

# SARS-CoV-2: Virolojisi ve Tanıda Kullanılan Mikrobiyolojik Testler

• Serap Demir Tekol

Kartal Dr. Lütfi Kırdar Şehir Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul

Geliş tarihi: 06.07.2020  
Kabul tarihi: 25.07.2020

İletişim: Serap Demir Tekol,  
Kartal Dr. Lütfi Kırdar Şehir Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul, Turkey  
E-posta: serapdemir@yahoo.com



## Anahtar sözcükler:

COVID-19; Koronavirüs;  
RT-PCR; SARS-CoV-2.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

## ÖZET

Ağır solunum yetersizliği ile seyreden “Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)”un etkeni olan “Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)”, Coronavirus ailesi içinde yer alan yeni bir türdür. HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-OC43, HCoV-HKU1, MERS-CoV ve SARS-CoV’dan sonra insanları enfekte edebilen yedinci koronavirüs olan SARS-CoV-2 betakoronavirüs cinsi içinde yer almaktadır. Koronavirüsler, 65–125 nm çapında zarflı, tek zincirli, pozitif polariteli RNA virüsleridir. RNA virüsleri içinde en büyük genom yapısına sahiptirler. Bu özellikleri nedeniyle konak genomuna entegre olmadan, kendi viral genomlarını kalıp olarak kullanarak replike olurlar. Replikasyon aşamasında, genomun yapısında bulunan gen bölgeleri yapısal ve yapısal olmayan proteinleri kodlar. Yapısal proteinler virionun bir araya getirilmesi ve enfeksiyon patogenezinde rol almaktadır. Virüsün tipik şeklini veren Spike proteini (S), konak hücreye tutunmayı sağlayan özel bağlanma bölgesi içerir. Konak hücrede, virüsün hedefi kalp, akciğerler, böbrekler ve gastrointestinal sistemde bulunan anjiyotensin dönüştürücü enzim-2 reseptörüdür. Hücre içinde gelişen tüm replikasyon döngüsü sitoplazmada gerçekleşir. SARS-CoV-2 viral yapısı ve enfeksiyon patogenezi hakkındaki bilgiler, SARS-CoV ve MERS-CoV ile ilgili yapılan çalışmalara dayanmaktadır. SARS-CoV-2’ye özgü, detaylı araştırmalar virüsün yapısı ve patogenezinin tam olarak aydınlatılmasını sağlayacaktır.

## SARS-CoV-2 Virolojisi

Aralık 2019 tarihinde Çin’in Wuhan kentindeki deniz ürünleri pazarı ile ilişkili ve etiolojisi bilinmeyen pnömoniler ile başlayan salgının, yeni bir koronavirüs kaynaklı enfeksiyon olduğunun anlaşılmasıyla Şubat ayında Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından hastalığa “Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)” ismi verilmiştir.<sup>[1]</sup>

Ağır solunum yetmezliği ile seyreden COVID-19’un etkeni olan “Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)”, ilk olarak 30 Aralık 2019 tarihinde Wuhan Jinyintan Hastanesi’nde üç hastanın bronkoalveoler lavaj (BAL) sıvısından izole edilmiştir.<sup>[2]</sup> Sekans ve filogenetik analizler sonucunda, izole edilen virüs, koronavirüs ailesi içinde yer alan yeni bir tür olarak kabul edilmiştir. Sekansı yarasalardan köken olan, SARS-CoV ile (bat-SL-CoVZC45 ve bat-SLCoVZXC21) %88, MERS-CoV ile %50 benzerlik göstermektedir.<sup>[1,2]</sup> Doğada çok yaygın olarak bulunan koronavirüsler solunum, enterik, hepatik ve nörolojik hastalıklara neden olurlar. İlk keşfedildikleri yıllarda sadece hayvanlarda patojen oldukları bilinmekteyken, 1965 yılında soğuk algınlığı olan B814 kodlu hastanın burun boşluğunda saptanmasıyla insanlarda da enfeksiyon etkeni oldukları gösterilmiştir.<sup>[3]</sup> İnsan ve hayvanlarda hafif seyreden soğuk algınlığı, ishal gibi enfeksiyonlarla karşımıza çıkan koronavirüsler, son 20 yılda

yaşanılan pnömoni salgınlığının ortaya çıkışına kadar ciddi bir hastalığa neden olmamıştır.<sup>[1,2]</sup>

## Taksonomi

Koronavirüsler, Nidovirales takımı, Coronaviridae ailesi, Coronavirinae alt ailesinde yer alırlar. Coronaviridae ailesi genotipik ve serolojik olarak Alphacoronavirus, Betacoronavirus, Deltacoronavirus ve Gammacoronavirus olmak üzere dört cinse ayrılır. İnsanda enfeksiyon yapan koronavirüsler, Alphacoronavirus cinsinde yer alan HCoV-229E, HCoV-NL63 ile Betacoronavirus cinsinin A soyunda bulunan HCoV-OC43, HCoV-HKU1’dir.<sup>[4]</sup> HCoV-229E, HCoV-NL63 ve HCoV-OC43 hafif solunum yolu enfeksiyonuna, HCoV-HKU1 pnömoni tablosuna yol açar. Ciddi akut solunum sendromuna yol açan yarasa kaynaklı SARS-CoV ve deve kaynaklı MERS-CoV, Betacoronavirus cinsinin B ve C soylarında yer almaktadır. Yapılan filogenetik çalışmalarda SARS-CoV-2 genomunun Betacoronavirus cinsindeki virüsler ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır.<sup>[6]</sup>

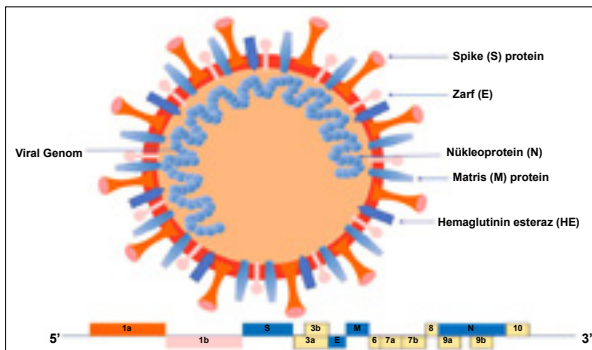
Günümüzde, HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-OC43, HCoV-HKU1, MERS-CoV ve SARS-CoV’dan sonra insanları enfekte edebilen yedinci koronavirüs olan SARS-CoV-2 Betacoronavirus cinsi içinde yer almaktadır.<sup>[7]</sup>

## Genom Yapısı ve Replikasyon

Koronavirüsler, 65–125 nm çapında zarflı RNA virüsleridir. Yuvarlak yapıdaki nükleokapsidi çevreleyen zarftan çıkan glikoprotein yapıdaki sivri uçlar şeklinde görünen Spike (S) proteinler, elektron mikroskobu ile yapılan incelemelerde güneşin çevresindeki korona tabakasına benzeyen ışık halkası gibi bir görünüme yol açarlar. Bu nedenle Latince taç anlamına gelen “korona” kelimesi ile birleştirilerek koronavirüsler şeklinde isimlendirilmişlerdir.<sup>[7]</sup> Koronavirüsün şematik yapısı ve genomu Şekil 1’de görülmektedir.

Tek zincirli ve pozitif polariteli olan viral RNA’nın uzunluğu 26–32 kbs arasında değişir. RNA genomunun büyük olması, viral replikasyonun konak hücreye daha az bağımlı olmasını sağlar. Pozitif polarite nedeniyle konak genomuna entegre olmadan, kendi viral genomunu kalıp olarak kullanarak replike olur. Replikasyon esnasında, viral genom yapısal ve yapısal olmayan proteinleri direkt olarak kodlar. Aslında viral genom mRNA işlevi görür ve çıplak RNA enfeksiyöz potansiyel taşır.<sup>[7,8]</sup>

Koronavirüs genomu en az 10 “open reading frames (ORF)” içerir. ORF1a/b, iki büyük poliproteine çevrilir. İki poliprotein (pp1a ve pp1ab), viral replikaz transkriptaz kompleksini oluşturan 16 yapısal olmayan proteine (nsp1-nsp16) dönüşür. Yapısal olmayan proteinler, endoplazmik retikulumdan köken alan membranları veziküllere dönüştürür. Viral replikasyon ve transkripsiyon bu veziküllerin içinde gerçekleşir. Bununla birlikte yapısal olmayan proteinlerin fonksiyonları tam olarak bilinmemektedir.<sup>[7]</sup> Diğer ORF’ler ise Spike (S), Zarf (E), Nükleokapsid (N) ve Matris (M) proteinler gibi dört ana yapısal proteini kodlar. Yapısal proteinler virionun bir araya getirilmesi ve enfeksiyon patogenezinde rol almaktadır. Nükleoprotein (N), sarmal yapıdaki RNA genomuna bağlı halde bulunan bir fosfoproteindir. Viral replikasyon ve transkripsiyon basamaklarındaki görevinin yanı sıra interferon antagonistik etkisiyle konak immün sisteminin yok edici etkisinden virüsü korur. Nükleokapsidi çevreleyen Zarf (E) ve zarf içinde gömülü olarak bulunan Matris (M) proteinleri virionların hücre içerisinde bir araya getirilmesinde ve virüsün tomurcuklanarak hücreden ayrılması aşamasında rol almaktadır. Zarfın içine tutunarak dışarı doğru uzanan S proteini virüsün tipik şeklini verir. S proteinleri benzeyen ancak daha kısa olan viral zarfla ilişkili hemaglutinin esteraz (HE) proteinleri de dış yüzeyde bulunur.<sup>[9,10]</sup>



Şekil 1. SARS-CoV-2 şematik yapısı ve genomu.

## Reseptör Etkileşimi ve Hücre İçine Giriş

Koronavirüslerin konak hücreye tutunmasını S proteinin yüzeyinde bulunan ve değişkenlik gösterebilen reseptör bağlanma bölgesi (RBB) sağlar.<sup>[11]</sup> SARS-CoV-2 için, S proteinin hedefi kalp, akciğerler, böbrekler ve gastrointestinal sistem (GİS)’de bulunan anjiyotensin dönüştürücü enzim-2 (ACE-2) reseptörüdür.<sup>[4,7]</sup>

Virüsün konak hücresine tutunmasından sonra virüs ve plazma membranı arasında doğrudan membran füzyonu gerçekleşir. Membran füzyonunun yanı sıra virüsün hücreye girişinde klatrin bağımlı ve bağımsız endositoz da rol oynar. Konak hücresi içine salınan viral genom bir şablon görevi görerek, replikasyon ve subgenomik mRNA sentezi için gerekli enzim ve proteinleri kodlar. Viral RNA’dan iki poliprotein ve yapısal proteinler sentezlenir. Bunu takiben viral genom çoğalmaya başlar. İlk olarak RNA polimeraz sentezlenir, RNA’nın küçük parçalara bölünmesi ile negatif polariteli RNA’lar oluşur. Transkripsiyon sonucu mRNA üretilir ve viral proteinlere translasyon gerçekleşir. Yeni sentezlenen zarf glikoproteinleri, endoplazmik retikulum veya Golgi membranına yerleşir. Genomik RNA ve nükleokapsid proteininin kombinasyonu sonucunda nükleokapsid meydana gelir. Bunu takiben viral partiküller içeren veziküllerin plazma membranı ile füzyonu sonucunda virüs ortama salınır. Tüm replikasyon döngüsü sitoplazmada gerçekleşir.<sup>[4,7,8]</sup>

## Bağışıklık Sisteminin Uyarılması ve Immunité

Virüs hücre içine girerken, viral antijenler ilk olarak antijen sunan hücreler (APC) tarafından sunulur. Majör histokompatibilite kompleksi (MHC) veya insanlarda insan lökosit antijeni (HLA) tarafından sunulan antijenik peptitler, virüse özgül sitotoksik T lenfositler tarafından tanınır. Antijen sunumu başlıca MHC I molekülleriyle olmakla birlikte MHC II’de antijen sunumunda rol alır. Antijen sunumu sonucunda virüse spesifik hümmoral ve hüresel bağışıklık yanıtı uyarılır.<sup>[12]</sup> Diğer viral enfeksiyonlarda olduğu gibi, SARS-CoV-2’ye karşı da IgM ve IgG tipi antikorlar oluşur. IgM antikorları enfeksiyonun 7–21. gününde, IgG ise 14. gününde tespit edilmeye başlar. IgG tipi antikorların S ve N antijenlerine karşı oluştuğu ve uzun süre kaldığı gösterilmiştir.<sup>[13]</sup>

SARS-CoV ve MERS-CoV immün sistemden kaçınmak ve hücre içi yaşamını sürdürmek için çeşitli yöntemler kullanır. SARS-CoV ve MERS-CoV patern tanımlama reseptörü içermeyen çift membranlı veziküllerin oluşumunu indükler ve bu veziküller içinde çoğalır, böylece konakçının virüsün RNA’sını fark etmesi önlenir. Ayrıca hücre içine girdikten sonra, antijen sunumu ile ilgili viral gen bölgeleri değiştirilir. Oluşan çeşitlilik neticesinde, antijen sunumu virüs tarafından kontrol edilir.<sup>[14]</sup>

## Tanıda Kullanılan Mikrobiyolojik Test Yöntemleri

COVID-19’un semptom ve bulgularının, pnömoni ile seyreden diğer viral enfeksiyonlardan ayırt edici nitelikte olmaması, ayrıca hastalığın etkin bir tedavisinin veya aşısının bulunmaması nedeniyle, ulaşabilir olduğumuz tanı testleri

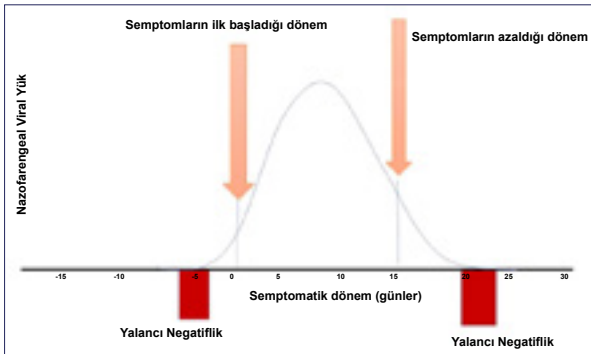
pandeminin kontrolünde çok büyük önem taşımaktadır. Zamanında ve doğru uygulanan COVID-19 tanı testleri, salgının ve hasta yönetiminin önemli bir parçasıdır.<sup>[15]</sup> Ayrıca virüsü yayma potansiyeline sahip asemptomatik olguların da tespit edilmesine imkân sağlamaktadır.

Viral enfeksiyonların tanısında klasik olarak; virüs kültürü, moleküler yöntemler ve serolojik testler kullanılmaktadır. Tanıda altın standart olan virüs kültürü ve izolasyonu, biyogüvenlik riski nedeniyle SARS-CoV-2'nin tanısında önerilmemektedir. DSÖ'nün yayınladığı rehberde SARS-CoV-2 enfeksiyonunun tanısında doğrulama için virüsün spesifik bir gen dizilimini çoğaltan nükleik asit temelli polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) testi önerilmektedir.<sup>[16]</sup>

### Moleküler Tanı Testleri

Temel olarak kullanılan moleküler yöntemler; PCR ve sekanslama teknikleridir.<sup>[17]</sup> SARS-CoV-2 tam genom analizi ile elde edilen veriler ışığında, PCR protokollerinde kullanılması gereken spesifik viral gen bölgeleri belirlenmiştir.<sup>[18]</sup> DSÖ tarafından temel olarak, viral zarf proteinini kodlayan E geni ve RNA'ya bağımlı RNA polimeraz (RdRp) enziminin PCR ile araştırılması önerilmektedir.<sup>[16]</sup> Bununla birlikte, RdRp'ye ek olarak nükleokapsid fosfoproteinini kodlayan N genini tespit eden ticari kitler bulunmaktadır. Ülkemizde, T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarı tarafından yetkilendirilmiş merkezlerde, gerçek zamanlı ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (rRT-PCR) yöntemi ile RdRp geninin saptanması için tasarlanmış kitler kullanılmaktadır.<sup>[19]</sup> Kitin saptama limiti (LOD) 5.6 kopya SARS-CoV-2/reaksiyon analitik duyarlılığı %99.4, özgüllüğü ise %99.0 olarak belirlenmiştir.

Viral RNA'nın tespitinde kullanılan yöntem ve reaktiflerin yanı sıra test edilecek klinik örneğin cinsi, kalitesi ve hastalığın evresine göre örnek alınma zamanı kritik derecede önemlidir. Hastalık evresi ile viral RNA saptanması arasındaki ilişki Şekil 2'de görülmektedir. Üst solunum yolundan (nazofarenks ve/veya orofarenks) alınan sürüntü örnekleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Örnek toplanması için uygun olan hastalarda BAL ve balgam gibi alt solunum yolu örnekleri de kullanılabilir. Nazofarenksten alınan örneklerin orofarenksten alınan örneklere göre iki kat daha iyi sonuç verdiği görülmüştür. Nazofarenks ve orafarenksten alınan



**Şekil 2.** SARS-CoV-2 enfeksiyonu sırasında viral yük dağılımı ve RT-PCR testlerinin pozitifliği arasındaki ilişki.

örneklerin ortak bir tüpte birleştirilerek çalışılması önerilmektedir. Alt ve üst solunum yollarının birlikte test edilmesiyle test duyarlılığının arttığı gösterilmiştir.<sup>[20]</sup> Üst solunum yolu örneklerinin semptomların başlangıcından itibaren birkaç gün içinde toplanması önerilmektedir. Virüsün üst solunum yollarında ilk hafta sonunda, pnömoni gelişen olgularda alt solunum yollarında üç ve dördüncü haftaların sonunda pik yaptığı bildirilmiştir.<sup>[21]</sup> Solunum yolu örnekleri dışında, SARS-CoV-2 RNA'sı dışkı, idrar ve kan örneklerinden de izole edilmiştir. Duyarlılığın düşük olması nedeniyle bu örneklerde yapılan izolasyonun tanısıl değerinin belirlenmesi ve viral saçılımın anlaşılabilmesi için geniş çaplı ve prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.<sup>[18,20]</sup> Viral yükün az olması, hatalı örnekleme, erken ya da geç evrede örnek alımı, antiviral ilaç kullanımı, uygun olmayan transport koşulları, PCR inhibitörlerinin varlığı ve viral genetik mutasyon gibi nedenlerle yalancı negatiflikler görülebilmektedir.<sup>[18]</sup> Örnek transportu için viral RNA'nın korunmasını ve çözeltiye geçişini sağlayan viral transport mediyumları ya da viral nükleik asit tamponları kullanılmalı, örnekler 4°C'de ve en kısa sürede laboratuvara ulaştırılmalıdır.

Duyarlı bir yöntem olan PCR testlerinin çalışması sırasında analiz kalite güvencesinin sağlanması için tüm basamakların optimizasyonu ve kalite kontrol prosedürlerinin uygulanması gereklidir. Buna rağmen, yalancı negatiflik olasılığı nedeniyle izolasyon ve tedavi kararı verilirken klinik bulgular, akciğer tomografisi bulguları, C-reaktif protein vb. diğer laboratuvar verileri ile birlikte değerlendirilmelidir.<sup>[22]</sup>

### Serolojik Tanı Testleri

COVID-19 tanısında, ulusal ve uluslararası rehberlerde SARS-CoV-2 virüs RNA'sını tespit eden moleküler testlerin kullanılması önerilmektedir.<sup>[16,19]</sup> Ancak bu testler iyi donanımlı laboratuvarlar ve kalifiye iş gücü gerektirmektedir. Bu nedenle, donanım gerektirmeyen, hızlı sonuç veren güvenilir tanı testlerine ihtiyaç duyulmaktadır. SARS-CoV-2 virüsüne karşı gelişen antikorların veya virüs spesifik antijenlerin saptanması hastalığın tanısı ve virüsün yayılmasını izlemek için önemli alternatiflerdir.<sup>[23]</sup> Bu testlerin kullanımı, moleküler testlere ulaşımın zor olduğu durumlarda acil tıbbi tanı ihtiyacını karşılayabilir.

Şu anda kullanımda olan ve geliştirilmekte olan serolojik testler doğrudan SARS-CoV-2 antijen tespiti ve dolaylı yoldan antikor saptayan testler olarak iki başlık altında değerlendirilmektedir. Antijen saptayan testler, enfeksiyon sırasında oluşan viral bileşenleri saptarken, antikor testleri daha geç dönemde virüse karşı gelişen bağışıklığı yani antikorları saptar.

### Antijen Saptayan Tanı Testleri

Antijen saptayan testler, solunum yolu örneklerinde, SARS-CoV-2 tarafından enfeksiyon sırasında ekspres edilen viral bileşenlerin varlığının saptanmasına dayanır. Tespit edilen antijenler yalnızca virüs replike olduğunda olduğundan, akut enfeksiyonun tanısında kullanılır. Testin duyarlılığı ve özgüllüğü, örneğin alındığı hastalık dönemi, viral yük, örnek kalitesi gibi çeşitli faktörlere bağlıdır.<sup>[23]</sup> Amerikan Gıda ve

İlaç Dairesi (FDA) tarafından Mayıs 2020 tarihinde onay verilmiş olan ilk antijen testi ile SARS-CoV-2 nükleokapsid proteini saptanmaktadır. Hızlı sonuç vermesi en önemli avantajıdır. Ancak diğer koronavirüsler ve çeşitli bakterilerle çapraz reaksiyon verdiği saptanmıştır. Negatif sonuç alınan durumlarda klinik uyum varsa RT-PCR testi ile doğrulanması önerilmektedir. Klinik örneklerden respiratuvar sinsityal virüs veya influenza virüsü antijenlerini saptayan kitlerin duyarlılığı düşüktür. SARS-CoV-2 antijen testleri için de aynı durumun geçerli olması mümkündür.<sup>[23]</sup> Koronavirüsler için bu testlerin prototipleri onay almamıştır; ancak geliştirilme aşamasındadır. Antijen saptayan, onaylı test kitleri, şüpheli olguları hızlı bir şekilde tanımlamak ve moleküler test ihtiyacını azaltmak için bir ön test olarak kullanılabilir. Ancak koronavirüs dışındaki diğer solunum yolu enfeksiyonu etkenlerinin tanısında kullanılan hızlı antijen testlerinden elde edilen deneyimler dayanarak, değişken duyarlılık oranı nedeniyle hastaların önemli bir kısmının yalancı negatiflik nedeniyle atlanacağı veya yalancı pozitif sonuçların ortaya çıkabileceği akılda tutulmalıdır. Antijen testlerinin duyarlılığı ve özgüllüğü ile kısıtlı veriler mevcut olduğundan DSÖ, tanı için antijen testlerinin kullanılmasını çok önermemektedir.<sup>[24]</sup>

### Antikor Saptayan Tanı Testleri

Enfeksiyon sırasında gelişen konak bağışıklık yanıtını yansıtan IgM, IgA, IgG ve total antikorların tespiti geniş bir test yelpazesi oluşturmaktadır. Ancak yeni tanımaya başladığımız SARS-CoV-2'ye karşı oluşan antikor yanıtı henüz tam olarak bilinmemektedir. Antikor gelişimi, büyük ölçüde konak bağışıklık sisteminin durumuna bağlı olup; yaş, beslenme, immün baskılama yapan ilaç kullanımı ve eşlik eden hastalıklardan etkilenir.<sup>[24]</sup>

### İmmünokromatografik Testler

Pandeminin ilk dönemlerinde geliştirilen ve kullanılan antikor tespit eden hızlı tanı testlerini DSÖ önermemektedir. Ancak hastalık süreyansı ve epidemiyolojik araştırmalarda antikor testlerinin yararlılığını belirlemek için çalışmaların sürdürülmesini teşvik etmektedir. Hasta başı kullanılan kromatografik testlerde, virüse karşı oluşmuş antikorları saptamak için klonlanmış viral antijenler kullanılır. İmmünokromatografik test kitlerinde, kasete gömülü bir şerit ve bu şerit üzerinde nitrosellüloz membrana sabitlenmiş viral antijen bulunur. Hasta örneği, şerit üzerine eklenir ve daha önce immobilize edilen reaktif ile reaksiyona girer. Araştırılacak örnekler serum, plazma veya bazı durumlarda tam kan olabilmektedir. Testlerin çoğu, sonuçların değerlendirilebilmesi için bir kontrol bandı içermektedir. Sonuçlar görsel olarak değerlendirilmekte ve dakikalar içinde kalitatif olarak sonuç vermektedir.<sup>[23,24]</sup>

### Enzim İmmünoassay (EIA) Testler

Geliştirilmesi daha uzun süren EIA testler, moleküler yöntemlere göre daha az duyarlılık ve özgüllüğe sahip olmakla birlikte, kullanım kolaylığı sağlarlar ve kısa sürede sonuç verirler. Ancak test validasyonunda elde edilen sonuçların

çoğu kez klinik olarak doğrulanamaması tanısız zorluklar yaratır. EIA yönteminde antijen-antikor kompleksine bağlanan antikor bir enzim ile işaretlenir ve enzim aktivitesi, reaksiyon sonucunda ortaya çıkan renk değişikliğinin (enzyme linked immunosorbent assay-ELISA) veya ortaya çıkan ışığın (kemilüminesans immünoassay-CLIA) şiddetinin ölçülmesi ile tespit edilerek antijen-antikor reaksiyonu saptanır. ELISA tekniği ile antikor aranmasında kullanılan direkt yöntem "sandviç" ya da "çift antikor" yöntemidir.<sup>[24]</sup> SARS-CoV-2 antikor tespiti için, rekombinant N proteini ve S proteinini hedef alan ELISA kitleri kullanılmaktadır. Konak hücrelerine girişten sorumlu tek protein olan S proteini, nötralize edici antikorları ortaya çıkaran ana antijendir. Bu nedenle SARS-CoV-2 S proteini, antikor saptama testlerinde en iyi hedef bölge olarak görünmektedir.<sup>[23]</sup> Rekombinant viral N proteininin kullanıldığı ELISA yöntemi ile SARS-CoV-2'ye karşı oluşan IgA, IgM ve IgG antikorlarının araştırıldığı bir çalışmada IgM ve IgA antikorlarının semptom başladıktan sonra ortalama beş gün, IgG antikorlarının ise 14 gün sonra ve sırasıyla %85.4, %92.7 ve %77.9 pozitif oranlarla tespit edildiği gösterilmiştir.<sup>[25]</sup>

Antikor testlerinin akut enfeksiyonların tanısında kullanımı sadece semptomların ortaya çıktığı zamanla sınırlıdır. Antikor yanıtının saptanabilmesi haftalar sonra mümkündür. Bu nedenle özellikle yakın zamanda virüse maruz kalanlarda negatif sonuç elde edilmesi SARS-CoV-2 enfeksiyonunu dışlamaz. Ayrıca çapraz reaksiyon nedeniyle pozitif sonuçlar tanı için tek başına yeterli olmayabilir. SARS-CoV-2'ye karşı gelişen antikorların tespiti; klinik ve radyolojik bulguları olan RT-PCR testi negatif olan hastalarda tanı amacıyla temaslı bireylerin izleminde, bağışıklık gelişmiş olabilecek kişilerin tanımlanmasında, aşı, terapötik veya profilaktik nötralize edici antikorlar için kaynak olabilecek bireylerin araştırılmasında ve epidemiyolojik veri sağlamak amacıyla kullanılabilir.<sup>[24]</sup>

### Örnek Alımı ve Transport

COVID-19 tanısında kullanılan testler için kullanılacak olan klinik örnek, solunum yolu ve kan örnekleridir. Antikor testleri için kan örnekleri kullanılırken, moleküler testler ve antijen testleri için uygun klinik örnek nazofarengeal ve orofarengeal sürüntü veya yıkama örnekleridir. Sürüntü örneklerinin alınmasında plastik gövdeli, sentetik uçlu eküvyonlar kullanılmalıdır. PCR için inhibisyon etkisi bulunan pamuk, kalsiyum alginat ve ahşap yapıdaki eküvyonlar kullanılmamalıdır. Solunum yollarından örnek alma işlemi damlacık saçılmasına neden olacağı için örneği alan personelin uygun kişisel koruyucu ekipmana sahip olması (eldiven, N95 maske, gözlük veya yüz koruyucu) gerekmektedir. Örneklerin laboratuvara transferinin 2-8°C'de, biyolojik materyal taşınması için tasarlanmış üçlü transfer çantasıyla yapılması gerekmektedir.<sup>[19]</sup>

### Sonuç

SARS-CoV ve MERS-CoV ile ilgili araştırmalardan elde edilen veriler stratejik bilgi sağlamakla birlikte, SARS-CoV-2 viral yapısı ve enfeksiyon patogenezindeki basamakların



tam olarak aydınlatılması pandeminin kontrolünde ve hasta yönetiminde büyük önem taşımaktadır.

SARS-CoV-2 ve COVID-19 hakkında bilinenler ışığında, RT-PCR yöntemi ile viral RNA'nın saptanması tanı için en iyi seçenektir. Antikorların hastalığın geç dönemlerinde ortaya çıkması nedeniyle antikor testlerinin akut hastalığın acil tanısında yararı yoktur. Antikor tespitinde, EIA temelli yöntemlerin belirlenmiş klinik durumlar için kullanılması uygundur. Kromatografik hızlı antikor ve antijen testlerinin kolay uygulanmaları ve hızlı sonuç vermelerine karşın duyarlılık ve özgüllükleri düşüktür.

## Kaynaklar

- Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med* 2020;382:727–33. [CrossRef]
- Li Q, Guan X, Wu P, Wang X, Zhou L, Tong Y, et al. Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia. *N Engl J Med* 2020;382:1199–207. [CrossRef]
- Tyrell DA, Bynoe ML. Cultivation of a novel type of common-cold virus in organ cultures. *Br med j* 1965;1:1467–70. [CrossRef]
- Chen Y, Liu Q, Guo D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *J Med Virol* 2020;92:418–23. [CrossRef]
- Wu F, Zhao S, Yu B, Chen YM, Wang W, Song ZG, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature* 2020;579:265–9. [CrossRef]
- Andersen KG, Rambaut A, Lipkin WI, Holmes EC, Garry RF. The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nat Med* 2020;26:450–2. [CrossRef]
- Shereen MA, Khan S, Kazmi A, Bashir N, Siddique R. COVID-19 infection: Origin, transmission, and characteristics of human coronaviruses. *J Adv Res* 2020;24:91–8. [CrossRef]
- Fehr AR, Perlman S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol Biol* 2015;1282:1–23. [CrossRef]
- Masters PS. The molecular biology of coronaviruses. *Adv Virus Res* 2006;66:193–292. [CrossRef]
- Park SE. Epidemiology, virology, and clinical features of severe acute respiratory syndrome -coronavirus-2 (SARS-CoV-2; Coronavirus Disease-19). *Clin Exp Pediatr* 2020;63:119–24. [CrossRef]
- Li F. Structure, Function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins. *Annu Rev Virol* 2016;3:237–61. [CrossRef]
- Liu J, Wu P, Gao F, Qi J, Kawana-Tachikawa A, Xie J, et al. Novel immunodominant peptide presentation strategy: a featured HLA-A\*2402-restricted cytotoxic T-lymphocyte epitope stabilized by intrachain hydrogen bonds from severe acute respiratory syndrome coronavirus nucleocapsid protein. *J Virol* 2010;84:11849–57. [CrossRef]
- Zhao J, Yuan Q, Wang H, Liu W, Liao X, Su Y, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. *Clin Infect Dis*. 2020 Mar 28. doi: 10.1093/cid/ciaa344. [Epub ahead of print]. [CrossRef]
- Menachery VD, Schäfer A, Burnum-Johnson KE, Mitchell HD, Eisfeld AJ, Walters KB, et al. MERS-CoV and H5N1 influenza virus antagonize antigen presentation by altering the epigenetic landscape. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018;115:1012–21. [CrossRef]
- Demirhan R, Çimenoglu B, Yılmaz E. The Effects of Hospital Organization on Treatment During COVID-19 Pandemic. *SCIE* 2020;31:89–95. [CrossRef]
- WHO. Laboratory testing for coronavirus disease 2019 (COVID-19) in suspected human cases: interim guidance, 2 March 2020. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331329> Accessed Sep 10, 2020. [CrossRef]
- 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. *Lancet* 2020;395(10224):565–74.
- Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill* 2020;25:2000045. [CrossRef]
- T.C. Sağlık Bakanlığı. COVID-19 (SARS-CoV-2 Enfeksiyonu). Genel bilgiler, epidemioloji ve tanı. Available at: <https://covid19.saglik.gov.tr/Eklenti/38597/0/covid-19rehberigenelbilgilerepidemiolojivetanipdf.pdf> Accessed Sep 10, 2020.
- Wang W, Xu Y, Gao R, Lu R, Han K, Wu G, et al. Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. *JAMA* 2020;323:1843–4. [CrossRef]
- Hao W, Li M. Clinical features of atypical 2019 novel coronavirus pneumonia with an initially negative RT-PCR assay. *J Infect* 2020;80:671–93. [CrossRef]
- Xie X, Zhong Z, Zhao W, Zheng C, Wang F, Liu J. Chest CT for Typical Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Pneumonia: Relationship to Negative RT-PCR Testing. *Radiology* 2020;296:41–5.
- Lin D, Liu L, Zhang M, Hu Y, Yang Q, Guo J, et al. Evaluations of the serological test in the diagnosis of 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) infections during the COVID-19 outbreak. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2020 Jul 17:1–7. doi: 10.1007/s10096-020-03978-6. [Epub ahead of print]. [CrossRef]
- WHO. Advice on the use of point-of-care immunodiagnostic tests for COVID-19. Available at: <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/advice-on-the-use-of-point-of-care-immunodiagnostic-tests-for-covid-19> Accessed Apr 8, 2020.
- Liu W, Liu L, Kou G, Zheng Y, Ding Y, Ni W, et al. Evaluation of Nucleocapsid and Spike Protein-Based Enzyme-Linked Immunosorbent Assays for Detecting Antibodies against SARS-CoV-2. *J Clin Microbiol* 2020;58:e00461–20. [CrossRef]

## SARS-CoV-2: Virology and Microbiological Diagnostic Tests

Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus 2 (SARS-CoV-2), is the causative agent of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) presented with severe respiratory failure. SARS-CoV-2 is a new virus within the family of coronavirus. SARS-CoV-2 is included in the genus betacoronavirus as the seventh coronavirus that can infect humans following HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-OC43, HCoV-HKU1, MERS-CoV and SARS-CoV. Coronaviruses are enveloped, single-stranded, positive sense RNA viruses with a diameter of 65–125 nm. It has the largest genome structure among RNA viruses. Due to these features, it replicates itself via using its own viral genome as a template without being integrated into the host genome. During replication stage, gene regions of the genome encode structural and non-structural proteins. Structural proteins play role in the assembling of virion and in the pathogenesis of infection. Spike protein (S), which gives the typical form of the virus, contains a particular binding place that allows attachment to the host cell. Target of the virus is the angiotensin converting enzyme-2 receptor, which is located in the heart, lungs, kidneys and gastrointestinal tract in the host cell. The cytoplasm inside the host cell is the place where the entire replication cycle occurs. Currently, SARS-CoV-2 viral structure information and the pathogenesis of infection are based on studies on SARS-CoV and MERS-CoV. SARS-CoV-2 dedicated analysis and research is required to fully understand the structure and pathogenesis of the virus.

**Keywords:** Coronavirus; COVID-19; RT-PCR; SARS-CoV-2.