	C	A	3541	5818	S	N764K	SNP	Spike	S:N764K
B8347	23948	G	T	3635	5818	S	D796Y	SNP	Spike	S:D796Y
B8347	24424	A	T	4111	5818	S	Q954H	SNP	Spike	S:Q954H
B8347	24469	T	A	4156	5818	S	N969K	SNP	Spike	S:N969K
B8347	25000	C	T	4687	5818	S	D1146D	SNP_silent	Spike	S:D1146D
B8347	25584	C	T	5271	5818	ORF3a	T64T	SNP_silent	ORF3a protein	ORF3a:T64T
B8347	26060	C	T	5747	5818	ORF3a	T223I	SNP	ORF3a protein	ORF3a:T223I
B9107	21618	C	T	1312	5825	S	T19I	SNP	Spike	S:T19I
B9107	21766	A	T	1460	5825	S	I68I	SNP_silent	Spike	S:I68I
B9107	21770	G	T	1464	5825	S	V70F	SNP	Spike	S:V70F
B9107	21987	G	A	1681	5825	S	G142D	SNP	Spike	S:G142D
B9107	22200	T	G	1894	5825	S	V213G	SNP	Spike	S:V213G
B9107	22578	G	A	2272	5825	S	G339D	SNP	Spike	S:G339D
B9107	22599	G	C	2293	5825	S	R346T	SNP	Spike	S:R346T
B9107	22674	C	T	2368	5825	S	S371F	SNP	Spike	S:S371F
B9107	22679	T	C	2373	5825	S	S373P	SNP	Spike	S:S373P
B9107	22686	C	T	2380	5825	S	S375F	SNP	Spike	S:S375F
B9107	22688	A	G	2382	5825	S	T376A	SNP	Spike	S:T376A
B9107	22775	G	A	2469	5825	S	D405N	SNP	Spike	S:D405N
B9107	22786	A	C	2480	5825	S	R408S	SNP	Spike	S:R408S
B9107	22813	G	T	2507	5825	S	K417N	SNP	Spike	S:K417N
B9107	22882	T	G	2576	5825	S	N440K	SNP	Spike	S:N440K
B9107	22917	T	G	2611	5825	S	L452R	SNP	Spike	S:L452R
B9107	22992	G	A	2686	5825	S	S477N	SNP	Spike	S:S477N
B9107	22995	C	A	2689	5825	S	T478K	SNP	Spike	S:T478K
B9107	23013	A	C	2707	5825	S	E484A	SNP	Spike	S:E484A
B9107	23018	T	G	2712	5825	S	F486V	SNP	Spike	S:F486V
B9107	23055	A	G	2749	5825	S	Q498R	SNP	Spike	S:Q498R
B9107	23063	A	T	2757	5825	S	N501Y	SNP	Spike	S:N501Y
B9107	23075	T	C	2769	5825	S	Y505H	SNP	Spike	S:Y505H
B9107	23403	A	G	3097	5825	S	D614G	SNP	Spike	S:D614G
B9107	23525	C	T	3219	5825	S	H655Y	SNP	Spike	S:H655Y
B9107	23587	G	A	3281	5825	S	Q675Q	SNP_silent	Spike	S:Q675Q
B9107	23599	T	G	3293	5825	S	N679K	SNP	Spike	S:N679K
B9107	23604	C	A	3298	5825	S	P681H	SNP	Spike	S:P681H
B9107	23854	C	A	3548	5825	S	N764K	SNP	Spike	S:N764K
B9107	23948	G	T	3642	5825	S	D796Y	SNP	Spike	S:D796Y
B9107	24424	A	T	4118	5825	S	Q954H	SNP	Spike	S:Q954H
B9107	24469	T	A	4163	5825	S	N969K	SNP	Spike	S:N969K
B9107	25000	C	T	4694	5825	S	D1146D	SNP_silent	Spike	S:D1146D
B9107	25584	C	T	5278	5825	ORF3a	T64T	SNP_silent	ORF3a protein	ORF3a:T64T
B9107	25599	G	T	5293	5825	ORF3a	W69C	SNP	ORF3a protein	ORF3a:W69C
B9107	26060	C	T	5754	5825	ORF3a	T223I	SNP	ORF3a protein	ORF3a:T223I
D3422	21618	C	T	1310	5823	S	T19I	SNP	Spike	S:T19I
D3422	21641	G	T	1333	5823	S	A27S	SNP	Spike	S:A27S
D3422	21770	G	A	1462	5823	S	V70I	SNP	Spike	S:V70I
D3422	21987	G	A	1679	5823	S	G142D	SNP	Spike	S:G142D
D3422	22200	T	G	1892	5823	S	V213G	SNP	Spike	S:V213G
D3422	22578	G	A	2270	5823	S	G339D	SNP	Spike	S:G339D
D3422	22674	C	T	2366	5823	S	S371F	SNP	Spike	S:S371F
D3422	22679	T	C	2371	5823	S	S373P	SNP	Spike	S:S373P

EK-1. (devam) Çalışmada Tespit Edilen Mutasyonlar

sample	refpos	refvar	qvar	qpos	qlength	protein	variant	varclass	annotation	varname
D3422	22686	C	T	2378	5823	S	S375F	SNP	Spike	S:S375F
D3422	22688	A	G	2380	5823	S	T376A	SNP	Spike	S:T376A
D3422	22775	G	A	2467	5823	S	D405N	SNP	Spike	S:D405N
D3422	22786	A	C	2478	5823	S	R408S	SNP	Spike	S:R408S
D3422	22813	G	T	2505	5823	S	K417N	SNP	Spike	S:K417N
D3422	22882	T	G	2574	5823	S	N440K	SNP	Spike	S:N440K
D3422	22910	A	G	2602	5823	S	N450D	SNP	Spike	S:N450D
D3422	22917	T	G	2609	5823	S	L452R	SNP	Spike	S:L452R
D3422	22992	G	A	2684	5823	S	S477N	SNP	Spike	S:S477N
D3422	22995	C	A	2687	5823	S	T478K	SNP	Spike	S:T478K
D3422	23013	A	C	2705	5823	S	E484A	SNP	Spike	S:E484A
D3422	23018	T	G	2710	5823	S	F486V	SNP	Spike	S:F486V
D3422	23055	A	G	2747	5823	S	Q498R	SNP	Spike	S:Q498R
D3422	23063	A	T	2755	5823	S	N501Y	SNP	Spike	S:N501Y
D3422	23075	T	C	2767	5823	S	Y505H	SNP	Spike	S:Y505H
D3422	23403	A	G	3095	5823	S	D614G	SNP	Spike	S:D614G
D3422	23525	C	T	3217	5823	S	H655Y	SNP	Spike	S:H655Y
D3422	23599	T	G	3291	5823	S	N679K	SNP	Spike	S:N679K
D3422	23604	C	A	3296	5823	S	P681H	SNP	Spike	S:P681H
D3422	23854	C	A	3546	5823	S	N764K	SNP	Spike	S:N764K
D3422	23948	G	T	3640	5823	S	D796Y	SNP	Spike	S:D796Y
D3422	24099	C	T	3791	5823	S	A846V	SNP	Spike	S:A846V
D3422	24424	A	T	4116	5823	S	Q954H	SNP	Spike	S:Q954H
D3422	24469	T	A	4161	5823	S	N969K	SNP	Spike	S:N969K
D3422	25000	C	T	4692	5823	S	D1146D	SNP_silent	Spike	S:D1146D
D3422	25584	C	T	5276	5823	ORF3a	T64T	SNP_silent	ORF3a protein	ORF3a:T64T
D3422	26060	C	T	5752	5823	ORF3a	T223I	SNP	ORF3a protein	ORF3a:T223I
E0528	21618	C	T	1307	5820	S	T19I	SNP	Spike	S:T19I
E0528	21633	T	C	1322	5820	S	L24S	SNP	Spike	S:L24S
E0528	21766	A	C	1455	5820	S	I68I	SNP_silent	Spike	S:I68I
E0528	21770	G	A	1459	5820	S	V70I	SNP	Spike	S:V70I
E0528	21987	G	A	1676	5820	S	G142D	SNP	Spike	S:G142D
E0528	22200	T	G	1889	5820	S	V213G	SNP	Spike	S:V213G
E0528	22578	G	A	2267	5820	S	G339D	SNP	Spike	S:G339D
E0528	22599	G	C	2288	5820	S	R346T	SNP	Spike	S:R346T
E0528	22674	C	T	2363	5820	S	S371F	SNP	Spike	S:S371F
E0528	22679	T	C	2368	5820	S	S373P	SNP	Spike	S:S373P
E0528	22686	C	T	2375	5820	S	S375F	SNP	Spike	S:S375F
E0528	22688	A	G	2377	5820	S	T376A	SNP	Spike	S:T376A
E0528	22775	G	A	2464	5820	S	D405N	SNP	Spike	S:D405N
E0528	22786	A	C	2475	5820	S	R408S	SNP	Spike	S:R408S
E0528	22813	G	T	2502	5820	S	K417N	SNP	Spike	S:K417N
E0528	22882	T	G	2571	5820	S	N440K	SNP	Spike	S:N440K
E0528	22917	T	G	2606	5820	S	L452R	SNP	Spike	S:L452R
E0528	22992	G	A	2681	5820	S	S477N	SNP	Spike	S:S477N
E0528	22995	C	A	2684	5820	S	T478K	SNP	Spike	S:T478K
E0528	23013	A	C	2702	5820	S	E484A	SNP	Spike	S:E484A
E0528	23018	T	G	2707	5820	S	F486V	SNP	Spike	S:F486V
E0528	23055	A	G	2744	5820	S	Q498R	SNP	Spike	S:Q498R
E0528	23063	A	T	2752	5820	S	N501Y	SNP	Spike	S:N501Y
E0528	23075	T	C	2764	5820	S	Y505H	SNP	Spike	S:Y505H
E0528	23403	A	G	3092	5820	S	D614G	SNP	Spike	S:D614G
E0528	23525	C	T	3214	5820	S	H655Y	SNP	Spike	S:H655Y
E0528	23599	T	G	3288	5820	S	N679K	SNP	Spike	S:N679K
E0528	23604	C	A	3293	5820	S	P681H	SNP	Spike	S:P681H
E0528	23854	C	A	3543	5820	S	N764K	SNP	Spike	S:N764K
E0528	23948	G	T	3637	5820	S	D796Y	SNP	Spike	S:D796Y
E0528	24424	A	T	4113	5820	S	Q954H	SNP	Spike	S:Q954H
E0528	24469	T	A	4158	5820	S	N969K	SNP	Spike	S:N969K
E0528	25000	C	T	4689	5820	S	D1146D	SNP_silent	Spike	S:D1146D
E0528	25584	C	T	5273	5820	ORF3a	T64T	SNP_silent	ORF3a protein	ORF3a:T64T
E0528	26060	C	T	5749	5820	ORF3a	T223I	SNP	ORF3a protein	ORF3a:T223I
F0332	21618	C	T	1307	5820	S	T19I	SNP	Spike	S:T19I
F0332	21633	T	C	1322	5820	S	L24S	SNP	Spike	S:L24S
F0332	21641	G	T	1330	5820	S	A27S	SNP	Spike	S:A27S
F0332	21987	G	A	1676	5820	S	G142D	SNP	Spike	S:G142D
F0332	22200	T	G	1889	5820	S	V213G	SNP	Spike	S:V213G
F0332	22578	G	A	2267	5820	S	G339D	SNP	Spike	S:G339D

EK-1. (devam) Çalışmada Tespit Edilen Mutasyonlar

sample	refpos	refvar	qvar	qpos	qlength	protein	variant	varclass	annotation	varname
F0332	22674	C	T	2363	5820	S	S371F	SNP	Spike	S:S371F
F0332	22679	T	C	2368	5820	S	S373P	SNP	Spike	S:S373P
F0332	22686	C	T	2375	5820	S	S375F	SNP	Spike	S:S375F
F0332	22688	A	G	2377	5820	S	T376A	SNP	Spike	S:T376A
F0332	22775	G	A	2464	5820	S	D405N	SNP	Spike	S:D405N
F0332	22786	A	C	2475	5820	S	R408S	SNP	Spike	S:R408S
F0332	22813	G	T	2502	5820	S	K417N	SNP	Spike	S:K417N
F0332	22882	T	G	2571	5820	S	N440K	SNP	Spike	S:N440K
F0332	22992	G	A	2681	5820	S	S477N	SNP	Spike	S:S477N
F0332	22995	C	A	2684	5820	S	T478K	SNP	Spike	S:T478K
F0332	23013	A	C	2702	5820	S	E484A	SNP	Spike	S:E484A
F0332	23040	A	G	2729	5820	S	Q493R	SNP	Spike	S:Q493R
F0332	23055	A	G	2744	5820	S	Q498R	SNP	Spike	S:Q498R
F0332	23063	A	T	2752	5820	S	N501Y	SNP	Spike	S:N501Y
F0332	23075	T	C	2764	5820	S	Y505H	SNP	Spike	S:Y505H
F0332	23403	A	G	3092	5820	S	D614G	SNP	Spike	S:D614G
F0332	23525	C	T	3214	5820	S	H655Y	SNP	Spike	S:H655Y
F0332	23599	T	G	3288	5820	S	N679K	SNP	Spike	S:N679K
F0332	23604	C	A	3293	5820	S	P681H	SNP	Spike	S:P681H
F0332	23854	C	A	3543	5820	S	N764K	SNP	Spike	S:N764K
F0332	23948	G	T	3637	5820	S	D796Y	SNP	Spike	S:D796Y
F0332	24424	A	T	4113	5820	S	Q954H	SNP	Spike	S:Q954H
F0332	24469	T	A	4158	5820	S	N969K	SNP	Spike	S:N969K
F0332	25000	C	T	4689	5820	S	D1146D	SNP_silent	Spike	S:D1146D
F0332	25584	C	T	5273	5820	ORF3a	T64T	SNP_silent	ORF3a protein	ORF3a:T64T
F0332	26060	C	T	5749	5820	ORF3a	T223I	SNP	ORF3a protein	ORF3a:T223I
F3191	21618	C	T	1305	5818	S	T19I	SNP	Spike	S:T19I
F3191	21633	T	C	1320	5818	S	L24S	SNP	Spike	S:L24S
F3191	21641	G	T	1328	5818	S	A27S	SNP	Spike	S:A27S
F3191	21770	G	A	1457	5818	S	V70I	SNP	Spike	S:V70I
F3191	21987	G	A	1674	5818	S	G142D	SNP	Spike	S:G142D
F3191	22200	T	G	1887	5818	S	V213G	SNP	Spike	S:V213G
F3191	22578	G	A	2265	5818	S	G339D	SNP	Spike	S:G339D
F3191	22674	C	T	2361	5818	S	S371F	SNP	Spike	S:S371F
F3191	22679	T	C	2366	5818	S	S373P	SNP	Spike	S:S373P
F3191	22686	C	T	2373	5818	S	S375F	SNP	Spike	S:S375F
F3191	22688	A	G	2375	5818	S	T376A	SNP	Spike	S:T376A
F3191	22775	G	A	2462	5818	S	D405N	SNP	Spike	S:D405N
F3191	22786	A	C	2473	5818	S	R408S	SNP	Spike	S:R408S
F3191	22813	G	T	2500	5818	S	K417N	SNP	Spike	S:K417N
F3191	22882	T	G	2569	5818	S	N440K	SNP	Spike	S:N440K
F3191	22917	T	G	2604	5818	S	L452R	SNP	Spike	S:L452R
F3191	22992	G	A	2679	5818	S	S477N	SNP	Spike	S:S477N
F3191	22995	C	A	2682	5818	S	T478K	SNP	Spike	S:T478K
F3191	23013	A	C	2700	5818	S	E484A	SNP	Spike	S:E484A
F3191	23018	T	G	2705	5818	S	F486V	SNP	Spike	S:F486V
F3191	23055	A	G	2742	5818	S	Q498R	SNP	Spike	S:Q498R
F3191	23063	A	T	2750	5818	S	N501Y	SNP	Spike	S:N501Y
F3191	23075	T	C	2762	5818	S	Y505H	SNP	Spike	S:Y505H
F3191	23403	A	G	3090	5818	S	D614G	SNP	Spike	S:D614G
F3191	23525	C	T	3212	5818	S	H655Y	SNP	Spike	S:H655Y
F3191	23599	T	G	3286	5818	S	N679K	SNP	Spike	S:N679K
F3191	23604	C	A	3291	5818	S	P681H	SNP	Spike	S:P681H
F3191	23854	C	A	3541	5818	S	N764K	SNP	Spike	S:N764K
F3191	23948	G	T	3635	5818	S	D796Y	SNP	Spike	S:D796Y
F3191	24424	A	T	4111	5818	S	Q954H	SNP	Spike	S:Q954H
F3191	24469	T	A	4156	5818	S	N969K	SNP	Spike	S:N969K
F3191	25000	C	T	4687	5818	S	D1146D	SNP_silent	Spike	S:D1146D
F3191	25584	C	T	5271	5818	ORF3a	T64T	SNP_silent	ORF3a protein	ORF3a:T64T
F3191	26060	C	T	5747	5818	ORF3a	T223I	SNP	ORF3a protein	ORF3a:T223I
F7255	21618	C	T	1306	5821	S	T19I	SNP	Spike	S:T19I
F7255	21770	G	A	1458	5821	S	V70I	SNP	Spike	S:V70I
F7255	21987	G	A	1675	5821	S	G142D	SNP	Spike	S:G142D
F7255	22200	T	G	1888	5821	S	V213G	SNP	Spike	S:V213G
F7255	22578	G	A	2266	5821	S	G339D	SNP	Spike	S:G339D
F7255	22674	C	T	2362	5821	S	S371F	SNP	Spike	S:S371F
F7255	22679	T	C	2367	5821	S	S373P	SNP	Spike	S:S373P
F7255	22686	C	T	2374	5821	S	S375F	SNP	Spike	S:S375F

EK-1. (devam) Çalışmada Tespit Edilen Mutasyonlar

sample	refpos	refvar	qvar	qpos	qlength	protein	variant	varclass	annotation	varname
F7255	22688	A	G	2376	5821	S	T376A	SNP	Spike	S:T376A
F7255	22775	G	A	2463	5821	S	D405N	SNP	Spike	S:D405N
F7255	22786	A	C	2474	5821	S	R408S	SNP	Spike	S:R408S
F7255	22813	G	T	2501	5821	S	K417N	SNP	Spike	S:K417N
F7255	22882	T	G	2570	5821	S	N440K	SNP	Spike	S:N440K
F7255	22910	A	G	2598	5821	S	N450D	SNP	Spike	S:N450D
F7255	22917	T	G	2605	5821	S	L452R	SNP	Spike	S:L452R
F7255	22992	G	A	2680	5821	S	S477N	SNP	Spike	S:S477N
F7255	22995	C	A	2683	5821	S	T478K	SNP	Spike	S:T478K
F7255	23013	A	C	2701	5821	S	E484A	SNP	Spike	S:E484A
F7255	23018	T	G	2706	5821	S	F486V	SNP	Spike	S:F486V
F7255	23055	A	G	2743	5821	S	Q498R	SNP	Spike	S:Q498R
F7255	23063	A	T	2751	5821	S	N501Y	SNP	Spike	S:N501Y
F7255	23075	T	C	2763	5821	S	Y505H	SNP	Spike	S:Y505H
F7255	23403	A	G	3091	5821	S	D614G	SNP	Spike	S:D614G
F7255	23525	C	T	3213	5821	S	H655Y	SNP	Spike	S:H655Y
F7255	23599	T	G	3287	5821	S	N679K	SNP	Spike	S:N679K
F7255	23604	C	A	3292	5821	S	P681H	SNP	Spike	S:P681H
F7255	23854	C	A	3542	5821	S	N764K	SNP	Spike	S:N764K
F7255	23948	G	T	3636	5821	S	D796Y	SNP	Spike	S:D796Y
F7255	24424	A	T	4112	5821	S	Q954H	SNP	Spike	S:Q954H
F7255	24469	T	A	4157	5821	S	N969K	SNP	Spike	S:N969K
F7255	25000	C	T	4688	5821	S	D1146D	SNP_silent	Spike	S:D1146D
F7255	25584	C	T	5272	5821	ORF3a	T64T	SNP_silent	ORF3a protein	ORF3a:T64T
F7255	26060	C	T	5748	5821	ORF3a	T223I	SNP	ORF3a protein	ORF3a:T223I
G1376	21618	C	T	1307	5820	S	T19I	SNP	Spike	S:T19I
G1376	21766	A	C	1455	5820	S	I68I	SNP_silent	Spike	S:I68I
G1376	21768	A	G	1457	5820	S	H69R	SNP	Spike	S:H69R
G1376	21770	G	A	1459	5820	S	V70I	SNP	Spike	S:V70I
G1376	21987	G	A	1676	5820	S	G142D	SNP	Spike	S:G142D
G1376	22001	A	G	1690	5820	S	K147E	SNP	Spike	S:K147E
G1376	22200	T	G	1889	5820	S	V213G	SNP	Spike	S:V213G
G1376	22578	G	A	2267	5820	S	G339D	SNP	Spike	S:G339D
G1376	22599	G	C	2288	5820	S	R346T	SNP	Spike	S:R346T
G1376	22674	C	T	2363	5820	S	S371F	SNP	Spike	S:S371F
G1376	22679	T	C	2368	5820	S	S373P	SNP	Spike	S:S373P
G1376	22686	C	T	2375	5820	S	S375F	SNP	Spike	S:S375F
G1376	22688	A	G	2377	5820	S	T376A	SNP	Spike	S:T376A
G1376	22775	G	A	2464	5820	S	D405N	SNP	Spike	S:D405N
G1376	22786	A	C	2475	5820	S	R408S	SNP	Spike	S:R408S
G1376	22813	G	T	2502	5820	S	K417N	SNP	Spike	S:K417N
G1376	22882	T	G	2571	5820	S	N440K	SNP	Spike	S:N440K
G1376	22893	A	C	2582	5820	S	K444T	SNP	Spike	S:K444T
G1376	22917	T	G	2606	5820	S	L452R	SNP	Spike	S:L452R
G1376	22942	T	A	2631	5820	S	N460K	SNP	Spike	S:N460K
G1376	22992	G	A	2681	5820	S	S477N	SNP	Spike	S:S477N
G1376	22995	C	A	2684	5820	S	T478K	SNP	Spike	S:T478K
G1376	23013	A	C	2702	5820	S	E484A	SNP	Spike	S:E484A
G1376	23018	T	G	2707	5820	S	F486V	SNP	Spike	S:F486V
G1376	23055	A	G	2744	5820	S	Q498R	SNP	Spike	S:Q498R
G1376	23063	A	T	2752	5820	S	N501Y	SNP	Spike	S:N501Y
G1376	23075	T	C	2764	5820	S	Y505H	SNP	Spike	S:Y505H
G1376	23403	A	G	3092	5820	S	D614G	SNP	Spike	S:D614G
G1376	23486	G	A	3175	5820	S	V642I	SNP	Spike	S:V642I
G1376	23525	C	T	3214	5820	S	H655Y	SNP	Spike	S:H655Y
G1376	23599	T	G	3288	5820	S	N679K	SNP	Spike	S:N679K
G1376	23604	C	A	3293	5820	S	P681H	SNP	Spike	S:P681H
G1376	23854	C	A	3543	5820	S	N764K	SNP	Spike	S:N764K
G1376	23948	G	T	3637	5820	S	D796Y	SNP	Spike	S:D796Y
G1376	24424	A	T	4113	5820	S	Q954H	SNP	Spike	S:Q954H
G1376	24469	T	A	4158	5820	S	N969K	SNP	Spike	S:N969K
G1376	25000	C	T	4689	5820	S	D1146D	SNP_silent	Spike	S:D1146D
G1376	25584	C	T	5273	5820	ORF3a	T64T	SNP_silent	ORF3a protein	ORF3a:T64T
G1376	25613	C	T	5302	5820	ORF3a	S74F	SNP	ORF3a protein	ORF3a:S74F
G1376	26060	C	T	5749	5820	ORF3a	T223I	SNP	ORF3a protein	ORF3a:T223I
G5151	21618	C	T	1305	5820	S	T19I	SNP	Spike	S:T19I
G5151	21633	T	C	1320	5820	S	L24S	SNP	Spike	S:L24S
G5151	21766	A	T	1453	5820	S	I68I	SNP_silent	Spike	S:I68I

EK-1. (devam) Çalışmada Tespit Edilen Mutasyonlar

sample	refpos	refvar	qvar	qpos	qlength	protein	variant	varclass	annotation	varname
G5151	21770	G	A	1457	5820	S	V70I	SNP	Spike	S:V70I
G5151	21987	G	A	1674	5820	S	G142D	SNP	Spike	S:G142D
G5151	22200	T	G	1887	5820	S	V213G	SNP	Spike	S:V213G
G5151	22578	G	A	2265	5820	S	G339D	SNP	Spike	S:G339D
G5151	22599	G	C	2286	5820	S	R346T	SNP	Spike	S:R346T
G5151	22674	C	T	2361	5820	S	S371F	SNP	Spike	S:S371F
G5151	22679	T	C	2366	5820	S	S373P	SNP	Spike	S:S373P
G5151	22686	C	T	2373	5820	S	S375F	SNP	Spike	S:S375F
G5151	22688	A	G	2375	5820	S	T376A	SNP	Spike	S:T376A
G5151	22775	G	A	2462	5820	S	D405N	SNP	Spike	S:D405N
G5151	22786	A	C	2473	5820	S	R408S	SNP	Spike	S:R408S
G5151	22813	G	T	2500	5820	S	K417N	SNP	Spike	S:K417N
G5151	22882	T	G	2569	5820	S	N440K	SNP	Spike	S:N440K
G5151	22917	T	G	2604	5820	S	L452R	SNP	Spike	S:L452R
G5151	22992	G	A	2679	5820	S	S477N	SNP	Spike	S:S477N
G5151	22995	C	A	2682	5820	S	T478K	SNP	Spike	S:T478K
G5151	23013	A	C	2700	5820	S	E484A	SNP	Spike	S:E484A
G5151	23018	T	G	2705	5820	S	F486V	SNP	Spike	S:F486V
G5151	23055	A	G	2742	5820	S	Q498R	SNP	Spike	S:Q498R
G5151	23063	A	T	2750	5820	S	N501Y	SNP	Spike	S:N501Y
G5151	23075	T	C	2762	5820	S	Y505H	SNP	Spike	S:Y505H
G5151	23403	A	G	3090	5820	S	D614G	SNP	Spike	S:D614G
G5151	23525	C	T	3212	5820	S	H655Y	SNP	Spike	S:H655Y
G5151	23599	T	G	3286	5820	S	N679K	SNP	Spike	S:N679K
G5151	23604	C	A	3291	5820	S	P681H	SNP	Spike	S:P681H
G5151	23854	C	A	3541	5820	S	N764K	SNP	Spike	S:N764K
G5151	23948	G	T	3635	5820	S	D796Y	SNP	Spike	S:D796Y
G5151	24424	A	T	4111	5820	S	Q954H	SNP	Spike	S:Q954H
G5151	24469	T	A	4156	5820	S	N969K	SNP	Spike	S:N969K
G5151	25000	C	T	4687	5820	S	D1146D	SNP_silent	Spike	S:D1146D
G5151	25584	C	T	5271	5820	ORF3a	T64T	SNP_silent	ORF3a protein	ORF3a:T64T
G5151	26060	C	T	5747	5820	ORF3a	T223I	SNP	ORF3a protein	ORF3a:T223I
E4132	21766	A	C	1455	5827	S	I68I	SNP_silent	Spike	S:I68I
E4132	21770	G	A	1459	5827	S	V70I	SNP	Spike	S:V70I
E4132	22073	G	T	1762	5827	S	V171F	SNP	Spike	S:V171F
E4132	22304	T	C	1993	5827	S	Y248H	SNP	Spike	S:Y248H
E4132	23403	A	G	3092	5827	S	D614G	SNP	Spike	S:D614G
E4132	24367	A	G	4056	5827	S	Q935Q	SNP_silent	Spike	S:Q935Q
E4132	25096	C	T	4785	5827	S	N1178N	SNP_silent	Spike	S:N1178N
E4132	25429	G	T	5118	5827	ORF3a	V13L	SNP	ORF3a protein	ORF3a:V13L
E4132	26034	G	A	5723	5827	ORF3a	L214L	SNP_silent	ORF3a protein	ORF3a:L214L
E4132	26078	C	T	5767	5827	ORF3a	T229I	SNP	ORF3a protein	ORF3a:T229I
E2425	23403	A	G	3095	5831	S	D614G	SNP	Spike	S:D614G
E2425	25785	G	T	5477	5831	ORF3a	W131C	SNP	ORF3a protein	ORF3a:W131C
E2425	26013	C	T	5705	5831	ORF3a	F207F	SNP_silent	ORF3a protein	ORF3a:F207F



Gazili olmak ayrıcalıktır