

COVID-19 Hastalarında Güncel Varyantların Kliniğe Etkisi: EG.5 Varyantının Klinik Özellikleri

Clinical Impact of Current Variants in COVID-19 Patients: Clinical Characteristics in Variant EG.5

Ferhat Gürkan ASLAN¹(ID), Süleyman YALÇIN²(ID), Saliha KAZCI¹(ID), Bedia DİNÇ³(ID), Gölşay KORUKLUOĞLU³(ID)

¹ Ankara Bilkent Şehir Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara.

¹ Ankara Bilkent City Hospital, Clinic of Medical Microbiology, Ankara, Türkiye.

² Türkiye Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Dairesi Başkanlığı, Ulusal Moleküler Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarı, Ankara.

² Türkiye Directorate General of Public Health, Department of Microbiology Reference and Biological Products, Ankara, Türkiye.

³ Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Ankara Bilkent Şehir Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara.

³ University of Health Sciences, Ankara Bilkent City Health Application and Research Center, Clinic of Medical Microbiology, Ankara, Türkiye

* Bu makale, 26. European Society for Clinical Virology (ESCV) (18-21 Eylül 2024, Frankfurt, Almanya) Kongresinde poster olarak sunulmuştur.

Makale Atfı: Aslan FG, Yalçın S, Kazcı S, Dinç B, Korukluoğlu G. COVID-19 hastalarında güncel varyantların kliniğe etkisi: EG.5 varyantının klinik özellikleri. Mikrobiyol Bul 2024;58(4):448-460.

ÖZ

Şiddetli akut solunum yolu sendromu koronavirus-2 [severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2)] virüsü, pandeminin başlangıcından bu yana yüksek oranda mutasyona uğrayarak farklı varyantlar oluşturmıştır. Alfa, Beta, Gama, Delta ve Omicron, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından tanımlanan endişe verici varyantlar olarak belirlenmiştir. Omicron varyantı ve alt soyları 2022'de dünya çapında hakim duruma gelmiştir. Omicron varyantının alt soylarından olan EG.5, son zamanlarda artan vakalarla ilişkilendirilmiştir. Bu çalışmada, EG.5 varyantının izlenmekte olan varyant olarak tanımlanmasının ardından 2023 yılı sonuna kadar olan dönemde, hastane bünyesinde koronavirus hastalığı 2019 [coronavirus diseases 2019 (COVID-19)] tanısı alan hasta örneklerinde tam genom dizi analizi yöntemi kullanılarak; SARS-CoV-2 varyantları ile hastalığın şiddeti arasındaki ilişkinin araştırılması ve ülkemizdeki SARS-CoV-2 sürveyansına katkı sağlanması amaçlanmıştır. Çalışmaya, sendromik multipleks viral polimeraz zincir reaksiyonu [polymerase chain reaction (PCR)] panelinde çalışılarak SARS-CoV-2 pozitifliği saptanmış ve sekans analizi için uygun, 68 hasta örneği dahil edilmiştir. Hastalardan alınan nazofaringeal/orofaringeal sürüntü örnekleri, sendromik multipleks viral PCR panelinde çalışılmıştır. Test sonucunda SARS-CoV-2 pozitif çıkan, viral yükü yüksek hasta örneklerinden tam genom dizi analizi yapılmıştır. Barkodlu sekanslama kütüphanesi hazırlanmış ve ekstrakte edilen DNA ile COVIDSeq test kitleri (Illumina, ABD) kullanılarak, Illumina yeni nesil dizileme platformunda sekanslanmıştır. Kitaplık, NextSeq 550 cihazındaki (Illumina, ABD) NextSeq 500/550 yüksek çıkışlı reaktif kartuşu v2 75 döngü, NextSeq 500/550 yüksek çıkışlı akış hücresine yüklenmiştir. Sekans verilerini analiz etmek için temel alanda mevcut olan DRAGEN COVID soy programı kullanılmıştır. Ortaya çıkan kombine

İletişim (Correspondence): Dr. Ferhat Gürkan Aslan, Ankara Bilkent Şehir Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 (543) 291 29 80, **E-posta (E-mail):** ferhatgurkan33@hotmail.com

fasta dosyaları Nexclade ve Pangolin COVID-19 Lineage Assigner programlarına yüklenmiş ve sınıf ataması, mutasyon çağrıları ve dizi kalite kontrolleri yapılmıştır. İstatistiksel değerlendirme Statistical Package for Social Sciences (Windows v20.0, Armonk, NY) programı kullanılarak yapılmıştır. SARS-CoV-2 pozitifliği laboratuvarında doğrulanmış ve örneği sekans çalışması için uygun olan, toplam 68 hastanın sekans sonuçları, klinik veriler eşliğinde analiz edilmiştir. Çalışmaya alınan örneklerin 15 (%22.1)'inde EG.5 varyantı saptanırken 53 (%77.9) örnekte EG.5 dışı farklı alt varyantlar tespit edilmiştir. Tespit edilen tüm varyantlardan en sık saptanan ilk üç varyant sırasıyla, XBB.1.16, EG.5.1 ve FL.1.5.1 olarak belirlenmiştir. EG.5 varyantının alt türleri ise EG.5.1.1, EG.5.1.3, EG.5.1.6 ve EG.5.1 olarak saptanmıştır. Çalışmaya dahil edilen hastaların 20 (%29.4)'si hastaneye yatırılarak takip edilmiş olup, DSÖ klinik ilerleme ölçeğine göre 14 hastanın orta-ağır kliniğe sahip olduğu belirlenmiştir. Hastanede yatırılarak takip edilen ve komorbiditeleri bulunan, ileri yaşta dört hasta takibi eksiklikle sonuçlanmıştır. Yapılan istatistiksel değerlendirmede, EG.5 ve EG.5 dışı Omicron varyantları arasında, yaş grubu, klinik belirtiler ve hastalık şiddeti açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır. SARS-CoV-2 ve klinik spektrumdaki değişikliklerin zamanında tanımlanması, uygun karşı önlemlerin uygulanması için genomik sürveyansa devam edilmesi önerilmektedir.

Anahtar kelimeler: EG.5; SARS-CoV-2; sekans; Türkiye; varyant.

ABSTRACT

The severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2) virus has mutated at a high rate since the beginning of the pandemic, leading to the formation of different variants. Alpha, Beta, Gamma, Delta and Omicron have emerged as concerning variants identified by the World Health Organization (WHO). The Omicron variant and its sublineages became dominant worldwide in 2022. EG.5, a sublineage of Omicron, was associated with increased cases recently. In this study, we aimed to investigate the relationship between SARS-CoV-2 variants and the severity of the disease by using the whole genome sequence analysis method in patient samples diagnosed with coronavirus diseases 2019 (COVID-19) in our hospital and to contribute to SARS-CoV-2 surveillance in our country, in the period until the end of 2023, after the announcement of the EG.5 variant. The study included 68 patient samples that were found to be SARS-CoV-2 positive by polymerase chain reaction. Nasopharyngeal/oropharyngeal swab samples obtained from the patients were analysed by syndromic multiplex viral polymerase chain reaction panel. Whole genome sequence analysis was performed on SARS-CoV-2 positive patient samples with high viral load. Barcoded sequencing library was prepared and extracted DNA was sequenced on the Illumina next generation sequencing platform using COVIDSeq test kits (Illumina, USA). The library was loaded into a NextSeq 500/550 high output reagent cartridge v2 75 cycle, NextSeq 500/550 high output flow cell on the NextSeq 550 instrument (Illumina, USA). The DRAGEN COVID lineage programme available in the core domain was used to analyse the sequence data. The resulting combined fasta files were loaded into Nexclade and Pangolin COVID-19 Lineage Assigner programmes and class assignment, mutation calls and sequence quality checks were performed. Statistical evaluation was performed using Statistical Package for Social Sciences (Windows v20.0, Armonk, NY) programme. Sequence results of a total of 68 patients whose SARS-CoV-2 positivity was confirmed in our laboratory and whose samples were suitable for sequence study were analysed with clinical data. While EG.5 variant was detected in 15 (22.1%) of the samples included in the study, different sub-variants other than EG.5 were detected in 53 (77.9%) samples. The first three most frequently detected variants were XBB.1.16, EG.5.1 and FL.1.5.1, respectively. The subtypes of the EG.5 variant were determined as EG.5.1.1, EG.5.1.3, EG.5.1.6 and EG.5.1. Of the patients included in the study, 20 (29.4%) were hospitalised and followed up, 14 of whom had moderate to severe clinical conditions. Four hospitalised patients with comorbidities at an advanced age resulted in exitus. In the statistical evaluation, no significant difference was found between EG.5 and non-EG.5 Omicron variants in terms of age group, clinical symptoms and disease severity. It is recommended to continue genomic surveillance for the timely identification of SARS-CoV-2 and changes in the clinical spectrum and implementation of appropriate countermeasures.

Keywords: EG.5; SARS-CoV-2; sequence; Türkiye; variant.

GİRİŞ

Şiddetli akut solunum yolu sendromu koronavirüs-2 [severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2)], koronavirüs hastalığı 2019 [coronavirus diseases 2019 (COVID-19)] pandemisinin başlangıcından bu yana, yüksek oranda mutasyona uğrayarak her biri farklı yayılma yeteneklerine sahip çok sayıda yeni varyant geliştirmiştir¹⁻³. Bu varyantlardan bazıları ise hastalık profilinde önemli değişikliklere neden olmuştur⁴. Evrimleşen genotiplerin monitörizasyonu için SARS-CoV-2 varyantları, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından, endişe verici varyantlar [variant of concern (VOC)], izlenmekte olan varyantlar [variant under monitoring (VUM)] ve dikkate alınması gereken varyantlar [variant of interest (VOI)] olmak üzere üç grupta kategorize edilmiştir⁵. İlk olarak Aralık 2020’de tanımlanan Alfa (B.1.1.7) varyantını takiben, Beta (B.1.351), Gama (P1), Delta (B.1.617.2) ve son dönemde dikkatle izlenen Omicron (B.1.1.529) varyantı, başlıca endişe verici varyantlar olarak tanımlanmıştır^{2,4}.

İlk Omicron (B.1.1.529) enfeksiyonu vakası Kasım 2021’de Güney Afrika’dan bildirilmiştir. Yüksek bulaşıcılığı ve virölansı nedeniyle, DSÖ 26 Kasım 2021’de Omicron’u bir VOC olarak ilan etmiştir⁵. Bu varyant ve alt soyları, sadece üç ay içinde birçok ülkede yaygınlaşarak 2022 yılında baskın varyant haline gelmiştir^{2,4}. Ocak 2022’de BA.1 ile başlayan süreci, Mart 2022’de BA.2 yaygınlığı ve Temmuz 2022’de BA.5 yaygınlığı takip etmiştir. Daha sonra Omicron alt soyları BA.2, BA.4 ve BA.5 dolaşıma girmiştir. Dünya Sağlık Örgütü, Omicron’un beş (BA.1, BA.2, BA.3, BA.4 ve BA.5) alt varyantını VOC olarak tanımıştır⁶. Dünya Sağlık Örgütü, 15 Mart 2023’te Omicron varyantlarının VOC’lar, VOI’ler veya VUM’lar olarak ayrı ayrı izlenmesini önermiştir. Spike proteininde ekstra mutasyona sahip yeni bir Omicron varyantı EG.5 (Eris) ilk olarak 17 Şubat 2023’te DSÖ tarafından rapor edilmiştir⁵. Küresel ölçekte giderek yaygınlaşan ve birçok ülkede COVID-19 vaka sayılarında artışa neden olduğu düşünülen EG.5 varyantı, 19 Temmuz 2023’te VUM olarak tanımlanmıştır ve ciddi endişeler yaratmıştır^{2,3}. EG.5 ve alt soyları EG.5.1, EG.5.1.1 ve EG.5.2; XBB.1.5 (Kraken) ile aynı spike amino asit profiline sahip olan XBB.1.9.2’nin soyundan gelmektedir. Ancak EG.5, bu ana alt varyantlarla karşılaştırıldığında spike proteininde ilave bir F456L amino asit mutasyonuna sahipken, EG.5.1 alt varyantı ise buna ilave olarak Q52H spike mutasyonuna sahiptir⁴.

Dünya Sağlık Örgütü, 30 Temmuz 2023 itibarıyla, iki VOI (ör. XBB.1.5 ve XBB.1.16) ve yedi VUM (ör. BA.2.75, CH.1.1, XBB, XBB.1.9.1, XBB.1.9.2, XBB.2.3 ve EG.5) listelemiştir. O dönemde, VUM’lar arasında en yenisi olan EG.5’in prevalansı, 24. ve 28. haftalar arasında, %6.2’den %11.6’ya yükselirken diğer VUM’larda azalma belirlenmiştir⁷. Bu durum, komşu soylara kıyasla daha yüksek replikasyon sayısını göstermektedir. Dünya Sağlık Örgütü tarafından yapılan risk değerlendirmesinin ardından, EG.5 ve alt soyları, 8 Ağustos 2023’te VOI olarak belirlenmiştir⁴.

Çeşitli SARS-CoV-2 varyantlarının neden olduğu semptomlar benzer olabilse de bazı varyantlar artan enfeksiyon ciddiyeti veya yüksek bulaşıcılıkla ilişkilendirilmektedir⁸.

Omicron soylarında sürekli olarak ortaya çıkan mutasyonlar, yeni ilaçların ve aşıların geliştirilmesi açısından, bu varyantların yakın takibinin gerekliliğini ve genomik sürveyansın önemini göstermektedir⁵. Bu çalışmada, EG.5 varyantının izlenmekte olan varyant olarak tanımlanmasının ardından, hastane bünyesinde solunum yolu örneklerinden izole edilen SARS-CoV-2'nin, tam genom dizi analizi yöntemi kullanılarak saptanılan varyantlar ile hastalık şiddeti arasındaki ilişkinin araştırılması ve ülkemizde yapılmakta olan SARS-CoV-2 sürveyansına katkı sağlanması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Ankara Bilkent Şehir Hastanesi 2 Nolu Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylandı (Tarih: 27.12.2023, Karar No: E2-23-5886).

Çalışma Planı ve Hasta Grubu

Çalışma, retrospektif kohort olarak planlandı. Ankara Bilkent Şehir Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında SARS-CoV-2 pozitiflik oranının yükselmeye başladığı 15.09.2023 - 30.11.2023 tarihleri arasındaki dönemde randomize seçilen ve sekans analizi yapılabilen 68 hasta örneği çalışmaya dahil edildi.

Klinik Örneklerde SARS-CoV-2 Varlığının Moleküler Yöntemle Belirlenmesi

Akut solunum yolu enfeksiyonu açısından değerlendirmek amacıyla hastalardan alınan nazofarengeal/orofarengeal sürüntü örnekleri, bir virüs taşıma ortamında (vNAT/ viral nükleik asit tüpü, Bioeksen, Türkiye) Tıbbi Mikrobiyoloji Moleküler Test Laboratuvarına gönderildi. Örnekler sendromik multipleks viral polimeraz zincir reaksiyonu [polymerase chain reaction (PCR)] panelinde, üreticinin talimatlarına uygun olarak çalışmaya alındı. Aralarında SARS-CoV-2'nin de olduğu viral enfeksiyonların varlığı, solunum yolu kantitatif revers transkripsiyon-PCR (Bio-Speedy, Bioeksen, Türkiye) kitiyle CFX96 Touch (BioRad Laboratories, Mannheim, Almanya) platformunda çalışıldı. Üreticinin önerileri doğrultusunda, "cycle threshold" (Ct) değeri < 15.0 olan sonuçlar yüksek pozitif, Ct değeri ≥ 15 olan sonuçlar düşük pozitif olarak raporlandı.

Test sonucunda SARS-CoV-2 pozitif çıkan, viral yükü sekans analizi için yeterli olabilecek (Ct değeri < 25) ve uygun koşullarda saklanmış hasta örneklerinden tam genom dizi analizi çalışması, Türkiye Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Mikrobiyoloji Referans ve Biyolojik Ürünler Dairesi Başkanlığı Moleküler Mikrobiyoloji Laboratuvarında yapıldı. Hastaların demografik ve klinik verileri hastane tıbbi kayıtlarından elde edildi. COVID-19 vakaları, DSÖ klinik ilerleme ölçeği kriterleri kullanılarak hafif, orta ve ağır olarak sınıflandırıldı⁹. Bu kriterlere göre; hafif vakalar, asemptomatik olan veya SARS-CoV-2'nin tipik semptomlarını gösteren ancak hastaneye yatırılmayı gerektirmeyen vakalar olarak kabul edildi. Orta dereceli hastalık, en fazla düşük akışlı oksijen desteğine ihtiyaç duyulan, COVID-19 ile ilişkili hastaneye yatış olarak tanımlandı. Şiddetli vakalar, yüksek akışlı oksijen desteği, invaziv olmayan ventilasyon veya mekanik ventilasyon ihtiyacıyla birlikte COVID-19 ile ilişkili hastaneye yatış olarak tanımlandı.

Tam Viral Genom Dizi Analizi

Nazofarengeal/orofarengeal sürüntü örneklerinden viral RNA ekstraksiyon işlemleri, üreticinin talimatlarına uygun olarak, EZ1&2™ virus mini kit (Qiagen, Almanya) kullanılarak, EZ1 otomatik ekstraktör cihazında (Qiagen, Almanya) gerçekleştirildi. Örnekler 96'lı gruplar halinde dizileme yapıldı ve dizileme sırasında +4 °C'de tutuldu. Dizilemenin ardından ekstrakte edilen numuneler, imha edilmeden önce dört haftaya kadar -80 °C'de saklandı. Barkodlu dizileme kütüphanesi hazırlandı ve ekstrakte edilen DNA ile COVIDSeq test kitleri (Illumina, ABD) kullanılarak tüm genom dizilemesi yapıldı. Kitaplık, NextSeq 550 cihazındaki (Illumina, ABD) NextSeq 500/550 yüksek çıkışlı reaktif kartuşu v2 75 döngü, NextSeq 500/550 yüksek çıkışlı akış hücresine yüklendi.

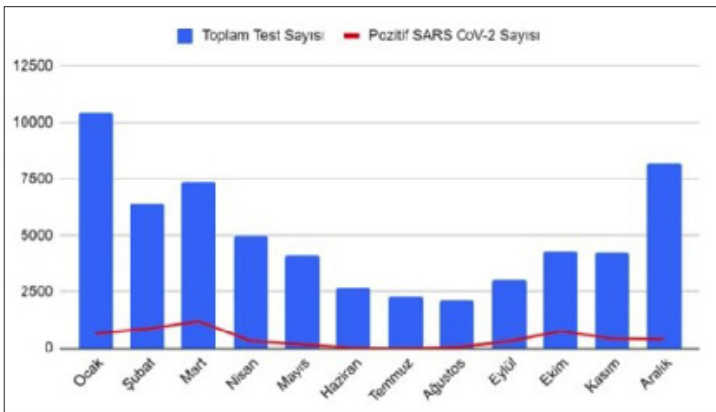
Sekans verilerini analiz etmek için temel alanda mevcut olan DRAGEN COVID soy programı kullanıldı. Ortaya çıkan kombine fasta dosyaları, Nexclade (clades.nextstrain.org/) ve Pangolin COVID-19 Lineage Assigner (pangolin.cog-uk.io/) programlarına yüklendi; sınıf ataması, mutasyon çağrılar ve dizi kalite kontrolleri yapıldı.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme Statistical Package for Social Sciences (Windows v20.0, Armonk, NY) programı kullanılarak yapıldı. Varyantlar arası kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında Pearson ki-kare/Fisher'in kesinlik testi, sayısal değişkenlerin karşılaştırılmasında Student-t testi/Mann-Whitney U testi kullanıldı. İstatistiksel olarak $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

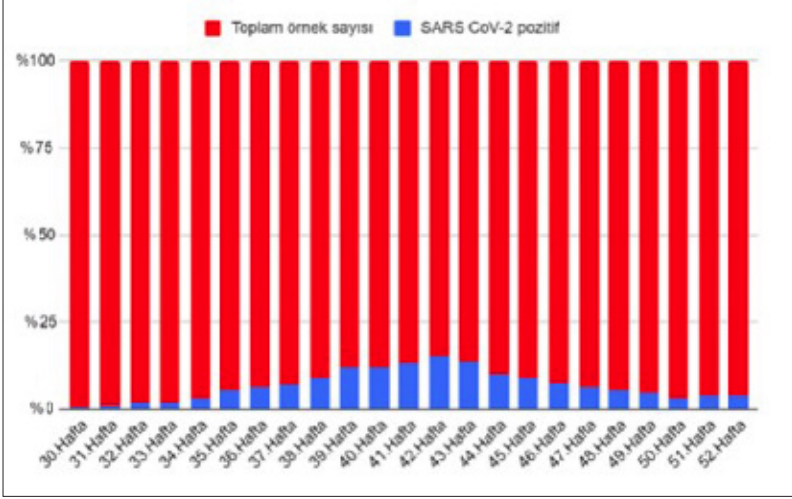
Laboratuvarda, 2023 yılı süresince toplam 59862 solunum yolu örneğinde multipleks PCR testi çalışılmış, 5176 (%8.64) örnekte SARS-CoV-2 pozitif bulunmuştur. Test sayıları ve pozitiflik oranları değerlendirildiğinde, kış mevsiminde test istemlerinin ve pozitif sonuçların arttığı görülmüştür.



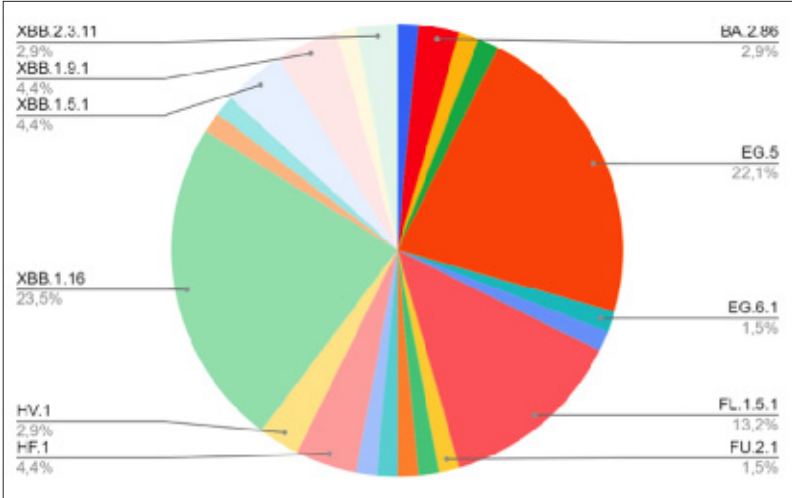
Grafik 1. 2023 yılı SARS-CoV-2 verilerinin aylara göre dağılımı.

Yıl içindeki pozitif ve negatif örneklerin aylara göre dağılımı Grafik 1’de verilmiştir. Yaz aylarında hem test istem sayısında hem de pozitiflik sayılarında azalmalar belirgin şekilde görülmekle birlikte, EG.5 varyantının DSÖ tarafından deklare edildiği Temmuz 2023 ayı sonu ile Ağustos ayı boyunca pozitiflik oranlarında artış olmuştur.

EG.5 varyantının, izlenmekte olan varyantlar olarak sınıflandırıldığı Temmuz 2023 tarihinden itibaren pozitif SARS-CoV-2 sayıları laboratuvarında yakından izlenmiş ve Aralık 2023 sonuna kadar olan veriler Grafik 2’de haftalık olarak paylaşılmıştır.

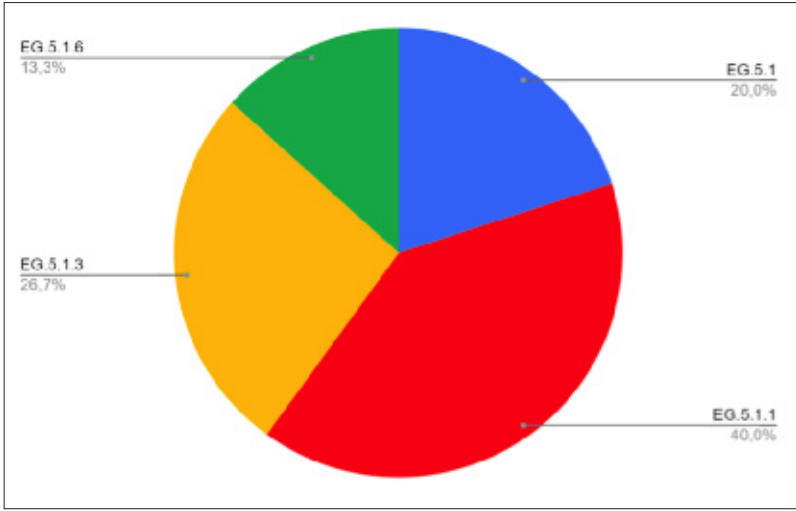


Grafik 2. EG.5 varyantının açıklanmasından sonra 2023 yılı haftalık SARS-CoV-2 pozitiflik oranları.



Grafik 3. SARS-CoV-2 pozitif örneklerde saptanan varyantların dağılımı.

Çalışmada, SARS-CoV-2 pozitifliği laboratuvarında doğrulanmış ve örneği sekans çalışması için uygun olan (Ct değeri < 25) toplam 68 hastanın sekans sonuçları, klinik veriler eşliğinde analiz edilmiştir. Örneklerin ortalama Ct değeri= 15.4 (min= 6.2 – maks= 20.0) olarak hesaplanmıştır. Çalışmaya alınan örneklerin 15 (%22.1)'inde EG.5 varyantı saptanırken 53 (%77.9) örnekte EG.5 dışı farklı alt varyantlar tespit edilmiştir. Tespit edilen tüm varyantların dağılımları Grafik 3'te gösterilmiştir. Sıklık sırasına göre ilk üç varyant XBB.1.16, EG.5.1 ve FL.1.5.1 olarak tespit edilmiştir. EG.5 varyantının alt türleri ise Grafik 4'te paylaşılmıştır.



Grafik 4. Çalışmaya alınan örneklerde saptanan EG.5 varyantlarının dağılımı.

Dahil edilen hastaların yaşları 0-96 yıl arasında değişmekte (ortalama yaş 25.5 yıl) olup 41'i kadındır (%60.3). Yaş dağılımı açısından bakıldığında; 16 hasta bir yaşın altında, yedi hasta 1-5 yaş arasında, 10 hasta 6-18 yaş arasında, 22 hasta 19-65 yaş arasında ve 13 hasta 65 yaş üstü olarak belirlenmiştir. Tüm hasta grubunda en çok eşlik eden hastalıklar kardiyovasküler hastalıklar, diyabet ve nörolojik hastalıklar olarak belirlenmiştir. Hastaların neredeyse tamamında, başvuru anında genel olarak hafif semptomlar tespit edilmiş olmakla birlikte, 62'si en az bir belirti veya semptom gösterirken, altı hasta herhangi bir semptom belirtmemiş, başka nedenlerle takipleri sırasında, hastaneye yatışlarında istenen solunum yolu paneli testinde tesadüfen SARS-CoV-2 varlığı saptanmıştır. En sık görülen semptomlar sırasıyla; ateş (n= 36, %52.9), öksürük (n= 29, %42.6), boğaz ağrısı (n= 15, %22.1), halsizlik/yorgunluk (n= 13, %19.1) ve hırıltılı solunum/dispne (n= 10, %14.7) olarak belirlenmiştir. Başvuru sırasındaki akciğer grafisi veya tomografi bulgularına göre 15 hastada (%22.1) akciğer infiltrasyonu mevcut olup, bunlardan dokuzunun 65 yaşın üzerinde olduğu saptanmıştır. Sadece 14 hastada (%20.6) COVID-19 nedeniyle ek oksijen desteğine, dokuz hastada (%13.2) antiviral ajana ihtiyaç duyulmuştur. Hastaların 48'i ayaktan, 20'si hastanede yatırılarak izlenmiştir. EG.5 veya EG.5 dışı varyantı

pozitif olan hastalarda, yaş, cinsiyet, komorbidite varlığı, başvuru semptomları, radyolojik görüntüleme, tedavi ve hastaneye yatış açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p > 0.05$) (Tablo I).

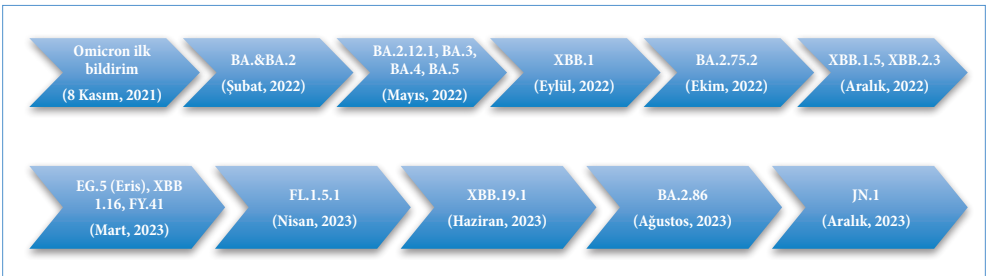
Çalışmaya dahil edilen hastaların 14'ü orta-ağır hastalık grubunda olup, varyantlarla hastalık ciddiyeti arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p > 0.05$). Üçü yoğun bakım ünitesinde, biri onkoloji kliniğinde takip edilmekte olan ≥ 65 yaş ve komorbid hastalıkları bulunan dört hastanın takibi eksitus ile sonuçlanmıştır. Hastanede yatanlarda ortalama Ct değeri 14.9 ± 3.6 iken, ayaktan takip edilen hastalarda ortalama 14.7 ± 3.5 saptanmış olup istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p = 0.820$). Hastalar Ct değeri < 15.0 (yüksek pozitif) ve Ct değeri ≥ 15 (düşük pozitif) olarak sınıflandırıldığında da akciğerde infiltrasyon varlığı, oksijen ihtiyacı, entübasyon ihtiyacı, hastaneye yatış ve hastalık şiddetleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p > 0.05$).

TARTIŞMA

COVID-19 salgınının başlangıcından bu yana SARS-CoV-2'nin genetik dizisinde enfektivite, patojenite ve antijenik kapasitesini potansiyel olarak arttırabilecek çok sayıda mutasyon tanımlanmıştır¹⁰. Mutasyonlara bağlı, zaman içerisinde ortaya çıkan bazı önemli Omicron alt varyantları Şekil 1'de gösterilmiştir.

SARS-CoV-2'nin insanlardaki adaptasyonları devam ettikçe enfeksiyonları farklı klinik formlar gösterebilmektedir^{8,12}. Son çalışmalar, Omicron'un, Alfa ve Delta varyantlarına kıyasla daha zayıf hücre füzyonu ve sinsityal formasyon yaptığını, ayrıca kemirgenlerin alt solunum yollarında, üst solunum yollarına kıyasla daha düşük viral yüke neden olduğunu göstermiştir¹³⁻¹⁶. Benzer bulgular insan akciğerlerinde de saptanmıştır¹⁷. Bütün bunların sonucu olarak da Omicron varyantı kaynaklı COVID-19 enfeksiyonlarının oranı ve buna bağlı mortalite ve morbidite 2023'te önemli ölçüde azalmıştır¹².

SARS-CoV-2'nin neden olduğu klinik seyir; yaş, komorbiditeler ve konakçıya ait değişkenlik gösteren immün sistem varyasyonları ile yakından ilişkilidir. Yapılan çalışmaların gösterdiği kadarıyla VOC olarak gruplandırılan varyantlar, orijinal Wuhan veya "vahşi tip" varyantı dahil olmak üzere, diğer VOC olmayan varyantlara göre hastalığın ciddiyetini ve ölüm riskini daha yüksek oranda arttırmaktadır^{10,18,19}.



Şekil 1. Zaman içerisinde ortaya çıkan önemli Omicron alt varyantları¹¹.

Tablo 1. Hastaların Demografik ve Klinik Özelliklerinin EG.5 ve EG.5 Dışı Varyantlarına Göre Dağılımı

Hasta Özellikleri		Tüm Hastalar (n= 68)		EG.5 Varyantı (n= 15)		EG.5 Dışı Omicron Varyantı (n= 53)		p
		n	%	n	%	n	%	
Yaş	Ortalama ± SS	31.7 ± 30.8		25.2 ± 34.5		33.6 ± 29.8		0.245
	Ortanca (min-maks)	25.5 (0-96)		2.5 (0-96)		29 (0-91)		
Yaş dağılımı	< 1	16	23.5	5	33.3	11	20.8	-*
	1-5	7	10.3	3	20.0	4	7.5	
	6-18	10	14.7	1	6.7	9	17.0	
	19-65	22	32.4	3	20.0	19	35.8	
	> 65	13	19.1	3	20.0	10	18.9	
Cinsiyet	K	41	60.3	6	40.0	35	66.0	0.069
	E	27	39.7	9	60.0	18	34.0	
Kororbidite	Yok	39	57.4	10	66.7	29	54.7	0.409
	Var	29	42.6	5	33.3	24	45.3	
	**KVH	15	22.1	4	26.7	11	20.8	0.726
	Diyabet	9	13.2	3	20.0	6	11.3	0.402
	Nörolojik hastalık	5	7.4	2	13.3	3	5.7	0.303
	Kanser	4	5.9	-	-	4	7.5	-
	***KOAHA	3	4.4	1	6.7	2	3.8	-
Başvuru semptomları	Ateş	36	36	10	66.7	26	49.1	0.228
	Öksürük	29	29	7	46.7	22	41.5	0.721
	Boğaz ağrısı	15	15	2	13.3	13	24.5	0.492
	Halsizlik/Yorgunluk	13	19.1	2	13.3	11	20.8	0.717
	Hırıltılı solunum/Dispne	10	14.7	1	6.7	9	17.3	0.436
Görüntüleme	Yok	28	41.2	6	40.0	22	41.5	0.814
	Var	40	58.8	9	60.0	31	58.5	
	İnfiltrasyon var	15	22.1	3	33.3	12	38.7	1.000
	İnfiltrasyon yok	25	36.8	6	66.7	19	61.3	
Oksijen desteği	Yok	55	80.9	13	86.7	42	79.2	0.717
	Var	13	19.1	2	13.3	11	20.8	
Molnupiravir	Yok	59	86.8	13	86.7	46	86.8	1.000
	Var	9	13.2	2	13.3	7	13.2	
Hastane yatışı	Yok	48	70.6	10	66.7	38	71.7	0.753
	Var	20	29.4	5	33.3	15	28.3	
	Servis	9	13.2	2	13.3	7	13.2	1.000
	Yoğun bakım	11	16.2	3	20.0	8	15.1	
Entübasyon	Yok	62	91.2	14	93.3	48	91.2	1.000
	Var	6	8.8	1	6.7	5	8.8	
Hastalık şiddeti	Hafif	54	79.4	11	73.3	43	81.1	0.491
	Orta-Ağır	14	20.6	4	26.7	10	18.9	
Hasta sonucu	Ayaktan	48	70.6	10	66.7	38	71.7	-*
	Şifa ile taburcu	14	20.6	4	26.7	10	18.9	
	Eksitus	4	5.9	1	6.7	3	5.7	
	Yatışı devam ediyor	1	1.5	-	-	1	1.9	
	Başka merkeze sevk	1	1.5	-	-	1	1.9	

*Frekansı beşin altında olan parametreler verinin %20'sini aştığı için Pearson ki-kare uygulanamadı.
KVH: Kardiyovasküler hastalık, *KOAHA: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı.

*Frekansı beşin altında olan parametreler verinin %20'sini aştığı için Pearson ki-kare uygulanamadı.

KVH: Kardiyovasküler hastalık, *KOA: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı.

Laboratuvara gönderilen örneklerde, SARS-CoV-2 pozitifliğinin aylara göre dağılımı izlenmiş ve beklenildiği gibi, kış aylarında daha yüksek pozitiflik oranları saptanırken yaz aylarında pozitiflik oranlarının azaldığı gözlenmiştir. Çalışmanın planlandığı dönemdeki küresel verilere baktığımızda, EG.5 yüzdesinin genel olarak istikrarlı bir şekilde arttığı ve 19-25 Haziran 2023 arasında %7.6 iken, sadece dört hafta sonrasında, 17-23 Temmuz 2023 (29. epidemiyolojik hafta) arasında %17.4'e yükseldiği bildirilmiştir²⁰. Bu çalışmada ise Temmuz 2023 sonu (%0.3) ve Ağustos 2023 (%2.4)'te pozitiflik oranlarında hafif bir artış olduğu belirlenmiştir.

Örneklerin genomik sekans sonuçlarında hiçbir varyantın diğerine göre baskın olması, bu artışın EG.5 varyantı ile bağlantılı olmadığını düşündürmüştür. Son dönemde ortaya çıkan varyantlardan biri olarak izlenen EG.5 varyantı, çalışmada ikinci sıklıkta saptanmıştır. Alınan sonuçlarda, zaman içerisinde EG.5 varyantının önemli bir artışla baskın varyant haline gelmediği görülmüştür. Bu durum hastaneye başvurularda EG.5 varyantının önemli bir faktör olmadığını düşündürmüştür. Yapılan çalışmalarda da yapısal analizlere ve genetik verilere dayanarak, bu yeni varyantın geniş çapta bulaşma kapasitesine sahip olmadığı, daha yüksek bir riske veya artan bulaşıcılığına yönelik bir kanıtın bulunmadığı bildirilmiştir^{3,21}.

EG.5 varyantının özelliklerinin tanımlandığı sınırlı sayıda çalışma bulunmakla birlikte, önceki Omicron alt varyantlarından farklı bir klinik sendroma yol açtığına dair herhangi bir kanıt olmadığı belirtilmiştir²¹. Zhang ve arkadaşları yaptıkları çalışmada²² EG.5.1 ve XBB.1.9.1'in viral aktivitesini ve nötralizasyonunu değerlendirmiş ve EG.5.1'e karşı serum nötralizan antikor titresinin daha düşük olduğunu, viral replikasyonda ve sitokin/kemokin yanıtında önemli bir fark olmadığını tespit etmiştir. Bu durumun EG.5.1 klinik ciddiyetinde bir değişiklik olmadığı gözlemiyle uyumlu olduğunu belirtmişlerdir.

Saptanan varyantlar ile mortalite arasında yorum yapılabilmesi için hasta sayısı sınırlı olsa da EG.5 varyantında diğer varyantlara göre mortalitede yükseklik bulunmamıştır. Çalışmada, takibi ölümle sonuçlanan dört hastanın ise ciddi komorbiditeleri olan ve ileri yaştaki hastalar olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, örnek grupta bulunan hastaların 20'si hastanede yatmakta olsa da bu hastaların altısının hastaneye yatış nedenlerinin ileus, travma, yumuşak doku enfeksiyonu ve nefrotik sendrom gibi COVID-19 enfeksiyonu dışı nedenlerle olduğu belirlenmiştir. EG.5 varyantının hastaneye yatış üzerinde anlamlı bir etkisi saptanmamıştır. Dolayısıyla bu çalışma, EG.5'in artan COVID-19 enfeksiyonlarında ve ölümlerde rolü olmadığını belirten başka çalışmalarla uyumludur^{3,5}. Scarpa ve arkadaşlarının çalışmasında²³, EG.5 ve onun ilk soyundan gelen EG.5.1 soylarının genetik değişkenliğinin zaman içinde çok az ve hafif dalgalanmalar sergilediği ve bunun da viral popülasyon boyutunun genişlemesine ve daralmasına neden olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte, bu dalgalanmalar salgın olaylarıyla örtüşmemiş ve yalnızca enfeksiyonlardaki sınırlı artışları yansıtmıştır. Viral popülasyon büyüklüğünün, 2023 yılı Temmuz ayının ikinci yarısında artmaya başlayan vaka sayısı ile tutarlı olmadığı tespit edilmiştir³.

Bu çalışmada, hastaların hastaneye başvuru semptomları irdelendiğinde ateş, öksürük, boğaz ağrısı, halsizlik/yorgunluk gibi hafif solunum yolu enfeksiyonu bulguları olduğu gözlemlenmiştir. Bu klinik özellikler, EG.5 varyantının daha az ciddi hastalığa neden olabileceği yönündeki son bulgularla tutarlıdır. Hastalığın ciddiyeti düşük olsa da doğrulanan toplam vaka sayısının artması durumunda ciddi veya kritik vakaların mutlak sayısı önemli olabilir. Klinik spektrumdaki değişikliklerin ve yeni varyantların doğasının ve bunların mevcut COVID-19 salgını üzerindeki etkilerinin zamanında tanımlanması, uygun karşı önlemlerin gözden geçirilmesi ve yeni sağlık politikalarının belirlenmesi açısından da gereklidir²⁴.

Kaliteli sekans verisi elde edilebilen örnek sayısının kısıtlı olması ve hastaların aşı bilgilerine ulaşılamaması çalışmanın kısıtlayıcı yanlarını oluşturmaktadır. Bununla birlikte bu çalışma, SARS-CoV-2'nin ülkemize ait moleküler epidemiyolojik verilerine katkı sağlamakta, EG.5 varyantı ve bu varyantın ön plana çıktığı dönemdeki diğer varyantların klinik özellikleri hakkında fikir vermektedir.

Sonuç olarak, SARS-CoV-2'nin davranışı doğal bir evrimsel seyir izlemektedir. SARS-CoV-2'nin yeni varyantları, nötralize edici antikorlardan kaçarak daha yüksek bulaşıcılık gösterdiğinden, aynı zamanda daha az ciddi hastalıklara neden olabilirler ve bu durum, daha uzak bir gelecekte bu patojenle normalleştirilmiş bir birlikte yaşama olasılığını sağlayabilir. Ayrıca COVID-19 pandemisinde yaşanan süreçler göstermiştir ki, gelecekteki salgınları erken dönemde tespit ederek hızlı yanıt verebilmek için küresel ölçekte kurulacak olan güçlendirilmiş genomik analiz kapasiteleri; patojenlerin evriminin ve dolaşımının daha iyi anlaşılacak klinik, epidemiyolojik ve diğer çok kaynaklı verilerle birlikte değerlendirilip, pandemik ve epidemik potansiyeli olan patojenlere yönelik risk değerlendirmelerinin yapılmasını sağlayacaktır. Böylelikle aşıların, terapötiklerin, tanısal analizlerin geliştirilmesine temel oluşturacak genomik süveyans sistemleri ile halk sağlığı önlemleri şekillenecektir.

ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışma için Ankara Bilkent Şehir Hastanesi 2 Nolu Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan onay alınmıştır (Karar No: E2-23-5886 ve Tarih: 27.12.2023).

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Groza C, Totschnig D, Wenisch C, Atamaniuk J, Zoufaly A. A retrospective analysis of clinical features of patients hospitalized with SARS-CoV-2 omicron variants BA.1 and BA.2. *Sci Rep* 2023; 13(1): 7896. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-34712-9>
2. Kali A. Unveiling the eris subvariant: The next challenge in the COVID-19 pandemic? *J Lab Physicians* 2023; 16(1): 140-1. <https://doi.org/10.1055/s-0043-1774410>
3. Scarpa F, Pascarella S, Ciccozzi A, Giovanetti M, Azzena I, Locci C, et al. Genetic and structural analyses reveal the low potential of the SARS-CoV-2 EG.5 variant. *J Med Virol* 2023; 95(9): e29075. <https://doi.org/10.1002/jmv.29075>

4. Parums DV. Editorial: A rapid global increase in COVID-19 is due to the emergence of the EG.5 (Eris) subvariant of omicron SARS-CoV-2. *Med Sci Monit* 2023; 29: e942244. <https://doi.org/10.12659/MSM.942244>
5. Yadav S, Zaman K, Bashyal P, Bhatta R, Bhandari S, Mohanty A, et al. Newer emerging SARS-CoV2 variant: Omicron EG.5. *Ann Med Surg (Lond)* 2023; 85(12): 5845-6. <https://doi.org/10.1097/MS9.0000000000001386>
6. Markov PV, Ghafari M, Beer M, Lythgoe K, Simmonds P, Stilianakis NI, et al. The evolution of SARS-CoV-2. *Nat Rev Microbiol* 2023; 21(6): 361-79. <https://doi.org/10.1038/s41579-023-00878-2>
7. World Health Organization (WHO). Weekly epidemiological update on COVID-19 - 3 August 2023. Erişim adresi: <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19---3-august-2023> (Erişim Tarihi: 11.02.2024).
8. Huo D, Yu T, Shen Y, Pan Y, Li F, Cui S, et al. A comparison of clinical characteristics of infections with SARS-CoV-2 omicron subvariants BF.7.14 and BA.5.2.48 - China, October-December 2022. *China CDC Wkly* 2023; 5(23): 511-5. <https://doi.org/10.46234/ccdcw2023.096>
9. WHO Working Group on the Clinical Characterisation and Management of COVID-19 infection. A minimal common outcome measure set for COVID-19 clinical research [published correction appears in *Lancet Infect Dis*. 2020 Oct; 20(10): e250]. *Lancet Infect Dis* 2020; 20(8): e192-e7.
10. Mendiola-Pastrana IR, López-Ortiz E, Río de la Loza-Zamora JG, González J, Gómez-García A, López-Ortiz G. SARS-CoV-2 variants and clinical outcomes: A systematic review. *Life (Basel)* 2022; 12(2): 170. <https://doi.org/10.3390/life12020170>
11. Esmaeilzadeh A, Ebrahimi F, Jahani Maleki A, Siahmansouri A. EG.5 (Eris) and BA.2.86 (Pirola) two new subvariants of SARS-CoV-2: A new face of old COVID-19. *Infection* 2024; 52(2): 337-43. <https://doi.org/10.1007/s15010-023-02146-0>
12. Esper FP, Adhikari TM, Tu ZJ, Cheng YW, El-Haddad K, Farkas DH, et al. Alpha to omicron: Disease severity and clinical outcomes of major SARS-CoV-2 variants. *J Infect Dis* 2023; 227(3): 344-52. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiac411>
13. Chen J, Wang R, Gilby NB, Wei GW. Omicron variant (B.1.1.529): Infectivity, vaccine breakthrough, and antibody resistance. *J Chem Inf Model* 2022; 62(2): 412-22. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.1c01451>
14. Abdullah F, Myers J, Basu D, Tintinger G, Ueckermann V, Mathebula M, et al. Decreased severity of disease during the first global omicron variant COVID-19 outbreak in a large hospital in Tshwane, South Africa. *Int J Infect Dis* 2022; 116: 38-42. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2021.12.357>
15. Bentley EG, Kirby A, Sharma P, Kipar A, Mega DF, Bramwell C, et al. SARS-CoV-2 omicron-B.1.1.529 variant leads to less severe disease than Pango B and Delta variants strains in a mouse model of severe COVID-19. *bioRxiv*.
16. McMahan K, Giffin V, Tostanoski LH, Chung B, Siamatu M, Suthar MS, et al. Reduced pathogenicity of the SARS-CoV-2 omicron variant in hamsters. *Med* 2022; 3(4): 262-8.e4. <https://doi.org/10.1016/j.medj.2022.03.004>
17. Meng B, Abdullahi A, Ferreira IATM, Goonawardane N, Saito A, Kimura I, et al. Altered TMPRSS2 usage by SARS-CoV-2 omicron impacts infectivity and fusogenicity. *Nature* 2022; 603(7902): 706-14. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04474-x>
18. Patone M, Thomas K, Hatch R, Tan PS, Coupland C, Liao W, et al. Mortality and critical care unit admission associated with the SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 in England: An observational cohort study. *Lancet Infect Dis* 2021; 21(11): 1518-28. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(21\)00318-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(21)00318-2)
19. Lin L, Liu Y, Tang X, He D. The disease severity and clinical outcomes of the SARS-CoV-2 variants of concern. *Front Public Health* 2021; 9: 775224. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2021.775224>
20. Girma A. The many mutations of the COVID-19 variant: Current perspectives on EG.5/Eris. *Environ Health Insights* 2023; 17: 11786302231217805. <https://doi.org/10.1177/11786302231217805>
21. Esmaeilzadeh A, Ebrahimi F, Jahani Maleki A, Siahmansouri A. EG.5 (Eris) and BA.2.86 (Pirola) two new subvariants of SARS-CoV-2: A new face of old COVID-19 [published correction appears in *Infection*. 2024]. *Infection* 2024; 52(2): 337-43. <https://doi.org/10.1007/s15010-023-02146-0>

22. Zhang X, Lam SJ, Ip JD, Fong CHY, Chu AWH, Chan WM, et al. Characterizing fitness and immune escape of SARS-CoV-2 EG.5 sublineage using elderly serum and nasal organoid. *iScience* 2024; 27(5): 109706. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2024.109706>
23. Scarpa F, Sanna D, Azzena I, Casu M, Cossu P, Fiori PL, et al. Genome-based comparison between the recombinant SARS-CoV-2 XBB and its parental lineages. *J Med Virol* 2023; 95(3): e28625. <https://doi.org/10.1002/jmv.28625>
24. Kim MK, Lee B, Choi YY, Um J, Lee KS, Sung HK, et al. Clinical characteristics of 40 patients infected with the SARS-CoV-2 omicron variant in Korea. *J Korean Med Sci* 2022; 37(3): e31. <https://doi.org/10.3346/jkms.2022.37.e31>