



2020 Yılına Damgasını Vuran Pandemi: COVID-19'a (SARSCoV-2) Genel Bir Bakış

Pandemic Deeply Affected 2020: A General Perspective into COVID-19 (SARSCoV-2)

Fatma KALAYCI YÜKSEK¹, Defne GÜMÜŞ

FKY: [0000-0002-0028-5646](#) DG: [0000-0003-4070-6924](#)

¹ İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD., İstanbul-Türkiye

² İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD., İstanbul-Türkiye

Öz

Coronavirus hastalığı 2019 (COVID-19), SARS-CoV-2 olarak isimlendirilen yeni koronavirüsün etken olduğu, Çin'den yayılan ve tüm dünyada dikkatleri üzerine çeken bir enfeksiyon hastalığıdır. COVID-19 tüm dünya genelinde neredeyse 219 ülkeye hızla yayılarak pandemi özelliği edinmiştir. Yarasalar rezervuar olarak tanımlanmaktadır ve olası ara konaklar hala araştırılmaktadır. Virus asemptomatik enfeksiyonlardan, şiddetli pnömöni, akut solunum yetmezliği sendromu, sitokin fırtınası ve ölümlü sonuçlanan letal tablo ile ilişkilidir. Hastalığın ölümcül şeklinin yaşlılık, immün yetersizlik ve kronik hastalıkların varlığı ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir. Şu ana değin COVID-19'a karşı klinik olarak onaylanmış özel bir ilaç yoktur ve onaylı aşılar ulaşım da sınırlı düzeydedir. Bu derlemede SARS-CoV-2'nin genel özellikleri, sınıflandırılması, epidemiyolojisi, patogenezi, tanı ve tedavi yöntemleri ile virusa karşı korunma stratejilerine ilişkin bilgiler verilmiştir.

Anahtar sözcükler: COVID-19, pandemi, koronavirüsler, epidemiyoloji, SARS-CoV-2

Abstract

The coronavirus disease 2019 (COVID-19), caused by a novel coronavirus which is named SARS-CoV-2, is an infection disease, got spread throughout China and has great attention from all worldwide. COVID-19 gained a pandemic characteristic by spreading rapidly all over the world, nearly 219 countries. Bats are known as reservoir hosts and the probable intermediate host(s) is still investigating. The symptoms range from asymptomatic infections to lethal manifestation of the virus which is associated with severe pneumonia, acute respiratory distress syndrome, cytokine storm, and fatality. The fatal form of the disease is reported to be associated with populations who are elderly, having immune-comprised conditions, and pre-existing chronic diseases. To date, there is no clinically approved specific drug against COVID-19 and vaccinated populations are limited. In this review, information about general characteristics, classification, transmission routes, epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment of SARS-CoV-2, and control-prevention strategies against to virus are provided.

Keywords: COVID-19, pandemic, coronaviruses, epidemiology, SARS-CoV-2

1. Giriş

Geçmişten günümüze değin insanlık birçok salgın hastalığa karşı mücadele etmiş, çok yüksek sayılara ulaşan can kayıpları vermiştir. Veba, çiçek kolera, İspanyol gribi, sarıhumma, SARS, kuş gribi, MERS, Ebola gibi salgın hastalıklar bazen belirli coğrafyalarla sınırlı kalarak epidemiler şeklinde görülmüş bazen de kıtalararasında yayılarak pandemilere dönüşmüştür. Aslında bizler günlük hayatlarımızı sürdürürken

dünyanın belirli yerlerinde HIV/AIDS, verem, sıtma gibi enfeksiyon hastalıkları çok sayıda insanı etkilemeye devam etmektedir.

Bugün yaşadığımız pandeminin başlangıcına bakıldığında, Çin sağlık otoritelerinin 31 Aralık 2019'da Dünya Sağlık Örgütü'nü (DSÖ) bir virüs hakkında uyardığı ve ardından tüm dünyayı etkisi altına alan; sağlık, iş, öğrenim ve sosyal hayat dinamiklerini

kökten etkileyen bir salgının ortaya çıktığı bilinmektedir. Virüsün ortaya çıkışında Wuhan kentinde bulunan deniz ürünleri ve canlı yaban hayvanlarının satıldığı bir pazarın kaynak olduğu bildirilmiştir (1, 2). Başlangıçta insanlarda pnömoni benzeri bir klinik tabloya yol açtığı bildirilen virüs, 12 Ocak 2020'de DSÖ tarafından "2019-yeni koronavirus (2019- novel coronavirus:2019-nCoV)" olarak isimlendirilmiştir. Çin'de vaka sayılarında görülen artışla beraber 30 Ocak 2020'de DSÖ hastalığı "uluslararası halk sağlığına yönelik endişe verici acil durum" olarak duyurmuştur (3, 4). Ardından, virüsün genomik analizlerinin yapılmasının sonucunda Uluslararası Virüs Sınıflandırma Komitesi SARS koronavirusüne çok yüksek oranda benzerlikler göstermesinden dolayı taksonomik olarak isminin "severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2)" olmasını önermiş; oluşturduğu hastalık da DSÖ tarafından "koronavirus hastalığı 2019 (COVID-19)" olarak ilan edilmiştir (3, 5). Bu derlemede SARS-CoV-2'nin genel özellikleri, sınıflandırılması, bulaşma yolları, dünyadaki dağılımı, patogenezi, tanı, tedavi ve korunma yöntemlerine değinilmiştir.

2. Koronavirüslerin sınıflandırılması, yapısal özellikleri, genomu, replikasyonu

Koronavirüsler, zarflı, tek zincirli, pozitif polariteli en büyük RNA virüsleridir. Yaklaşık 30 kb'lık genomlarında toplam 27 protein kodlanır (6-8). Morfolojik olarak pleomorfik ya da yuvarlak partiküller şeklinde, yaklaşık 150-160 nm boyutundadırlar. Yüzeylerinde taşıdıkları dikenimsi çıkıntılar (spike) ile taç yapısına benzetildiğinden latince taç anlamına gelen "Corona" olarak adlandırılmışlardır (9-11). Virüs, in-vitro koşullarda kuru ortamlarda 48 saat canlı kalabilirken, 20 °C'nin altında %50 nem içeren ortamlarda beş gün kadar canlı kalabilir. Sıcaklık 56 °C'ye çıktığında ancak 30 dakika canlı kalabilirken, lipid çözücü dezenfektanlara (eter, %75 etanol, kloroform, perasetik asit vb.) ve %0,1 sodyum hipoklorite duyarlı olduğu bildirilmiştir (7, 12).

Coronaviridae ailesi Torovirinae ve Coronavirinae olmak üzere iki alt aileye ayrılmaktadır. Coronavirinae grubunda yer alan etkenler Alfacoronavirus, Betacoronavirus, Gammacoronavirus ve Deltacoronavirus olmak üzere dört cinse ayrılmaktadır. Bunlar arasında Alfa ve Beta cinslerinde yer alan etkenler insan-

ları ve diğer memelileri enfekte ederken; Gamakoronavirüsler balina ve kuşları, Deltakoronavirüsler ise domuz ve kuşları enfekte etmektedir (1, 6, 7, 13). Günümüze kadar insanları enfekte eden yedi farklı koronavirus türü belirlenmiştir. Bunların dördü (HCoV 229E, NL63, HCoV-OC43 ve HCoV-HKU1) tüm dünyada endemik olarak bulunmakta ve üst solunum yolu enfeksiyonlarına yol açmaktadır. Ancak Betakoronavirus cinsinde yer alan SARS-CoV, MERS-CoV ve SARS-CoV-2 (COVID-19) türleri ölümle sonuçlanabilen şiddetli alt solunum yolu enfeksiyonlarına ve akut solunum yetmezliği sendromuna (ARDS) yol açmaktadır (1, 6, 13).

SARS-CoV-2 türünün tüm genom sekans analizi incelendiğinde, yarası koronavirusu BatCoVraTG13 suşu ile %96,2 oranında benzer olduğu görülmüş (7, 14); 2018'de Çin'in doğusunda saptanan iki yarası kökenli SARS-benzeri koronavirus suşu ile de yaklaşık %88 oranında benzerlik taşıdığı saptanmıştır. Bunların yanı sıra SARS-CoV ile %80, MERS-CoV ile %50 oranında benzer yapıda olduğu da bilinmektedir (15). Yarasaların SARS-CoV ve MERS-CoV'da olduğu gibi, SARS-CoV-2 için de doğal rezervuar oldukları ve yarasadan insana geçiş sırasında misk kedileri ve develerin sırasıyla SARS-CoV ve MERS-CoV için ara konak olarak rol oynadıkları bilinmektedir. SARS-CoV-2'nin de yarasalardan insana direkt bulaşmadığı, bulaşmada bir ara konağın rol oynadığı düşünülmektedir (1, 7, 14). Bu geçişte özellikle yılan, kaplumbağa ve pangolin gibi canlıların etkili ara konaklar olabilecekleri düşünülmektedir (14, 16, 17). Bu görüşü destekleyen çalışmaların çıkış noktası salgının başladığı markette yarası satışının yapılmaması ve yarası koronavirusları olan akrabaları ile SARS-CoV-2'nin genomu arasındaki benzerliğin %90'ın altında olmasıdır (1). Tang ve ark, 103 SARS-CoV-2 suşu ile yaptıkları popülasyon genetiği analizi sonucunda L tipi (%70) ve S tipi (%30) olmak üzere iki baskın suş olduğunu belirlemişlerdir. L tipinde yer alan suşların daha agresif ve bulaşıcılığının daha yüksek olduğu ifade edilmiştir (18).

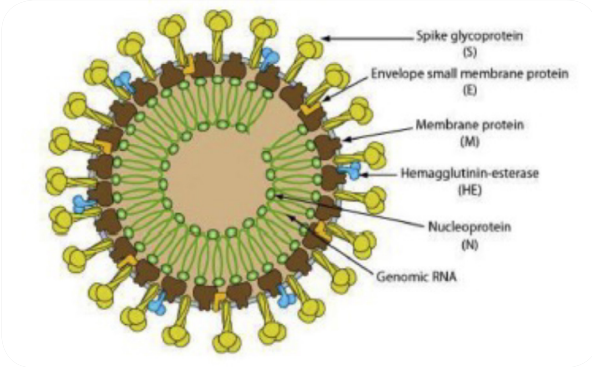
SARS-CoV-2 genomunun 5' (cap yapısı) ve 3' (poliA kuyruğu) uçlarında iki translasyona uğramayan bölge bulunmaktadır. Bu iki bölge arasında 8-10 açık okuma bölgesi (ORFs) bulunmaktadır. Virüs genomunun üçte ikisini oluşturan ORF1a ve ORF1b poliprotein şeklindeki pp1a ve pp1ab proteinlerini

kodlar. Translasyon sonrasında virüs proteaz enzimi ile kesilerek 16 yapısal olmayan proteine dönüştürülür ki bunların arasında RNA'ya bağımlı RNA polimeraz (RdRP) enzimi de vardır. Geri kalan kısmı ise, aksesuar proteinler ve yapısal proteinleri kodlamaktadır. (6, 14, 19).

Konak hücreye penetrasyonun ardından translasyon sonucunda iki poliprotein (pp1a ve pp1ab) sentezlenir. RdRP ile negatif iplik kalıp olarak kullanılarak pozitif polariteli RNA genomunun sentezi gerçekleşir. Yeni sentezlenen virüs RNA'sı nükleokapsit proteinleri ve zarf glikoproteinleri ile birleşerek viryon yapısını oluşturur. Replikasyonun tamamlanmasının ardından yeni sentezlenen virüs partikülleri tomurcuklanarak konak hücreyi terk eder (14, 19, 20).

Virüsün yapısal proteinlerini kodlayan genler:

- Diken (spike-S)
- Zarf (E)
- Membran (M)
- Nükleokapsit (N) şeklinde genomda organize olmaktadır (Şekil 1).



Şekil 1. SARS-CoV-2'nin şematik görünümü (20).

Aksesuar proteinleri (ORF3a, ORF7, ORF8) kodlayan genler de, yapısal proteinleri kodlayan genlerin arasında konumlanmıştır (6, 9, 20). S glikoproteini konak hücre reseptörü ile bağlanma ve membran füzyonundan sorumludur. Dolayısı ile virüsün konak tropizmini ve bulaşıcılığını belirler; SARS-CoV ile %75 oranında benzerlik göstermektedir; diğer yapısal proteinler daha yüksek oranda benzerlik göstermektedir ki bunlar RNA soyulması, zarf oluşumu, tomurcuklanma ve patogeneze sorumludurlar (6, 8, 14).

SARS-CoV-2 konak hücrelerdeki anjiyotensin dönüştürücü enzim 2 (ACE2) reseptörü ile bağlantı kurarak enfeksiyonu başlatır. İnsanlarda hemen hemen tüm organlarda (arteriyel ve venöz endotel hücreleri, mide, bağırsak, kolon, deri, lenf bezleri, karaciğer, böbrek hücreleri, akciğer alveolar epitel hücreleri ve enterositler) ACE2 mRNA'sının bulunduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (6-9). S proteini iki alt birimden oluşur (S1 ve S2). Konak hücre membranındaki serin proteaz 2 ve katepsin ile parçalanmasının ardından S1 ACE2'ye bağlanmayı sağlarken, S2 hücre membranı ile füzyondan sorumludur. S1'in reseptör bağlayan bölgesi (RBD) SARS-CoV-2'nin farklı suşlarında yüksek oranda korunmuştur (6, 21, 22). Her ne kadar çeşitli çalışmalar SARS-CoV'un ACE2'ye afinitesinin daha yüksek olduğunu bildirirse de (7) bunun aksi yönünde görüş bildiren çeşitli çalışmalar da bulunmaktadır. Wrapp ve ark. kriyo elektron mikroskopu çalışmalarında SARS-CoV-2'nin ACE2 reseptörüne 10-20 kat daha iyi tutunduğunu göstermişlerdir (23).

Virüs N proteini SARS-CoV antikorları ile çapraz reaksiyon verse de bu antikorların enfeksiyondan korunmayı sağlamadığı anlaşılmıştır (9). İnfeksiyon patogenezinde çok önemli rolü olduğu bilinen ve bir RNA bağlayan protein olan N proteini, replikasyon sırasında RNA genomunun paketlenmesi için helikal ribonükleoproteinlerin oluşumundan sorumludur. In-vivo ve in-vitro çalışmalarla konak hücrede aktin reorganizasyonu ve apoptoz gibi mekanizmaları da düzenlemektedir. Bunların yanı sıra yeni tedavi protokollerinin belirlenmesi için uygun bir hedef olabileceği de düşünülmektedir (24, 25). Ayrıca SARS-CoV-2 türünde diğer koronavirüslerden farklı olarak asetil esteraz ve hemagglütinin glikoproteinleri de bulunmaktadır (9, 20).

3. Bulaşma yolları

Tüm dünyanın Ocak ve Şubat aylarında gözünü Çin'e diktiği, vaka ve ölüm sayılarının gün be gün artışını izlediği koronavirüs salgınının en önemli sorusu nasıl ortaya çıktığı ve virüsün hangi yollarla bulaştığı olmuştur. Nedeni bilinmeyen akut solunum yolu enfeksiyonları olarak ortaya çıkan salgının 12 Aralık 2019'da Çin'in Wuhan şehrinde deniz ürünleri, kümes hayvanları ve çeşitli yaban hayvanlarının satışının yapıldığı bir pazardan kaynaklandığı ileri sürülmüştür. Birçok çalışma, SARS-CoV-2'nin potansiyel rezervuarının yabani hayvanlar ve özellikle de yarasalar olduğunu bildirmiştir (6,

11, 26, 27). Daha önce de bahsedildiği üzere yarasalar, 30'dan fazla koronavirüs tipi için rezervuardır; SARS ve MERS koronavirüslerinde da yarasalar en önemli rezervuar iken, insana bulaşmada misk kedileri ve develer rol oynamıştır. DSÖ'ye göre söz konusu pazar- dan alınan çevresel örnekler SARS-CoV- 2 açısından pozitif bulunmuştur (28). Protein sekans dizilemeleri ve filogenetik analizler kaplumbağaların, pangolinlerin ve yılanların da muhtemel ara konaklar olabile- celerini göstermiştir (14, 29).

Çin'deki vakalar arasında Huanan deniz ürünleri pa- zarında bulunma oranı %8,7-66 olarak bildirilmiştir (6, 26, 27, 30). Bazı hastaların ve sağlık çalışanları- nın söz konusu marketle temas öyküsünün olmayışı, öksürme ve hapsirme sonucunda ortaya çıkan dam- lacıkların veya direkt temasın insandan insana bulaş- mada etkili olduğunu göstermiştir (1, 27, 28, 31, 32). Özellikle damlacıkların yerleştiği kontamine yüzeyle- re ellerle temas, yüze, gözlere veya buruna dokunmak bulaşmanın gerçekleşmesinde en etkili yollardandır. İnsandan insana SARS-CoV-2 bulaşmasının temel olarak hasta veya taşıyıcı bireylerin aile bireyleri veya yakın çevreleri ile teması sonucunda gerçekleştiği bi- linmektedir. Bununla ilişkili olarak ilk bildirilen bul- gulara hastaların %31,3'ünün Wuhan'a seyahat etti- ği ve Wuhan yerlisi olmayan hastalar arasında Wu- han'dan insanlarla temas edenlerin oranının % 72,3 olduğu ifade edilmiştir (14, 33). Ara konak olan hay- vanlarla temas ya da yabancı hayvanların tüketiminin de bulaşmanın diğer bir önemli yolunu oluşturduğu düşünülmektedir (14).

Tüm bunlara ilave olarak bazı çalışmalarda dışkı ile SARS-CoV-2'nin çıkarılabildiği ve hasta idrarından virüs izolasyonunun sağlandığı da bildirilmiştir (6, 13, 27, 34). Şu ana kadar yapılan çalışmalarda hamile- lerde vertikal yolla bulaşma sonucunda meydana gel- miş bir intrauterin enfeksiyondan bahsedilmemiştir (1, 13, 27).

Bir konağın enfekte edebileceği kişi sayısını tanımla- yan “ R_0 ” veya “ R naught” değeri matematiksel olarak virüsün bulaşıcılığını belirlemektedir. Eğer virüsün R_0 değeri <1 ise, hastalık popülasyondan silinecek; ancak R_0 değeri >1 ise insanlar arasında yayılacak an- lamına gelmektedir. DSÖ'ne göre SARS-CoV-2'nin R_0 değeri nüfusa bağlı olarak 1,4-2,5 arasında iken, diğer çalışmalarda 2,2-3,5 arasında bildirilmiştir (35, 36). Bu sayı mevsimsel gripten daha yüksek ($R_0= 1,1-2,3$)

olarak tanımlanmaktadır ki bu da halk sağlığı ön- lemleri uygulanmadığı ve sürdürülmediği sürece bir popülasyonda insandan insana bulaşma potansiyeli- nin yüksek olduğunun önemli bir göstergesi olarak ifade edilmektedir.

Mevcut bilgilerle koronavirüsün bulaşmasında etkili faktörlerin bir özetini yapacak olursak virüs dışında iki temel değişkenin rolü öne çıkmaktadır: çevresel parametreler ve insan davranışları (35). Özellikle or- tama ait sıcaklık, nem, güneş ışığı / D vitamini var- lığı, hava sirkülasyonu gibi koşullar ile aerolizasyon, damlacık ve doğrudan temas koşullarının sağlanma- sı ile konağa ait bağışıklık sistemine ilişkin faktörler enfeksiyonun ortaya çıkışında önemlidir (35, 37, 38).

4. Epidemiyoloji

SARS-CoV-2'nin oldukça enfeksiyöz bir virüs oldu- ğu ve havada iki saat canlı kalabildiği bildirilmiştir. Her yaş grubundan insan enfeksiyona duyarlı olma- sına rağmen altta yatan hastalıkları olan yaşlı birey- lerin daha yüksek risk altında oldukları ifade edil- miştir. Asemptomatik bireylerin ve inkübasyon pe- riyodundaki vakaların taşıyıcı olarak rol oynadıkları rapor edilmiştir (39).

SARS-CoV-2 enfeksiyon insidansının en yaygın ortalama 34-59 yaşları arasında olan erişkin erkek hastalarda görüldüğü bildirilmiştir. Şiddetli vakala- rın büyük bölümünün ≥ 60 yaş yetişkinlerde, kardi- yovasküler ve serebrovasküler hastalıklar ile diyabet gibi altta yatan bazı kronik hastalıkları olanlarda görüldüğü belirtilmiştir. Bununla ilişkili olarak, alt- ta yatan bir veya daha fazla hastalığı olan kişilerde (hipertansiyon, diyabet, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, kardiyovasküler hastalık ve malignensiler) SARS-CoV-2 görülme oranının ortalama %25,2-50 olduğu ifade edilmiştir. Şiddetli tabloların özellikle bakteri ve mantarların ko-enfeksiyonlarıyla ilişki- li olabileceği de gösterilmiştir. 15 yaşından küçük çocuklarda daha az COVID-19 vakası bildirildi- ği dikkati çeken önemli bir bilgidir. Wuhan'dan 29 Ocak tarihli 425 COVID-19 hastası üzerinde yapı- lan analize göre, 15 yaşın altındaki çocuklarda vaka bildirilmemiştir. Bununla birlikte, daha sonra Ocak 2020'ye kadar 28 çocuk hasta bildirim yapılmıştır. Enfekte pediatrik hastaların klinik özelliklerinin değişken olduğu; çoğunda ateş veya zatürree olma- dan hafif semptomlar görüldüğü ve iyi bir prognoza

sahip oldukları belirtilmiştir. Bir başka çalışmada, bir çocuğun radyolojik bulgularında buzlu cam opasiteleri olmasına rağmen, hastanın asemptomatik olduğu ifade edilmiştir. Özetle, çocukların enfekte olma olasılığı daha düşük olarak rapor edilmiş; enfekte olurlarsa da yetişkinlerden daha hafif belirtiler gösterdikleri belirtilmiştir. Hastalığın inkübasyon süresine ilişkin bilgilere bakıldığında bu sürenin ortalama 2-14 gün arasında olduğu öngörülmüştür. Wuhan'da yapılan 425 vakalık ilk bildirimde göre ortalama inkübasyon süresi 5,2 gün olarak bildirilmiştir (40).

İlk vakaların tanımlandığı günden bu yana yani bir yılı aşkın sürede Ocak 2021 itibari ile DSÖ'nün bildirdiği verilere göre, 219 ülkede toplam 93.956.883 kişi enfekte olarak doğrulanmış, 2.029.084 kişi ise hayatını kaybetmiştir. Vakaların coğrafik dağılımı incelendiğinde, sırasıyla vaka yükünün en yüksek olduğu bölgeler Amerika, Avrupa, Güney Doğu Asya, Doğu Akdeniz, Afrika ve Batı Pasifik olarak bildirilmektedir. Vaka sayılarının en yüksek olduğu ülkeler sırasıyla Amerika Birleşik Devletleri, Hindistan, Brezilya, Rusya ve Birleşik Krallık olarak sıralanmaktadır (23.556.676-3.395.963). Avrupa'daki vaka yükleri sırayla, İngiltere, Fransa, İtalya, İspanya ve Almanya'da yoğunlaşmıştır. Ülkemizdeki doğrulanmış vaka sayısı ise 1.572.763 olarak DSÖ kayıtlarında yer almaktadır. Orta Doğu coğrafyasından COVID-19 hastalığından en çok etkilenen komşumuz İran vaka sayısını 1.336.217 olarak bildirmiştir (vaka sayıları 19 Ocak 2021 tarihli bildirimler temel alınarak sunulmuştur).

Tablo1. Avrupa'da doğrulanmış vaka sayıları

Ülkeler	Vaka Sayıları
İngiltere	3.395.963
Fransa	2.863.613
İtalya	2.381.277
İspanya	2.211.967
Almanya	2.040.659

5. Patogenez ve immünite

Koronavirüs ailesinin diğer üyeleri gibi beta-koronavirüsler de türe özgü özellikler taşımakla birlikte bazı ufak genetik değişimlerle doku tropizmlerini, konak

çeşitliliklerini ve patojenitelerini önemli ölçüde değiştirebilirler. Bu değişimin çarpıcı bir örneği SARS-CoV ve MERS-CoV'ların etken olduğu zoonotik hastalıkların insanlarda ortaya çıkışıdır. Daha önce de değinildiği gibi her iki virüsün doğal rezervuarı yarasalardır ve insan son konak olarak etkilenirken; sırasıyla palmiye misk kedisi ve tek hörgüçlü deve ara konaklar olmuşlardır. Ara konakların türler arasındaki bulaşmada yeni bir konak ile virüs arasında temasın artmasını kolaylaştırabildiği ve yeni konakta etkili bir replikasyon için daha fazla adaptasyonu mümkün kılabilirdikleri için kritik rol oynadıkları düşünülmektedir.

Virüsün enfekte edebildiği konak çeşitliliği reseptör etkileşimlerinin de dahil olduğu birçok moleküler düzeydeki etkileşimle belirlenmektedir. SARS-CoV-2'nin dikenimsi zarf yüzey (S) proteininin reseptör bağlanma bölgesinin bazı rezidülerindeki aminoasit varyasyonlarına rağmen yapısal olarak SARS-CoV'a benzediği bilinmektedir. Replikasyon bölümünde bahsedildiği üzere yapılan ileri analizler SARS-CoV-2'nin tıpkı SARS-CoV gibi hücre içine girmek için "anjiotensin-dönüştürücü enzim-2 (ACE2)"yi konak reseptörü olarak kullanabildiğini ortaya koymuştur. Zhou ve ark. (2020) bir COVID-19 hastasının bronkoalveoler lavaj sıvısından yaptıkları incelemede, SARS-CoV-2'nin SARS-CoV ile aynı hücresel giriş reseptörü olarak ACE2'yi kullandığını doğrulamıştır (14). SARS-CoV aynı reseptöre bağlanarak solunum yolu epitel hücreleri, alveoler tip 2 (AT2) pnömositleri ve pulmoner sürfaktanı sentezleyen akciğer hücrelerine (alveolar tip II hücreleri) tutunurken, SARS-CoV-2'nin bu reseptöre bağlanmada daha etkili olduğu ileri sürülmüştür (14, 32). Yapılan çalışmalarda, ACE2'nin solunum yolu epitelinde ve alveoler tip II hücrelerinde bol miktarda bulunmasının COVID-19'da görülen akut solunum yetmezliği sendromu ve şiddetli akciğer hasarından sorumlu olabileceğini düşündürmektedir. Virüsün hücreye girişi ile ilgili mekanizmalar üzerine yapılan araştırmalar, koronavirüs yüzeyinde bulunan S glikoproteininin, insan hücrelerinin yüzeyinde bulunan ACE2 reseptörüne bağlanmasının ardından akciğerlerde bir enflamasyon kaskadının tetiklendiğini bildirmektedir.

Ayrıca bir ön çalışmada hücre girişinin sadece S proteini aracılı ACE2'ye bağlı olmadığı, aynı zamanda konak hücredeki serin proteaz TMPRSS2 ile de mümkün olduğu bildirilmiştir (32). Bununla ilişkili olarak bir TMPRSS2 inhibitörü olan camostat mesilat'ın SARS-

CoV-2 ile enfekte edilen akciğer hücre kültüründe enfeksiyonu önemli ölçüde azalttığı ve COVID-19 tedavisi için kullanılabilirliği de ileri sürülmüştür. Bunlara ilave olarak, SARS-CoV-2'deki heptad tekrarı 1 (HR1) ve heptad tekrarı 2 (HR2) virüs ve hücre zarı füzyonunda rol oynamaktadır (32). Xia ve ark (2019) HR2'den türetilmiş peptitlerin (HR2P) ve modifiye edilmiş bir OC43-HR2P peptidinin (EK1) SARS-CoV-2'ye karşı füzyon inhibe edici özellik gösterdiklerini ve SARS-CoV-2 enfeksiyonunun tedavisinde füzyon / giriş inhibitörleri olarak rol oynayabileceğini ileri sürmüşlerdir (32,41).

Kuşkusuz SARS-CoV-2 konak doğal bağışıklık sisteminden kurtulabilmeli veya etkisini ortadan kaldıracıdır. Ancak, bunu nasıl başardığı, immün yanıtı nasıl kaçtığı ve patogenezi nasıl yönettiği henüz tam olarak bilinmemektedir. COVID-19 SARS ile benzer klinik özelliklere sahip olduğundan SARS-CoV-2'nin SARS-CoV'a benzer bir patogeneze sahip olabileceği ileri sürülmüştür. Buna göre de, SARS-CoV enfeksiyonlarındaki sürecin incelenmesinin SARS-CoV-2 patogenezinin anlaşılmasında yararlı olacağı ileri sürülmüştür. SARS-CoV replikasyonunu inhibe etmek için tip I interferon (IFN) sistemi ile uyarılan genlerin (ISG'ler) ekspresyonu indüklenir. Oluşan bu anti-viral aktivitenin üstesinden gelmek için, SARS-CoV en az 8 virüs antagonisti kodlar; bunlar IFN ve sitokinlerin indüklenmesini ve ISG efektör fonksiyonundan kurtulmayı düzenleyici özelliktedir. Ancak virüsün kontrolsüz replikasyonu sonucunda antiviral etkinlikteki IFN yanıtının da baskılanabileceği ileri sürülmüştür (42).

Virüsün konak hücre membranı ile füzyonunun ardından antijen sunumu başlar. Antijen sunumunun iki fonksiyonu vardır: Bunlar, yabancı antijenleri CD4+ T yardımcı (Th1) lenfositlerine sunmak ve interlökin (IL-12) salınımı ile Th1 hücrelerini daha iyi uyarmaktır. Th1 hücreleri ise CD8+ sitotoksik T hücrelerini uyarır. Dolayısı ile virüsün replikasyonunu ve yayılmasını önlemek için konak immün sistemi enflamasyon ve hücrel immün yanıtı tetikler (42).

Daha önce belirtildiği üzere SARS ve COVID-19 hastalarında benzer enflamatuvar hasar oluşmaktadır. Hem hücrel hem de humoral bağışıklığın moleküler düzeyde bu patogeneze katkıda bulunacağı ileri sürülmüştür. Dolayısı ile SARS-CoV-2'ye karşı T lenfositlerinin yanı sıra B lenfositleri de uyarılır. B

hücreleri/plazma hücreleri SARS-CoV-2'ye spesifik antikorlar üreterek bu şekilde virüslerin nötralize edilmesine yardım edebilir. Ancak COVID-19 hastalarında immünglobulin düzeylerinde oluşan azalmanın B lenfositlerinin etkinliğinin bir göstergesi olduğu düşünülmektedir. SARS-CoV-2'nin antijenlerine karşı konakta antikor üretimi uyarılsa da hastalarda oluşan lenfopeniye bağlı olarak immünglobulin sentezinde de yetersizlik oluşabilmektedir. Bununla beraber anti-spike proteinlerin ve SARS-CoV-2'ye karşı oluşan antikorların immün sistem hücrelerinin enfeksiyonundan sorumlu olabileceği de ileri sürülmüştür. Ciddi SARS-CoV-2 vakalarında ortaya çıkan antikora bağlı tetiklenmenin (*Antibody-dependent enhancement-ADE*) sürekli enflamasyon, lenfopeni ve sitokin fırtınası ile sonuçlanan önemli bir patogeneze mekanizması olduğu varsayılmaktadır (42).

SARS-CoV-2'nin insan solunum yolu epitel hücrelerinin yüzeyinde sitopatik etki yaptığı ve hücre sil yapısında hasara yol açabileceği mikroskopik olarak gösterilmiştir. Bu da sitokinlerin, makrofajların, lenfositlerin ve pnömositlerin dahil olduğu immünolojik kaskadların tetiklenmesine katkıda bulunmaktadır. SARS hastalarının serumlarında proinflamatuvar sitokinlerin (IL-1, IL-6, IL-12, interferon gama (IFN-gama), IFN-indüklenmiş protein-10 (IP10), makrofaj inflamatuvar proteinleri 1A ve monosit çekici protein-1(MCP1))'lerin yükseldiği bildirilmiştir ki bu sitokinler pulmoner enflamasyon ve şiddetli akciğer hasarı ile ilişkilidir. SARS-CoV-2 enfeksiyonlarında da nötrofil ve monosit/makrofajların yoğun göçü proinflamatuvar sitokinlerin aşırı üretimi ile sonuçlanır. Ortaya çıkan bu sitokin fırtınası akciğerlerdeki immünopatolojinin sebebi olarak gösterilmektedir. Bu süreçte aktive olan Th1/Th17 hücreleri de oluşan immün yanıtın şiddetine katkı sağlar. Ayrıca yoğun bakım ünitesindeki hastaların GCSF, IP10, MCP1 ve TNF-alfa düzeylerinin, yoğun bakım ünitesinde olmayan hastalardan anlamlı düzeyde yüksek bulunduğu bildirilmiştir; bu bulgunun sitokin fırtınasının hastalığın şiddetinin altında yatan neden olduğu fikrini desteklediği ileri sürülmüştür. Sonuç olarak SARS-CoV ve MERS-CoV enfeksiyonlarında olduğu gibi oluşan sitokin fırtınasının immün sistemi aşırı uyurarak konak hücrelerinde yoğun hasara yol açarak ARDS, çoklu organ yetmezliği ve ölüme yol açabileceği bildirilmektedir (32).

Yapılan bir çalışmada ise humoral ve hücrel bağ-

şiklikta, SARS-CoV-2 ile enfekte hastaların periferik kanındaki CD4+ ve CD8+ T hücrelerinin sayısının önemli ölçüde azaldığı, buna karşın aktivasyonlarının arttığı belirtilmiştir (1, 32). Bu verileri destekler nitelikte COVID-19 vakalarında lökosit ve nötrofil-lenfosit oranının yüksek; eozinofil, lenfosit, monosit ve bazofil sayılarının düşük olduğu bildirilmiştir. Ayrıca belirli vakalarda tüm lenfosit alt gruplarının (T hücreleri, B hücreleri ve NK hücreleri) önemli ölçüde azaldığı rapor edilmiştir. Daha az şiddetli vakalarda ise yardımcı T hücreleri ve baskılayıcı T hücrelerinin sayısının azaldığı bildirilmiştir. SARS-CoV'un direkt olarak makrofaj ve T hücreleri enfekte ettiği bildirilmekle birlikte SARS-CoV-2'nin hangi immün sistem hücrelerini enfekte ettiği net olarak bilinmemektedir. SARS-CoV-2'nin solunum mukoza epitel hücreleri ve diğer hücrelere yayılarak periferik beyaz kan hücrelerini ve diğer immün sistem hücrelerini özellikle T hücreleri enfekte etmesi de patogenezi açısından son derece önemlidir. Bahsi geçen bu tablo, COVID-19 hastalarında görülen lenfopeniyi ve hücrel immün yetmezliği de kısmen açıklamaktadır. Koronavirüsün neden olduğu bu lenfosit hasarı sekonder bakteri enfeksiyonlarına ve proinflatuvar sitokinlerin düzeyinde artışa yol açmaktadır ki sonuçta şiddetli pnömoneye neden olan sitokin fırtınası ortaya çıkmaktadır. Lenfopeni ve şiddetli enflamasyon ağır ve ölümlü sonuçlanan vakaların karakteristik bulguları olarak bildirilmiştir (32, 42).

Özetle, virüs partikülleri öncelikle solunum mukozasını istila etmekte ve bir seri immün yanıtı tetikleyerek ve konakta sitokin fırtınasına yol açarak diğer konak hücrelerini enfekte etmektedir. Tüm bu süreçler COVID-19 hastalarının kritik durumları ile ilişkili sürecin bütünü oluşturmaktadır (14).

6. SARS-CoV-2 için kullanılan tanı yöntemleri

Hastalığın klinik semptomları etkene özgü değildir ve hafif seyirli bir enfeksiyondan pnömone ve ağır organ yetmezliğine kadar varabilen farklı tablolar ile karşımıza çıkabilir (6). Klinik semptomlar ile ilgili bildirimlere bakıldığında genel olarak, ateş, öksürük, halsizlik belirtilerinin öne çıktığı ifade edilmiştir. Bununla ilişkili olarak, Guan ve ark. Çin'de 1099 COVID-19 hastasını semptomları açısından değerlendirdikleri araştırmalarında %44'ünde ateş olduğu, %89'unda hastane girişi yaptıktan sonra ateşinin yükseldiği, %68'inde öksürük, %38'inde halsizlik, %34'ünde balgam çıkarma ve

%19'unda nefes darlığı olduğunu belirlemişlerdir (33). Bu sonuçlar semptomların birçok solunum yolu enfeksiyonu ile benzer olduğunu da göstermiştir (1, 8, 15, 43). Ayrıca yapılan bir araştırmada COVID-19 vakalarının %39,6'sında gastrointestinal sistem belirtileri de (kusma, ishal) geliştiği gösterilmiştir. Bu oranın SARS-CoV ve MERS-CoV için daha yüksek olabileceği bilinmektedir (31, 44).

Hastalığın tanısında:

- Mikrobiyolojik analizler,
- Radyolojik analizler,
- Biyokimyasal analizler olmak üzere çeşitli yöntemlere başvurulmaktadır (1, 8, 43, 45).

6.1. Mikrobiyolojik analizler

Etkeni belirlemeye yönelik uygulanan yöntemlerin özgülüğü radyolojik ve biyokimyasal bulgulara göre daha yüksektir. Bu alanda yapılan araştırmaların çoğu duyarlı ve özgül yöntemler olan moleküler teknikler üzerine yoğunlaşmaktadır. İzole edilen virüs suşlarından elde edilen sekans analizi verileri 10 Ocak 2020 tarihinden itibaren özel bir gen bankasında (Global Initiative on Sharing All Influenza Data-GISAID) toplanmaya başlanmış ve araştırmacıların bilgisine açılmıştır (46).

6.1.1. Nükleik asit saptamaya yönelik yöntemler (NAT):

• Revers transkriptaz –PCR (RT-PCR) yöntemi:

SARS CoV-2 tanısı için en sık kullanılan yöntemlerden biridir. Bu yöntemde virüsün RNA genomu öncelikle komplementer DNA'ya (cDNA) dönüştürülür. Kullanılan spesifik primerler ile amplifiye edilen cDNA'nın belirli bölgeleri agaroz jel elektorezi ile görüntülenerek tanı konur (8, 43, 49). Cormon ve ark'nın üç farklı primer dizisi ile yaptıkları araştırmalarında RdRP (ORF1ab), E geni ve N geni hedef alınarak sonuçlar karşılaştırılmış ve sonuçta N geni hedef alınarak yapılan RT-PCR yönteminin duyarlılığı daha düşük bulunmuştur. Bu deneyler tek veya iki aşamalı olarak yapılabilmektedir. İki aşamalı yapılan teknikte ikinci bir spesifik primer dizisi kullanılarak ayrı bir deney tüpünde virüs genomu çoğaltıldığından duyarlılığı ve özgülüğü daha yüksektir (8, 43).

Çinde yapılan çeşitli araştırmalarda 11 farklı NAT ve sekiz farklı antikor saptama kiti karşılaştırıldığında özellikle üst solunum yolu örneklerinde RT-PCR yön-

teminin başarılı bulunduğu bildirilmiştir (8). Alt solunum yollarından alınan bronkoalveolar lavaj, trakeal aspirat örnekleri de araştırmak üzere uygun olarak değerlendirilse de aerosol oluşturma riski açısından nazofarinks ve orofarinksten alınan sürüntü örnekleri bu yöntemde daha uygun olarak değerlendirilmektedir. Testin güvenilirliği virüs yükü ve örnek alma tekniğinin uygunluğu ile yakın ilişkilidir; özellikle hastalık belirtileri başladıktan sekiz gün sonra üst solunum yollarından alınan sürüntü örneklerinin doğru sonuç vermeyebileceği bilinmektedir. Dolayısı ile RT-PCR ile alınan negatif sonuçlar hastalığı ekarte etmemektedir (8, 43, 45).

• İzotermal nükleik asit amplifikasyon yöntemi:

Birçok laboratuvarında termal cycluser gibi cihazlar gerektirmeden daha kolay bir şekilde uygulanabilen ve maliyeti daha düşük bir yöntem olarak SARS-CoV-2 tanısında kullanılmaktadır. Bu yöntemden yola çıkarak geliştirilen RT-LAMP (loop mediated isothermal amplification) yöntemi altı farklı primer dizisi kullanılarak geliştirilmiş özgülüğü çok yüksek bir yöntemdir. Bu yöntemde amplifiye edilen cDNA parçaları ortaya çıkan bulanıklık, pH'ya duyarlı bir boya ile oluşan renk değişimi ya da floresan ışımaya yapan bir boya ile açığa çıkan floresan ışımaya ile saptanmıştır (8, 43).

• Real Time PCR (gerçek zamanlı PCR-qPCR) yöntemi:

Bu yöntemde RT-PCR'da olduğu gibi virüs genomu öncelikle cDNA'ya dönüştürülür. Ardından çoğalan cDNA miktarı oluşan floresan ışımaya yoluyla bilgisayar destekli bir şekilde takip edilip, görüntülenir. Bu esnada floresan ışımaya yapan boya çift zincirli DNA molekülüne bağlanarak, çoğalan gen ürününün kantitatif olarak takip edilmesine olanak sağlar. Duyarlılığı ve özgülüğü çok yüksek bir yöntem olarak birçok RNA virüsü tanısında olduğu gibi SARS-CoV-2 tanısında da kullanılmaktadır. RT-qPCR yönteminin hastalığın özellikle başlangıç evresinde etkenin saptanmasını olanaklı kılmasının yanı sıra hem solunum sistemi örneklerinde hem de rektal sürüntü örneklerinde iyi sonuç verdiği belirtilmiştir. Salgından hemen sonra Çin Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi ORF1ab ve N genlerini hedef alan RT-qPCR yönteminin tanı amacıyla kullanımını önermiştir. Yöntemin duyarlılığı yine uygun örnek alınmasına ve virüs yüküne bağlıdır (32, 43, 45).

Abbott firması tarafından geliştirilen IDNOW COVID-19 kiti RT-qPCR tekniğini LAMP yöntemi ile birleştirerek geliştirilmiş bir teknoloji sayesinde hasta başında uygulanabilirliği sağlamıştır. Bu kit yaklaşık 13 dakikada sonuç vermekte ve üst solunum yolu örneklerinden virüs RNA'sının saptanmasını sağlamaktadır (43).

• NAT temelli diğer yöntemler:

Bahsi geçen bu yöntemlerin yanı sıra daha ileri teknolojiler ile geliştirilmiş çeşitli yöntemler ile de virüs genomu saptanabilmektedir. Bunlar arasında CRISPR temelli geliştirilen (Sherlock BioSciences tarafından geliştirilen SHERLOCK kiti ve Mammoth firması tarafından geliştirilen DETECTR kiti) hasta başında uygulanabilen kitler, spesifik DNA problemlerinin kullanıldığı ve özellikle SARS-CoV-2'nin spike geninde oluşan nokta mutasyonlarını da saptayabilen hibridizasyon temelli mikroarray ve yeni nesil sekanslama (NGS) yöntemleri sayılabilir (7, 8, 43, 45, 47). Bu teknikler tarama amacı ile kullanımı sınırlı olmakla birlikte özel araştırmalarda ve RNA virüslerinde ortaya çıkan mutasyonların belirlenmesinde kullanılmaktadır. Ayrıca SHERLOCK gibi kitlerin kullanımı ile özellikle virüs yükü düşük (10-100 kopya/mL) olan hastalardan alınan örneklerden virüsün saptanması sağlanabilmektedir.

6.1.2. Serolojik yöntemler:

Bu yöntemlerde virüse karşı konak bağışıklık sistemi tarafından geliştirilen IgM ve IgG tipi antikorların belirlenmesi hedeflenmektedir. SARS-CoV-2'nin spike ve nükleokapsit proteinlerine karşı üretilen IgG ve IgM'leri saptamak mümkündür. Bu amaçla ticari olarak geliştirilen ELISA veya immüno-kromatografik temelli kitler ile nötralizasyon deneylerinden yararlanılır. Özellikle immüno-kromatografik testler hasta başında uygulanabilmekte ve hızlı sonuç vermektedir. Bu yöntemlerin olumsuz özelliği ise SARS-CoV ile SARS-CoV-2 S proteinine karşı gelişen antikorların çapraz reaksiyon vermesidir. Dolayısı ile SARS-CoV-2 tanısında bu kitlerin duyarlılığı açısından ek araştırmalara gereksinim vardır (32). Nötralizasyon yönteminde ise hasta serumu virüs ile enfekte hücre kültürüne uygulanır ve sitopatik etki oluşup oluşmadığı kontrol edilir. Ancak bu deneyde hücre kültüründe üretilmiş canlı virüs partikülleri kullanıldığı için biyogüvenlik 3 seviyesindeki laboratuvarlarda

uygulanabilmektedir (8, 43, 48, 49).

6.2. Radyolojik analizler:

Özellikle NAT'ın yanlış negatif sonuç vermesi sebebiyle bilgisayarlı tomografi (CT) sonuçlarına başvurulmaktadır. SARS-CoV-2 ile enfekte kişilerde genellikle bilateral ve periferik yerleşmiş dumanlı opak görünümü odakların (buzlu cam opasitesi) varlığı tanı için önemlidir. Göğüs CT sonuçları %86-98 oranında duyarlıdır ve yalnızca negatif RT-PCR sonuçlarını ekarte edebilirler. Ancak yöntemin pahalı oluşu ve teknik alt yapı gerektirmesi ayrıca spesifik olarak COVID-19'u saptamıyor oluşu da unutulmamalıdır (1, 6, 8).

6.3. Biyokimyasal analizler:

Genellikle COVID-19 hastalarında aspartat aminotransferaz, kreatin kinaz, kreatinin ve C-reaktif protein (CRP) değerlerinde yükselme görülmektedir (1).

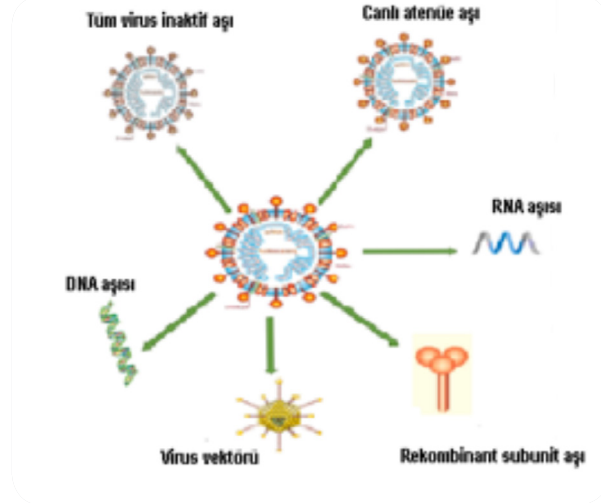
7. SARS-CoV-2'den Korunma ve Aşı Çalışmaları

Bilindiği üzere enfeksiyon hastalıklarını önlemeye yönelik en etkili, en ucuz ve uzun süreli korunma yöntemi aşılamadır. Her ne kadar geçtiğimiz 20 yılda koronavirüsler küresel düzeyde tehdit oluşturan üç önemli salgın (SARS-CoV, MERS-CoV, SARS-CoV-2) yapmış olsa da halen sınırlı sayıda aşı adayları farklı ülkelerden onay almıştır (11, 19, 50, 51). Özellikle virüs yüzey proteinleri ve konak reseptörleri arasındaki etkileşimin aydınlatılması türler arası gelişen çapraz bulaşma, konak tropizmi ve aşı çalışmalarında kullanılan hayvan modelleri açısından önem taşımaktadır (52).

S glikoproteini aşı çalışmalarında önemli bir hedeftir (32, 35, 52, 53). Özellikle S1 alt biriminin reseptör bağlayan bölgesi (RBD) olarak tanımlanan epitopu, hem humoral hem de hücreli bağışıklığı indüklemek için esas hedef bölgeyi oluşturmaktadır. Yapılan hayvan deneyleri sonuçları ve iyileşen hasta serumlarından yüksek titrede anti-RBD IgG antikorlarının saptanmış olması bu proteinin aşılama önemli bir hedef olduğunu desteklemiştir. Bunun haricinde N, M proteinleri ve yapısal olmayan aksesuar proteinlerin (nsp3, nsp4, ORF8) de aşı hedefi olabileceğini belirten çalışmalar bulunmaktadır (50, 51).

Yaşadığımız pandemi sürecinin ortaya çıkarttığı acil durum dolayısıyla ile birçok farklı aşı tipi geliştirilmiş ve

geliştirilme aşamasındadır. Bunlar arasında inaktif aşılardan, nükleik asit aşılardan, adenovirüs temelli vektör aşılardan ve rekombinant subunit aşılardan sayılmaktadır.



Şekil 2. SARS-CoV-2'ye karşı geliştirilen aşı tipleri (51).

7.1. Umut vaat eden aşı çalışmaları:

• Rekombinant Subunit Aşılar:

Genel olarak subunit aşılardan enfeksiyon riski açısından güvenilir olmaları ve daha az yan etkilerinin olması açısından avantaj sağlamaktadır. Bu aşılardan içeriğinde virüs proteinleri saflaştırılmış olarak bulunur. Ancak elde edilen bağışıklık sadece belirli virüs antijenlerine yönelik koruyuculuk sağladığından yüksek bir immünojenite elde edilemez. Sitotoksik T lenfositlerin uyarımı açısından da etkinliği düşük düzeyde kalmaktadır (50). Baculovirus tarafından eksprese edilen RBD protein içeriği ile hazırlanmış subunit aşının prelinik çalışmalarının sonuçları toksisitesinin düşük olduğunu ve koruyuculuğunun yüksek olduğunu göstermiştir. Clover Biopharmaceuticals tarafından geliştirilen timerik S proteini içeren rekombinant subunit bir aşının faz I ve faz II çalışmaları devam etmektedir (50, 54).

• Nükleik asit aşılardan:

Antijen kodlayan plazmitlerin enjeksiyonu ile uygulanan DNA aşılardan bağışıklık sistemini birçok koldan uyarmakta ve aşı immünojenitesini arttırmak için adjuvan eklenmektedir. Inovio Pharmaceuticals ve Beijing Advaccine Biotechnology işbirliği ile geliştirilen bir DNA aşısının faz I ve faz II çalışmaları yürütülmekte-

dir. S proteini kodlayan DNA plazmitlerin aktarımı sonucunda T lenfositlerin indüklendiği bildirilmektedir (7, 50). Ayrıca yine faz I ve faz II çalışmaları yürütülmekte olan Osaka Üniversitesi, AnGes ve Takara Bio işbirliği ile hazırlanan DNA plazmit aşılı da hazırlık aşamasındadır (50).

Diğer bir yeni teknoloji ile hazırlanan nükleik asit temelli aşı ise virüse ait S proteini kodlayan mRNA aşılıdır. Bu aşılıların içeriğinde bulunan virüs antijenlerini kodlayan mRNA'lar konak hücrede translayona uğramaktadır. mRNA aşılılarının hızlı geliştirilmesi, genoma integre olmaması gibi avantajları vardır. Fazla miktarda üretilebilmesi ve maliyet etkinliği de diğer avantajları olarak belirtilmektedir. Ayrıca diğer aşılardan farklı olarak bu aşılılar hücre kültüründe değil in-siliko olarak üretilmektedir. Moderna Inc tarafından, SARS-CoV-2 spike proteini kodlayan bir mRNA aşılıının faz III çalışmaları yürütülmektedir (7, 19, 50). Pfizer ve BioNTech tarafından geliştirilen bir diğer mRNA aşılıının faz III çalışmalarının sonuçları da ortaya çıkan yan etkilerin hafif düzeyde olması ve deneklerde yüksek düzeyde nötralizan antikor salgılandığının belirlenmesi ile sevindirici olmuştur. Hem Pfizer/BioNTech aşılı hem de Moderna aşılı yakın dönemde 18 yaş üstü kişilerde uygulanmak üzere FDA onayı almıştır. Ayrıca Pfizer/BioNTech aşılı Kanada, İngiltere ve İsviçre gibi ülkeler tarafından da onaylanmıştır.

• İnaktif tüm virüs aşılıları:

Çeşitli kimyasal veya fiziksel yöntemlerle enfeksiyöz özelliği giderilmiş tam virüs partikülü kullanılarak hazırlanan aşılıların çok sayıda virüs proteinine karşı bağışıklık yanıtı sağlaması en önemli avantajıdır. Bu teknik ile geliştirilen birçok aşı adayını deney hayvanları ile yapılan çalışmalar ile güvenilir sonuçlar vermiştir. Faz III çalışmaları yapılan Sinovac ve Sinopharm firmaları tarafından geliştirilen iki farklı inaktif aşılıının sağlıklı yetişkinlerde tolere edilebilir ve yüksek düzeyde bağışıklığı uyarıcı özelliğinde olduğu bildirilmiştir (50).

• Virüs vektör aşılıları:

Genellikle adenovirüs veya pox virüs gibi taşıyıcı bir virüs SARS-CoV-2'ye ait S genini taşıyacak şekilde genetik bir değişime uğratarak aşı içeriği oluştu-

rulmaktadır. Bu aşılıların kullanımı ile konakta hem doğal hem de kazanılmış bağışıklık yanıtı indüklenmektedir ancak vektör olarak kullanılan virüs ile konağın daha önceden enfekte olup, antikor geliştirmiş olma ihtimali SARS-CoV-2'ye karşı etkili bir bağışıklık yanıtının oluşmasını engelleyebilmektedir. CanSino Biological Inc ve Beijing Biyoteknoloji Enstitüsü ortaklığı ile geliştirilen adenovirüs tip 5 vektör aşılı ile yapılan çalışmaların sonuçları bu öngörüğü desteklemiştir. Gamaleya Araştırma Enstitüsü tarafından geliştirilen, rekombinant adenovirüs tip 5 ve rekombinant adenovirüs tip 26 suşlarının vektör olarak kullanıldığı aşılıın (Sputnik V) faz I ve faz II sonuçları ise bu virüsler ile konağın önceden karşılaşmış olmasının SARS-CoV-2 S proteinine karşı gelişen antikor yanıtını etkilemediğini göstermiştir. Bu aşılıın da faz III çalışmaları sürmektedir (50, 51). Oxford Üniversitesi ve AstraZeneca işbirliği ile geliştirilen bir diğer viral vektör aşılıının içeriğinde ise şempanze adenovirüsü (ChAd) kullanılmaktadır ve faz III çalışma sonuçları da aşılıın güvenilir, iyi tolere edilebilir ve immünojenitesinin güçlü olduğunu göstermiştir (50, 51). Kasım ayı sonunda gerçekleşen bir işbirliği anlaşması uyarınca Gamaleya ve AstraZeneca arasında ortak çalışma kararı alınmıştır.

7.2. Korunmada uyulması gereken önemli kurallar:

Tüm uğraşlara rağmen DSÖ etkili bir aşı kampanyası yürütülmesinin ve koruyucu antikor sentezinin etkili bir düzeyde gerçekleşebilmesi için uzun bir süreç gerekeceğini öngörmektedir (7, 11). Dolayısı ile kişisel önlemler (ellerin düzenli yıkanması, kişisel koruyucu ekipmanların kullanımı ve bağışıklık sisteminin desteklenmesi) salgının ilerlemesinin önlenmesinde çok önemlidir. Özellikle salgın döneminde kişilerin bağışıklık sistemlerini desteklemek için kaliteli uyuması, sağlıklı beslenmesi ve düzenli egzersiz yapması önerilmektedir (55). Ayrıca virüsün bulaşmasında esas kaynağın enfekte bireyler olduğu bilindiğinden:

- Semptomu olan kişilerle temastan kaçınmak,
- Hapşırma ve öksürme sırasında mendil kullanıp mendili hemen sonra atmak,
- Seyahatlerden kaçınmak,
- Sık dokunulan yüzeyleri dezenfektanlar ve %60-70'lik etanol ile silmek gibi uygulamalara

da dikkat edilmesi önerilmektedir (45, 55).

Yapılan araştırmalarda virüsün aerosoller şeklinde iki-üç saat kadar havada asılı kalabildiği gösterildiğinden özellikle sağlık çalışanları tarafından kişisel koruyucu ekipmanların (maske, siperlik ve önlük gibi koruyucu kıyafetler) mutlaka kullanılması gerekmektedir (7, 55). Cerrahi maskeler virüsün geçişini engellemekle birlikte, semptomu olan kişilerden saçılan sıvı materyallerin yüzeylere yapışmasını engellemektedir (7). Ancak N95, N100, FFP2 ve FFP3 gibi maskeler 0,3 mikrondan daha küçük partikülleri süzebilme kapasitesinde olduğundan özellikle sağlık çalışanlarının mutlaka kullanması önerilmektedir (1, 7, 15, 55). Ayrıca virüsün önemli bir giriş kapısı da gözler olduğundan şeffaf yüz siperliklerinin de teması önlemede oldukça önemli rolleri olduğu bilinmektedir. Hastaneye yatan hastaların takip edildiği odaların negatif basınçlı HEPA filtrelerle altı saatte bir havalandırılması da yine öneriler arasındadır (1, 7).

8. SARS-CoV-2 Tedavisinde Öneriler

Yeni koronavirüs salgını ile tanıştığımız 2019 Aralık ayında bilim insanlarının bu virüs ve oluşturduğu hastalık hakkında çok fazla deneyimi olmadığından daha önce deneyimli olunan SARS-CoV ve MERS-CoV için kullanılan tedavi stratejileri deneysel olarak uygulanmış ve optimize edilmeye çalışılmıştır. Hastaların tedavisinde sıklıkla kullanılan ve fayda sağlayan stratejiler

- Semptomları iyileştirmeye yönelik destek tedavisi
- Antiviral ilaçlar
- Steroidler
- Hastalığı atlatan kişilerden edinilen bağışık plazma olarak belirlenmiştir (1, 7, 15, 19).

8.1. Destek tedavisi:

SARS-CoV-2 ACE-2 reseptörüne bağlanarak enfeksiyon oluşturduğu için özellikle akciğerler, gastrointestinal sistem ve böbreklere saldırmaktadır. Tedavide öncelikle bu hayati organları korumak üzere çeşitli uygulamalar yapılmaktadır. Genel oksijen terapisi, yüksek akım oksijen uygulaması, non invazif ventilasyon, invazif mekanik ventilasyon ve sürekli renal replasman tedavisi gibi uygulamalar özellikle ciddi durumlarda hastaları hayatta tutabilmek için çok önemlidir (6, 7, 11, 14, 15).

8.2. Antiviraller:

Farklı etki mekanizmalarına sahip antiviraller SARS-CoV-2 replikasyonunu baskılamak üzere kullanılmaktadır. Her ne kadar koronavirüslere etkili spesifik bir antiviral olmasa da deneysel olarak uygulanan çeşitli antiviraller fayda sağlamaktadır (11). Bunları şu şekilde gruplandırmak mümkündür:

• Nükleozid Analogları:

Bu ilaçlar özellikle RdRP enzimini hedef alırlar ve nükleotid sentezi yolağında inhibisyona yol açarlar. Replikasyon sırasında nükleotidlerin genoma katılmasını engellerler. Birçok RNA virüsünün replikasyonunu inhibe ettikleri bilinmektedir (7, 19).

Favipiravir Influenza tedavisinde kullanılan bir guanin analogudur. Ayrıca Sarıhumma, Ebola, Chikungunya gibi etkenlerin tedavisinde de etkili olarak kullanılmaktadır (19). Vero E6 hücre kültüründe yapılan deneyler sonucunda SARS-CoV-2 suşları üzerinde inhibitör etki yaptığı gösterilmiştir. Genellikle interferon-α veya baloxavir ile kombine şekilde kullanılır (35).

Ribavirin HCV ve RSV tedavisinde kullanılan bir guanin analogudur. Pegile interferon ile kombine şekilde COVID-19 tedavisinde önerilmektedir (7, 13, 14, 19, 24).

Remdesivir HIV RT inhibitörü tenofovir ile kimyasal olarak benzer özellikte bir adenin analogudur. Ebola virüs tedavisinde kullanılan bu ilaç MERS-CoV ve SARS-CoV üzerinde inhibitör etki göstermektedir. SARS-CoV-2 tedavisi için umut vaat ettiği bildirilmektedir (1, 13, 14, 19, 24, 32, 37).

• Klorokin:

Sıtma tedavisinde kullanılan konak hücrede lizozom içine proton pompalanmasını sağlayarak hücre içi pH'yı arttırarak virüs-hücre füzyonunu inhibe etmektedir. Vero hücre kültüründe yapılan çalışmalar sonucunda SARS-CoV-2 üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir (13, 14, 19, 37). Klorokin ve remdesivir kombinasyonunun virüs replikasyonunu etkili şekilde baskıladığı gösterilmiştir (14, 15). Bu olumlu etkilere karşın yapılan çok merkezli bir klinik araştırmada hidroksiklorokin plasebo ile kıyaslandığında 14 günlük süreçte hastaneye yatan erişkin hastalarda iyileşmede istatistiksel olarak anlamlı bir etkinliğinin görülmediğini bildirmiştir (56).

• Proteaz inhibitörleri:

Virüs genomu daha önce bahsedildiği üzere poliprotein oluşturmak üzere translyasyona uğramaktadır. Poliprotein virüse ait proteaz enzimi ile kesilerek fonksiyonel hale getirilmektedir. Proteaz inhibitörleri proteolitik yıkımı önleyerek virüs replikasyonunu baskılamaktadır (7, 19).

Lopinavir/ritonavir HIV tedavisinde kullanılan proteaz inhibitörleridir ve SARS-CoV üzerinde etkili olduğu bilinmekle birlikte SARS-CoV-2 tedavisinde kullanımı ile ilgili klinik araştırmalar sürmektedir (1, 7, 14, 19, 35).

• Nöraminidaz inhibitörleri:

Influenza virüs tedavisinde kullanılan oseltamivir, peramivir, zanamivir gibi nöraminidaz inhibitörleri de SARS-CoV-2 tedavisinde kullanılmaktadır (14).

8.3. Kortikosteroid tedavisi:

Daha önce de belirtildiği üzere SARS-CoV ve MERS-CoV hastalarında oluşan sistemik enflamasyona bağlı olarak yoğun bir sitokin salınımı (sitokin fırtınası) oluşur. Konakta oluşan sitokin fırtınasına bağlı olarak oluşan serbest oksijen radikalleri artışı da organ yetmezliği ve ARDS'ye yol açmaktadır. Bunu önlemek için kortikosteroidler kullanılmaktadır (6, 7).

8.4. Plazma tedavisi:

Hastalığı atlattıktan antikor geliştiren kişilerden alınan plazma örnekleri COVID-19 tedavisi için ya da sağlıklı kişilerin korunması amacıyla kullanılmaktadır. Ancak bu tedavi yönteminin bazı riskleri ortaya çıkabilmektedir. Risklerden biri kişilerden alınan plazma örneğinde bulunan antikor konsantrasyonunun düşük olması, diğeri de hastalarda sitokin fırtınasına yol açma ihtimalidir (7, 24). Ayrıca Li ve ark.'nın 103 hasta ile yaptıkları araştırmalarının sonuçlarına göre plazma tedavisinin kontrol grubu ile kıyaslandığında 28 günlük süreçte iyileşme üzerine istatistiki olarak anlamlı bir olumlu etki yapmadığı da gösterilmiştir (57).

Sonuç

Koronavirüsler her ne kadar akut üst solunum yolu enfeksiyonu (AÜSYE) etkeni olarak bilinseler de, son yirmi yıllık süreçte ortaya çıkan üç özellikli tür dün-

ya genelinde tehlikeli ve korkutucu salgınlara, hatta pandemilere yol açarak önem kazanmış ve gündeme oturmuşlardır. Özellikle 2019 yılının son ayında patlak veren SARS-CoV-2 salgını çok kısa bir süre içinde tüm dünyayı etkisi altına alarak pek çok insanın karantina altında yaşamasına yol açmıştır. Karantina kurallarının yol açtığı sosyal ve ekonomik sorunlar da elbette tüm dünyada her türlü iş kolunu etkisi altına almış ve insanları yaşam şekillerini çok kısa sürede değiştirmek zorunda bırakmıştır.

Uygulanan fiziksel temas önlemleri ve üst düzeye çıkartılan hijyen uygulamaları aynı zamanda insanları psikolojik olarak da etkilemiştir ve etkisinin ne kadar süreceği de vaka artışının devam ettiği bu süreçte net olarak bilinmemektedir. Ayrıca yeni CoV'un her ne kadar mortalitesi, SARS-CoV ve MERS-CoV'dan düşük de olsa ve spesifik tedavisinin bulunmaması insanlardaki kaygı ve endişenin sürmesine neden olmaktadır. Bu karamsar tablonun yanı sıra, elbette ki yeni geliştirilen aşuların tüm dünya genelinde yaygın ve adil şekilde dağıtımını sağlanabilirse insanlık açısından bir ümit kaynağı doğacaktır.

Tüm bu endişeler ile birlikte virüsle ve salgınla ilişkili olarak birçok bilinmeyen karanlık nokta da varlığını sürdürmektedir. Bunlardan bazıları:

- Virüsün kökeni tam olarak nedir ve insana adaptasyonda hangi ara konak rol oynamıştır?
- Salgın sürecinde virüs bu denli hızlı yayılırken nasıl bir dönüşüm geçirmektedir?
- Yakın dönemde SARS-CoV gibi tamamen yok olacak mıdır yoksa Influenza virüs gibi hep hayatımızda olmaya devam edecek midir?

Bu soruların cevaplarını henüz bilmiyor olsak da COVID-19 salgınının insanların yaşam alışkanlıkları üzerinde kalıcı izler bırakacağı ve uluslararası düzeyde bir halk sağlığı sorunu olmaya devam edeceği gerçeği ile yüz yüze olduğumuzu rahatlıkla söyleyebiliriz.

Received Date/Geliş Tarihi: 08.02.2021

Accepted Date/Kabul Tarihi: 06.04.2021

Kaynaklar

1. Harapan H, Itoh N, Yufika A, Winardi W, Keam S, Te H. et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): A literature review. J Infect Public Health. 2020; 13(5):667-673.



2. Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H. et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *The Lancet*. 2020;395(10224):565-574.
3. Sun J, He WT, Wang L, Lai A, Ji X, Zhai X. et al. COVID-19: Epidemiology, evolution, and cross-disciplinary perspectives. *Trends in Molecular Medicine*. 2020;26(5):483-495
4. https://www.who.int/csr/sars/country/table2004_04_21/en/
5. Gorbalenya AE, Baker SC, Baric R, Groot RJD, Drosten C, Gulyaeva AA. et al. Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nature Microbiology*. 2020;5:536-544.
6. Ge H, Wang X, Yuan X, Xiao G, Wang C, Deng T. et al. The epidemiology and clinical information about COVID-19. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2020; 14:1-9.
7. Yi Y, Lagniton PN, Ye S, Li E, Xu RH. COVID-19: what has been learned and to be learned about the novel coronavirus disease. *Int J Biol Sci*. 2020;16(10):1753.
8. Udugama B, Kadhiresan P, Kozlowski HN, Malekjahani A, Osborne M, Li VY. et al. Diagnosing COVID-19: the disease and tools for detection. *ACS Nano*. 2020;14(4):3822-35.
9. Kannan S, Ali PSS, Sheeza A, Hemalatha K. COVID-19 (Novel Coronavirus 2019)-recent trends. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2020;24(4):2006-11.
10. Baloch S, Baloch MA, Zheng T, Pei X. The Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Pandemic. *The Tohoku J Exper Med*. 2020; 250(4):271-278.
11. Jiang F, Deng L, Zhang L, Cai Y, Cheung CW. et al. Review of the clinical characteristics of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *J General Int Med*. 2020;1-5.
12. Fiorillo L, Cervino G, Matarese M, D'Amico C, Surace G, Paduano V. et al. COVID-19 Surface Persistence: A Recent Data Summary and Its Importance for Medical and Dental Settings. *Int J Environment Res Public Health*. 2020;17(9):3132.
13. Jin Y, Yang H, Ji W, Wu W, Chen S, Zhang, W, Duan G. Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of COVID-19. *Viruses*. 2020;12(4):372.
14. Guo YR, Cao QD, Hong ZS, Tan YY, Chen SD, Jin HJ. et al. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak—an update on the status. *Military Med Res*. 2020;7(1):1-10.
15. Hamid S, Mir MY, Rohela GK. Noval coronavirus disease (COVID-19): A pandemic (Epidemiology, Pathogenesis and potential therapeutics). *New Microb New Infect*. 2020;100679.
16. Ji W, Wang W, Zhao X, Zai J, Li X. Homologous recombination within the spike glycoprotein of the newly identified coronavirus may boost cross-species transmission from snake to human. *J Med Virol*. 2020; 92(4):1-31.
17. Xiao KP, Zhai JQ, Feng YY, Zhou N, Zhang X, Zou JJ, et al. Isolation and characterization of 2019-nCoV-like coronavirus from Malayan Pangolins. *BioRxiv*. 2020.
18. Tang X, Wu C, Li X, Song Y, Yao X, Wu X. et al. On the origin and continuing evolution of SARS-CoV-2. *National Science Review*. 2020;3:1-26.
19. Ahn DG, Shin HJ, Kim MH, Lee S, Kim HS, Myoung, J. et al. Current status of epidemiology, diagnosis, therapeutics, and vaccines for novel coronavirus disease 2019 (COVID-19). *J Microbiol Biotech*. 2020;30(3):313-324.
20. Mousavizadeh L, Ghasemi S. Genotype and phenotype of COVID-19: Their roles in pathogenesis. *J Microbiol Immun Infect*. 2020 (in press).
21. Millet JK, Whittaker GR. Host cell proteases: critical determinants of coronavirus tropism and pathogenesis. *Virus Res*. 2015;202:120-34.
22. Simmons G, Gosalia DN, Rennekamp AJ, Reeves JD, Diamond SL, Bates P. Inhibitors of cathepsin L prevent severe acute respiratory syndrome coronavirus entry. *P Natl Acad Sci USA*. 2005;102(33):11876-81.
23. Wrapp D, Wang N, Corbett KS, Goldsmith JA, Hsieh CL, Abiona O et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science*. 2020; 13;367(6483):1260-63.
24. Khodadadi E, Maroufi P, Khodadadi E, Esposito I, Ganbarov K, Esposito S. et al. Study of combining virtual screening and antiviral treatments of the Sars-CoV-2 (Covid-19). *Microbial Pathogenesis*. 2020;146:104241.
25. Kang S, Yang M, Hong Z, Zhang L, Huang Z, Chen X. et al. Crystal structure of SARS-CoV-2 nucleocapsid protein RNA binding domain reveals potential unique drug targeting sites. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2020; 10(7):1228-1238.
26. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y. et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*. 2020;395(10223):497-506.
27. Chen J, Qi T, Liu L, Ling Y, Qian Z, Li T et al. Clinical progression of patients with COVID-19 in Shanghai, China. *Journal of Infection*. 2020;80(5):1-6.
28. Gralinski LE, Menachery VD. Return of the Coronavirus: 2019-nCoV. *Viruses*. 2020;12(2): 135.
29. Liu Y, Gayle AA, Wilder-Smith A, Rocklöv J. The reproductive number of COVID-19 is higher compared to SARS coronavirus. *Journal of Travel Medicine*. 2020; 13;27(2):21.
30. Yang X, Yu Y, Xu J, Shu H, Liu H, Wu Y. et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *The Lancet Respiratory Medicine*. 2020;8:475-481.
31. Rothe C, Schunk M, Sothmann P, Bretzel G, Froeschl G, Wallrauch C. et al. Transmission of 2019-nCoV infection from an asymptomatic contact in Germany. *New England Journal of Medicine*. 2020;382(10):970-971.
32. Li X, Geng M, Peng Y, Meng L, Lu S. Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2020; 10(2): 102-108.



33. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX. et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *New England J Med.* 2020; 382(18):1708-1720.
34. <https://en.huanqiu.com/>
35. Uddin M, Mustafa F, Rizvi TA, Loney T, Suwaidi HA, Al-Marzouqi AHH. et al. SARS-CoV-2/COVID-19: Viral genomics, epidemiology, vaccines, and therapeutic interventions. *Viruses.* 2020; 12(5):526.
36. Sanche S, Lin YT, Xu C, Romero-Severson E, Hengartner N, Ke R. Early Release-High Contagiousness and Rapid Spread of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2. *2020;26(7):1470-1477*
37. Shi J, Wen Z, Zhong G, Yang H, Wang C, Huang B. et al. Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS-coronavirus 2. *Science.* 2020;368(6494): 1016-1020.
38. Sobral MFF, Duarte GB, da Penha Sobral AIG, Marinho MLM, de Souza Melo A. Association between climate variables and global transmission of SARS-CoV-2. *Science of The Total Environment.* 2020;729:138997.
39. Rabaan AA, Al-Ahmed SH, Haque S, Sah R, Tiwari R, Malik YS. et al. SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV: a comparative overview. *Infez Med.* 2020;28(2):174-184.
40. Rabi FA, Al Zoubi MS, Kasasbeh GA, Salameh DM, Al-Nasser AD. SARS-CoV-2 and coronavirus disease 2019: what we know so far. *Pathogens.* 2020;9(3):231.
41. Xia S, Yan L, Xu W, Agrawal AS, Algaissi A, Tseng CTK. et al. A pan-coronavirus fusion inhibitor targeting the HR1 domain of human coronavirus spike. *Science advances.* 2019;5(4):4580.
42. Dhama K, Patel SK, Pathak M, Yatoo MI, Tiwari R, Malik YS. et al. An update on SARS-CoV-2/COVID-19 with particular reference to its clinical pathology, pathogenesis, immunopathology and mitigation strategies. *Travel Medicine and Infectious Disease.* 2020; 101755.
43. Carter LJ, Garner LV, Smoot JW, Li Y, Zhou Q, Saveson C J. et al. Assay techniques and test development for COVID-19 diagnosis. *ACS Cent Sci.* 2020;6(5):591-605.
44. Zumla A, Hui DS, Perlman S. Middle East respiratory syndrome. *Lancet.* 2015;386:995-1007.
45. Ozma MA, Maroufi P, Khodadadi E, Köse Ş, Esposito I, Ganbarov K. et al. Clinical manifestation, diagnosis, prevention and control of SARS-CoV-2 (COVID-19) during the outbreak period. *Infez Med.* 2020;28(2):153-65.
46. <https://www.gisaid.org/epiflu-applications/next-hcov-19-app/>
47. Hou T, Zeng W, Yang M, Chen W, Ren L, Ai J et al. Development and evaluation of a rapid CRISPR-based diagnostic for COVID-19. *PLoS Pathogens.* 2020;16(8):e1008705.
48. Zhang W, Du RH, Li B, Zheng XS, Yang XL, Hu B. et al. Molecular and Serological Investigation of 2019-nCoV Infected Patients: Implication of Multiple Shedding Routes. *Emerging Microbes Infect.* 2020;9(1):386-389.
49. Patel R, Babady E, Theel ES, Storch GA, Pinsky BA, George KS. et al. Report from the American Society for Microbiology COVID-19 international summit, 23 march 2020: value of diagnostic testing for SARS-CoV-2/COVID-19. 2020;11(2):1-5
50. Dong Y, Dai T, Wei Y, Zhang L, Zheng M, Zhou F. A systematic review of SARS-CoV-2 vaccine candidates. *Signal Trans Target Therapy.* 2020;5(1):1-14.
51. Mirzaei R, Mohammadzadeh R, Mahdavi F, Badrzadeh F, Kazemi S, Ebrahimi M. et al. Overview of the current promising approaches for the development of an effective severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) vaccine. *International immunopharmacology.* 2020; 106928.
52. Du L, He Y, Zhou Y, Liu S, Zheng BJ, Jiang S. The spike protein of SARS-CoV--a target for vaccine and therapeutic development. *Nat Rev Microbiol.* 2009;7:226-236.
53. Li F. Structure, function, and evolution of coronavirus spike proteins. *Annu Rev Virol.* 2016;3:237-261.
54. Clover Biopharmaceuticals vaccines programs. Available from <http://www.cloverbiopharma.com/index.php?m=content&c=index&a=list-s&catid=42>.
55. Fathizadeh H, Maroufi P, Momen-Heravi M, Dao S, Köse Ş, Ganbarov K. et al. Protection and disinfection policies against SARS-CoV-2 (COVID-19). *Infez Med.* 2020; 28(2):185-91.
56. Self WH., Semler MW, Leither LM, Casey JD, Angus DC, Brower RG. et al. Effect of hydroxychloroquine on clinical status at 14 days in hospitalized patients with COVID-19: a randomized clinical trial. *JAMA.* 2020;324(21):2165-76.
57. Li L, Zhang W, Hu Y, Tong X, Zheng S, Yang J. et al. Effect of convalescent plasma therapy on time to clinical improvement in patients with severe and life-threatening COVID-19: a randomized clinical trial. *JAMA.* 2020;324(5):460-470.