

*Review article***Overview of molecular biology, replication, pathogenesis and resources of endemic human coronavirus (COVID-19)****Ömer ERTÜRK¹**, **Duygu ODABAŞ ALVER²**,*¹Department of Molecular Biology and Genetic, Faculty of Art and Science, Ordu University, Ordu, Turkey.²Health Services Vocational School, Giresun University Giresun, Turkey.*Corresponding author: duygu.odabas@giresun.edu.tr

Abstract: Coronaviruses (CoVs) are enveloped, positive strand RNA viruses in the Coronaviridae family. It first appeared in the 1930s when it caused acute respiratory infections in chickens. In the 1940s, it was characterized, as mouse hepatitis virus (MHV) and infectious gastroenteritis virus (TGEV). Human coronaviruses walk out in the 1960s with the appearance of upper respiratory tract infections in children. These viruses are not deadly and demonstrate symptoms like colds and flu. Nevertheless these viruses subsequently mutated and became fatal. The 2019 new type of coronavirus (COVID-19) was first stated in Wuhan, the capital of China's Hubei province in December 2019 and keep going to effused globally. COVID-19 is reasonably hazardous and reasons serious respiratory diseases. It is seen as bronchitis, bronchiolitis or pneumonia particularly in patients with chronic ailments, immunocompromised persons and the aged. This review will sum up the present information on the biology, resources, and survival capacity of human coronaviruses. It will as well provide information on the extremely pathogenic Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus (SARS-CoV) and the recently defined outbreaks of the Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV).

Keywords: COVID-19 infection, Coronavirus outbreak, SARS-CoV, MERS-CoV

Citing: Ertürk, Ö., & Odabaş Alver, D. (2021). Overview of molecular biology, replication, pathogenesis and resources of endemic human coronavirus (COVID-19). *Acta Biologica Turcica*, 34(2): 59-75.

Endemik insan koronavirüsü (COVIC-19)'nün, moleküler biyolojisi, replikasyonu, patogenezi ve kaynaklarına genel bakış

Özet: Koronavirüsler (CoV'lar), Coronoviridae ailesi içinde bulunan, zarflı, pozitif iplikli RNA virüsleridir. İlk olarak 1930'lu yıllarda tavuklarda akut solunum yolu enfeksiyonlarına sebebiyet vermesiyle ortaya çıkmıştır. 1940'lı yıllarda fare hepatit virüsü (MHV) ve bulaşıcı gastroenterit virüsü (TGEV) olarak tanımlanmıştır. İnsan koronavirüsleri ise, 1960'larda çocuklarda üst solunum yolu enfeksiyonlarının görülmesiyle ortaya çıkmıştır. Bu virüsler ölümcül olmayıp soğuk algınlığı ve grip gibi belirtiler göstermektedir. Ancak bu virüsler daha sonra mutasyon geçirecek ölümcül hale gelmişlerdir. Yeni tip koronavirüs (COVID-19) ilk olarak 2019 yılının aralık ayında Çin'in Hubei eyaletinin başkenti Wuhan'da tespit edilmiştir ve küresel olarak yayılmaya devam etmektedir. COVID-19 oldukça tehlikelidir ve ciddi solunum yolu hastalıkları meydana getirir. Özellikle kronik hastalığı olanlarda, bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde ve yaşlılarda bronşit, bronşiyolit veya zatürree şeklinde görülmektedir. Bu inceleme, insan koronavirüslerinin biyolojisi, kaynakları ve hayatta kalma kapasitesi hakkında mevcut bilgileri özetleyecektir. Ayrıca yüksek oranda patojenik Şiddetli Akut Solunum Sendromu Koronavirüsü (SARS-CoV) ve yakın zamanda tanımlanan Orta Doğu Solunum Sendromu Koronavirüsü (MERS-CoV) salgınları hakkında bilgi verecektir.

Anahtar Kelimeler: COVID-19 enfeksiyonu, Koronavirüs salgını, SARS-CoV, MERS-CoV

Giriş

Çin'in Hubei eyaletinin başkenti Wuhan, Aralık 2019'da, sadece Çin'de değil uluslararası alanda da yoğun görülen pnömoni salgınının merkezi olmuştur. COVID-19 virüsünün ortaya çıkması üzerine Çin sağlık otoriteleri, virüsü taşıdığı düşünülen hastalardan klinik veri toplanması, hastalığın teşhis ve tedavi prosedürlerinin geliştirilmesi ve hastalığı kontrol altına almak için derhal araştırmaya başlamıştır. Bu süreçteki çalışmalarda Çinli bilim adamları 7 Ocak 2020'de Wuhan'daki hastalardan yeni bir koronavirüs (CoV) izole etmişler (WHO, 2020a, b) ve 2019 yeni koronavirüsün (COVID-19) genetik sekansının, gerçek zamanlı Real Time-PCR (RT-Time) teşhis testleri ile hızlı bir şekilde geliştirilmesini sağlamışlardır (WHO, 2020a, b; CNHC, 2020). Huang ve ark. (2019) 2 Ocak 2020'ye kadar Wuhan'da ortaya çıkan, hastaneye başvuran COVID-19 ile enfekte olduğu doğrulanan ilk 41 hastanın klinik özelliklerini bildirmiştir. Çalışma bulguları, ortaya çıkan COVID-19 enfeksiyonunun ciddiyeti hakkında ilk verileri ortaya koymuştur. Buna göre ateş, kuru öksürük ve halsizlik dahil olmak üzere prodromal fazda COVID-19 enfeksiyonundan kaynaklanan semptomlar spesifik değildir ve diğer insan koronavirüs enfeksiyonlarının aksine, üst solunum yolu semptomları oldukça seyrek

görülmemektedir. Bu kohorttaki 41 hastanın 22'sinde (%55) şiddetli dispne gelişmiştir, 3'ü (%32) yoğun bakım ünitesinde yatmaktadır ve 6'sı bu hastalıktan ölmüştür. Bu nedenle, bu kohorttaki vaka-ölüm oranı yaklaşık %14±6'dır ve genel vaka ölüm oranı %3'e yakın görülmektedir (Huang ve ark., 2019).

21. yüzyılda iki koronavirüs salgını daha yaşanmıştır. Bunlar, 2003 yılında Çin'de ortaya çıkan ve yaklaşık 8.000 kişiyi hastalandıran SARS-CoV ve 2012 yılında Suudi Arabistan'da görülen ve yaklaşık 1000 kişiyi hastalandıran MERS-CoV salgınlarıdır. SARS-CoV ve MERS-CoV, COVID-19 ile karşılaştırıldığında daha ölümcül olmasına rağmen COVID-19'un bulaşıcılığı çok daha fazladır ve bu da daha fazla tehlike arz etmektedir. Bir RNA virüsü olan COVID-19 yüksek bir mutasyon oranına sahiptir, ancak diğer korona virüsleri gibi mutasyon oranı genom kodlu eksonükleaz nedeniyle diğer RNA virüslerinden biraz daha düşük olabilir. Bu da bu yeni tanımlanan zoonotik viral patojenin kişiden kişiye daha etkili bir şekilde aktarılması ve virüsün daha virülen olması anlamına gelmektedir (WHO, 2020c, d; Assiri ve ark., 2013).

Virüsün genetik dizisinin varoluşu COVID-19 enfeksiyonunun epidemiyolojisi ve klinik sonuçları hakkındaki ilk veriler, bu patojenin ortaya çıkardığı tehdidi anlamak için sadece ilk adımlardır. İnsanlarda

kökünü, kapsamı ve bulaşma süresi, diğer hayvan konakçalarına bulaşma yeteneği ve insan enfeksiyonlarının spektrumu ve patogenezi dahil olmak üzere birçok önemli soru hala cevaplanmamıştır (WHO, 2020e).

Bir salgının ölçeği, bir virüsün kişiden kişiye ne kadar hızlı ve kolay bir şekilde bulaştığına bağlıdır. Yeni koronavirüs, özellikle evlerde, hastanelerde, kiliselerde, yolcu gemilerinde ve diğer kapalı alanlarda çok kolay yayılmaktadır. Patojen, hasta bir kişi nefes aldığı anda, konuştuğunda, öksürdüğünde veya hapsirdiğinde üretilen küçük solunum damlacıkları ile havada dolaşabilmektedir. Koronavirüsler enfekte olan kişiden yaklaşık 6 metre uzağa gidebilmektedir. Yüzeylerde ne kadar süre yaşadıkları henüz net olarak bilinmemektedir. Virüsün yüksek bulaşma oranı, maske takma, enfekte olmuş insanlardan uzak durma ve maruz kalındığında karantina uygulaması gibi kontrol önlemleri gerektirir. Bu, salgının etkili bir şekilde kontrol edilebilmesini sağlamak ve yeni bulaşların %60'ından fazlasını engellemektedir (WHO, 2020f, g; DDS, 2020).

Çalışmanın materyalini günümüzde tüm dünyayı etkisi altına alan bir koronavirüs türü olan COVID-19'un moleküler biyolojisi, replikasyonu, patogenezi ve kaynakları oluşturmaktadır. Bu derleme tüm dünyada pandemi ilan edilen COVID-19 virüsünün ölümcüllüğü, tanısı ve teşhisi için geçen süre, tedavisi, sınıflandırılması, genomik karakteri, yaşam döngüsü ve çoğalması gibi pek çok konu hakkında bilgiler verecektir. Ayrıca son yıllarda görülen, pekçok insanın ölümüne sebep olan, yine koronavirüs ailesine ait iki virüs türünün meydana getirdiği SARS-CoV ve MERS-CoV hastalıklarıyla ilişkisini ortaya koyacaktır.

Koronavirüslerin Sınıflandırmaları

Koronavirüsler *Coronaviridae* ailesine ait *Arteriviridae*, *Mesoniviridae* ve *Roniviridae* alt ailelerini içeren *Nidovirales* sınıfının en büyük virüs grubudur. *Nidovirales* sınıfındaki tüm virüsler zarflı ve pozitif-duyarlı RNA virüsleridir. Hepsi RNA virüsleri için çok büyük genomlar içerir, bazı virüsler en büyük tanımlanmış RNA genomlarına sahiptir ve 33,5 kilobaz (kb) genom içerir. Nidovirus familyaları arasındaki en büyük farklılıklar yapısal proteinlerin sayısı, tipi ve büyüklüğüdür. Bu farklılıklar, nükleokapsidlerin ve virionların yapısında ve morfolojisinde önemli değişikliklere neden olur. *Coronavirinae* ayrıca dört cins

(alfa, beta, gama ve delta) ayrılır. Koronavirüsler, isimlerini virion etrafında bir koronal saçak oluşturan çıkıntılı glikoprotein (S), çıkıntılı oligomerlerinden alırlar. Nükleoprotein molekülleri (N) ve pozitif iplikçikli genom, ribonükleoprotein (RNP) çekirdeğini içerir. Viral membran ana bileşeni, virüs için gerekli olan üç geçişli transmembran matris glikoproteindir (M) (Fehr ve Perlman, 2015).

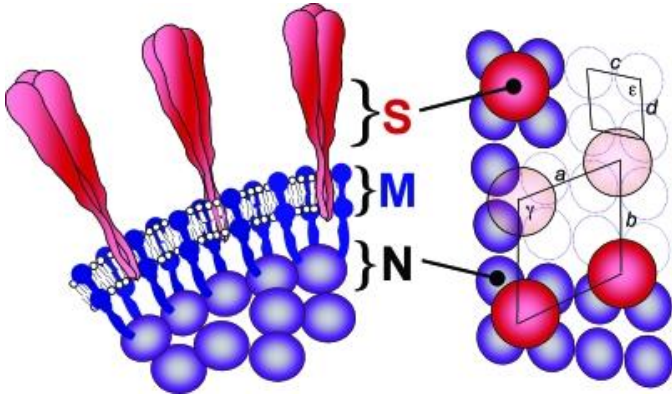
Genomik Organizasyon

Koronavirüsler, ~ 30 kb'lık segmentsiz ve pozitif tek iplikli bir RNA genomu içerir. Genom, 3' poli (A) kuyruğu ile birlikte 5' kapaklı bir yapı içerir, bu da replikaz poliproteinlerin translasyonu için bir mRNA olarak hareket etmesini sağlar. Yapısal olmayan proteinleri (nsps) kodlayan replikaz geni, sadece 10 kb viral genomu oluşturan yapısal ve yardımcı proteinlerin aksine, genomun üçte ikisini, yaklaşık 20 kb'yi işgal eder. Genomun 5' ucu, RNA replikasyonu ve transkripsiyonu için gerekli olan çok sayıda kök ilmek yapısı içeren bir lider sekans ve translasyona uğramamış bölge (UTR) içerir. Ek olarak, her bir yapısal veya yardımcı genin başlangıcında, bu genlerin her birinin ekspresyonu için gerekli transkripsiyonel düzenleyici diziler (TRS'ler) bulunur (Zhao ve ark., 2012).

Virion Yapı

Koronavirüs virionları, kriyo-elektron tomografisi ve kriyo-elektron mikroskopisi ile yapılan son çalışmalarda gösterildiği gibi yaklaşık 125 nm çapında ve küreseldir (Barcena ve ark., 2009; Neuman ve ark., 2006). Koronavirüslerin en belirgin özelliği, virion yüzeyinden çıkan başak şeklindeki çıkıntılardır. Bu çıkıntı, virionun tanımlayıcı bir özelliğidir ve onlara güneş korona görünümünü vererek, koronavirüs adını verir. Virion zarfında nükleokapsid bulunur. Koronavirüs partikülleri dört ana yapısal protein içerir. Bunlar başak (S), membran (M), zarf (E) ve nükleokapsid (N) proteinlerdir, bunların hepsi viral genomun 3' ucunda kodlanmıştır (Fehr ve ark., 2015; Delmas ve Laude, 1990; Bosch ve ark., 2003) ve konukçu reseptöre bağlanmaya aracılık eder (Collins, 1982). Başak (S) proteini içeren çoğu koronavirüs, konak hücre ait furin benzeri proteaz ile S1 ve S2 olarak belirtilen iki ayrı polipeptide ayrılır (Abraham ve ark., 1990; Luytjes ve ark., 1987). S1, S proteininin geniş reseptör bağlanma alanını oluşturur, S2 ise başak molekülünün sapını oluşturur (DeGroot, 1987). M proteini, viriondaki en bol

bulunan yapısal proteindir. Transmembran alanı olan küçük (~ 25-30 kDa) bir proteindir (Armstrong ve ark., 1984). Viriona şeklini verir ve membran eğriliğini desteklemesinin yanı sıra nükleokapsite bağlanmasına izin veren iki farklı konformasyonu vardır (Neuman ve ark., 2011). E proteini, virion içinde küçük miktarlarda bulunur. Korona virüs E proteinleri oldukça farklıdır, ancak ortak bir mimariye sahiptirler (Godet ve ark., 1992). E proteininin membran topolojisi tamamen çözülmemiştir ancak çoğu veri bunun bir zar ötesi protein olduğunu göstermektedir. E proteininden yoksun rekombinant virüsler her zaman öldürücü değildir, ancak bu virüs tipine bağımlıdır (DeDiego ve ark., 2007). E proteini virüsün toplanmasını ve salınmasını kolaylaştırır (Nieto-Torres ve ark., 2014). N proteini, nükleokapsidde bulunan tek proteini oluşturur. Her ikisi de RNA'yı in vitro bağlayabilen iki ayrı alandan oluşur, ancak her alan RNA'yı bağlamak için farklı mekanizmalar kullanır. Optimal RNA bağlanması için her iki alandan da katkı gerektirdiği öne sürülmüştür (Chang ve ark., 2006; Hurst, 2009). Beşinci bir yapısal protein olan hemagglutinin-esteraz (HE), β -koronavirüslerin bir alt grubunda bulunur. Protein hemagglutinin gibi davranır, siyalik asitleri yüzey glikoproteinlerine bağlar ve asetil-esteraz aktivitesi içerir (Klauegger ve ark., 1999). Bu aktivitelerin S protein aracılı hücre girişini ve mukozaya yayılan virüsü arttırdığı düşünülmektedir (Cornelissen ve ark., 1997).



Şekil 1. Koronavirüsün virion yapısı: Trimerik sivri uçlar (S) kırmızı, zar proteinleri (M) koyu mavi, nükleoproteinler (N) mor renktedir. S trimerlerin kafeslerinin boyutları ($a = 14.0$ nm, $b = 15.0$ nm, $\gamma = 100^\circ$) ve RNP moleküllerinin ($c = 6.0$ nm, $d = 7.5$ nm, $^\circ = 100^\circ$) (Neuman ve ark., 2006).

Koronavirüslerin Yaşam Döngüsü

Hücreye Tutunması ve Girişi

Virionun konakçı hücreye ilk bağlanması, S proteini ve reseptörü arasındaki etkileşimlerle başlatılır. Bir koronavirüsün S proteininin S1 bölgesindeki reseptör

bağlanma bölgeleri (RBD), virüse bağlı olarak değişir, bazıları S1'in N terminalinde RBD'ye sahipken diğerleri (SARS-CoV) S1'in C ucunda RBD'ye sahiptir (Kubo ve ark., 1994; Cheng ve ark., 2004). S-protein-reseptör etkileşimi, bir koronavirüsün bir konakçı türü enfekte etmesi için birincil belirleyicidir ve ayrıca virüsün doku tropizmini yönetir. Birçok koronavirüs, peptidazları hücre reseptörleri olarak kullanır. Hücreye giriş, bu proteinlerin enzimatik alanının yokluğunda bile gerçekleştiği için peptidazların neden kullanıldığı belirsizdir. Reseptör bağlanmasının ardından, virüs daha sonra konakçı hücre sitosolüne erişmelidir. Bu genellikle S proteininin asite bağlı proteolitik bölünmesi ile bir katepsin, TMPRSS2 veya başka bir proteaz, ardından viral ve hücre zarlarının füzyonu ile gerçekleştirilir. S protein bölünmesi, proteinin S2 bölümü içinde iki bölgede meydana gelir; ilk bölge, S proteininin ve füzyon domenlerini ayırmak için önemlidir. İkinci bölge ise, füzyon peptidini ortaya çıkarmak için önemlidir. Füzyon genellikle asitlendirilmiş endozomlarda meydana gelir, S2'deki yarımla, membrana sokulan bir füzyon peptidini ortaya çıkarır, bunu S2'de iki heptad tekrarının bir anti-paralel altı sarmallı demet oluşturması izler. Bu demetin oluşumu, viral ve hücre zarlarının karıştırılmasına izin verir, bu da füzyona ve nihayetinde viral genomun sitoplazmaya salınmasına neden olur (Belouzard ve ark., 2009).

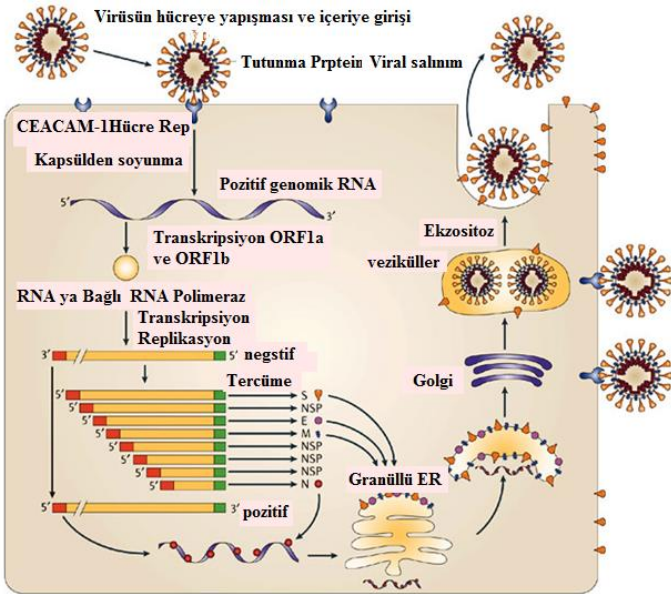
Replikaz Protein Ekspresyonu

Koronavirüs yaşam döngüsünde bir sonraki adım, replikaz geninin virion genomik RNA'sından translasyonudur. Her iki polipeptidi eksprese etmek için virüs, bir RNA psödoknotunu kullanır. Çoğu durumda, ribozom psödoknot yapıyı açar ve stop kodunu ile karşılaşana kadar çevirmeye devam eder (Baranov ve ark., 2005; Brierley ve ark., 1989). Koronavirüsler replikaz polipeptidlerini ayıran iki veya üç proteazı kodlar. Daha sonra, çoğu, RNA sentezi için uygun bir ortam oluşturmak için replikaz-transkriptaz kompleksine (RTC) birleştirilir ve sonuçta RNA replikasyonu ve sub-genomik RNA'ların transkripsiyonundan sorumlu olur, yapısal olan ve olmayan proteinleri üretilir (Snijder ve ark., 2003).

Çoğalma ve Transkripsiyon

Viral RNA sentezi, viral replikaz komplekslerinin translasyonunu ve montajını takip eder. Viral RNA sentezi hem genomik hem de alt genomik RNA'lar üretir (Şekil 2). Sub-genomik RNA'lar, replikaz polipeptidlerinin

aşağısında bulunan yapısal ve yardımcı genler için mRNA'lar olarak işlev görürler. Hem genomik hem de sub-genomik RNA'lar negatif iplikli ara ürünler yoluyla üretilirler. Bu negatif iplikli ara ürünler, pozitif anlamda muadillerinden sadece %1 kadar boldur ve hem poli-uridilat hem de anti-lider sekanslar içerir (Sethna ve ark., 1991). Bunun başlangıçta pozitif iplikçik sentezi sırasında meydana geldiği düşünülmeyle birlikte, büyük ölçüde negatif iplikçikli RNA'nın süresiz uzaması sırasında meydana geldiğine inanılmaktadır (Sawicki ve ark., 2007). Son olarak, koronavirüsler hem homolog hem de homolog olmayan rekombinasyonlar kullanan rekombinasyon yetenekleri ile bilinirler (Keck ve ark., 1987; Lai ve ark., 1985). Bu virüslerin rekombinasyon kabiliyeti değiştirme kabiliyetine bağlıdır. Rekombinasyon muhtemelen viral evrimde önemli bir rol oynamaktadır ve genomun 3' ucunda viral rekombinantları tasarlamak için kullanılan bir ters genetik araç olan hedeflenen RNA rekombinasyonunun temelidir (Krijnse-Locker ve ark., 1994).



Şekil 2. RNA-RNA ve RNA-Protein etkileşimi, virüsün replikasyonu ve transkripsiyonu (Isabel ve ark., 2011).

Montaj ve Yayın

Replikasyon ve sub-genomik RNA sentezini takiben, viral yapısal proteinler (S, E ve M) çevrilir ve endoplazmik retikulum (ER) içine yerleştirilir. Bu proteinler, salgı yolu boyunca ER tarafından olgun virionlar oluşturan, viral yapısal proteinler içeren ERGIC zarlarına kapsüllenmiş viral genomlardır. Koronavirüs montajı, matris (M) proteininin başak (S), nükleokapsid (N) ve zarf (E)

proteinleri ile türe özgü etkileşimlerin aracılık ettiği endoplazmik retikulum-golgi ara bölmesinin membranlarında lokalizedir. Bununla birlikte, virion içindeki N'nin detaylı moleküler yapısı diğer proteinlerle arasındaki etkileşimi bilinmemektedir. Koronavirüslerin erken elektron mikroskobu çalışmaları, koronavirüs RNP'lerinin 9-16 nm çapında ve yaklaşık 3-4 nm'lik içi boş bir iç kısımdan oluşan sarmal bobinler olduğunu göstermiştir (DeHaan ve Rottier, 2005). M proteini, koronavirüslerin birleştirilmesi için gerekli olan protein-protein etkileşimlerinin çoğunu yönlendirir (Bos ve ark., 1996). N proteini, kapsüllenmiş genomların içine füzyonunun viral sargıyı geliştirdiğini düşündüren VLP oluşumunu artırır (Siu ve ark., 2008). S proteini bu aşamada virionlara dahil edilir, ancak montaj için gerekli değildir. S proteininin M proteini ile etkileşime girme yeteneği virionlara katılması için kritiktir. M proteini nispeten bol olmakla birlikte, E proteini virionda sadece az miktarlarda bulunur. Bu nedenle, M protein etkileşimlerinin zarf olgunlaşması için itici güç sağlaması muhtemeldir. E proteininin virionun montajında M proteinine nasıl yardımcı olduğu bilinmemektedir ve bu konuda çeşitli olasılıklar vardır (Boscarino ve ark., 2008). E proteininin, konakçı salgı yolunu değiştirerek viral salgının artırılmasında ayrı bir rolü olabilir (Ye ve Hogue, 2007). M proteini ayrıca nükleokapsite bağlanır ve bu etkileşim virion düzenine tamamlanmasını destekler (Hurst ve ark., 2005). Montajın ardından virionlar veziküllerde hücre yüzeyine taşınır ve ekzositoz ile salınır. Virionların büyük yükün Golgi'den taşınması için geleneksel yolu kullanıp kullanmadığı veya virüsün kendi çıkışı için ayrı, benzersiz bir yolu yönlendirip yönlendirmediği bilinmemektedir. Birkaç koronavirüste virionlara birleştirilmeyen S proteini, enfekte hücreler ve enfekte olmamış hücreler arasındaki hücre-hücre füzyonuna aracılık ettiği hücre yüzeyine geçer. Bu, virüsün, virüse özgü antikorlar tarafından tespit edilmeden veya nötralize edilmeden enfekte olmuş bir organizma içinde yayılmasına izin veren dev, çok çekirdekli hücrelerin oluşumuna yol açar (Corti ve ark., 2015).

Patogenezi

Hayvan Koronavirüsleri

İnsanlarda görülen çeşitli zoonotik yayılma enfeksiyonları veya salgınları, ara konakçıların da katılımıyla çok evreli virüs türlerini analiz ederken ekstra karmaşıklık yaratır. Doğal konakçı, hiçbir belirti vermeksizin etkenleri taşıyan

ve saçılmasına olanak sağlayan konaktır. Virüsün ara konakçılarda uzun süreli endemi oluşturduğu durumlarda, ara konakçı doğal konakçı haline gelebilir. Primordial yani başlangıçta varolan konakçıda ve ara konakçıda bulunan virüslerin her ikisi de aynı türe ait olabilir. Kaynak etkilerinin netliği için, zoonotik iletim süreçlerindeki kaynak türlerine zoonotik kaynaklar olarak değinilir (Eaton ve ark., 2006). Ara konaklar, sadece türler arasındaki temas boşluklarını kapattıkları için değil, aynı zamanda virüsü bulaşabilir hale getirebildikleri için konaklar için zoonotik kaynak olabilirler (Corman ve ark., 2014). Benzer şekilde kompleks memeli konakçı grupları da mevcuttur. Koronavirüsler domuzlarda, ineklerde, tavuklarda, köpeklerde ve kedilerde ciddi hastalıklara neden olurlar. Sığır CoV, Sıçan CoV ve Bulaşıcı Bronşit Virüsü (IBV), sığırlarda, sıçanlarda ve tavuklarda sırasıyla hafif ila şiddetli solunum yolu enfeksiyonlarına neden olmaktadır. Sığır CoV, sığır endüstrisinde önemli kayıplara neden olur ve ayrıca geyik ve develer de dahil olmak üzere çeşitli ruminantları enfekte eder. Şiddetli solunum yolu hastalıklarına ek olarak virüs hayvanlarda ishale, kilo kaybına, dehidrasyona, süt üretiminin azalmasına ve depresyona neden olur (Hurst ve ark., 2005). Bir γ -koronavirüs olan bazı IBV suşları, böbrek hastalığına neden olan tavukların ürogenital yolunu da etkilemektedir. Üreme sisteminin IBV ile enfeksiyonu, yumurta üretimini önemli ölçüde azaltır ve her yıl yumurta üretimi endüstrisinde önemli kayıplara neden olur (Hurst ve ark., 2005). En çok incelenen hayvan koronavirüsü ise, farelerde solunum, enterik, hepatik ve nörolojik enfeksiyonlar dahil olmak üzere çeşitli sonuçlara neden olan murin hepatit virüsüdür (MHV).

İnsan Koronavirüsleri

1960 yıllarından itibaren günümüze kadar altı farklı koronavirüs tanımlanmıştır. Bunlar sırasıyla HCoV-229E, HCoV-OC43, SARS-CoV, HCoV-NL63, HCoV-HKU1 ve MERS-CoV'dur. SARS-CoV salgını öncesinde, koronavirüsler insanlarda sadece hafif, solunum yolu enfeksiyonlarına neden olurdu ve ölümcül değillerdi. Ancak daha sonra virüslerin mutasyona uğrayarak ölümcül olduğu düşünülmektedir. Bu virüslerden özellikle SARS-CoV, MERS-CoV ve günümüzde yeni tanımlanmış olan COVID-19 oldukça tehlikeli olan koronavirüslerdir (Monto, 1984).

İnsan koronavirüslerinden HCoV-229E ve HCoV-NL63 a-koronavirüsler, HCoV-OC43 ve HCoV-HKU1 ise β -koronavirüslerdir. Bu virüsler insan

populasyonlarında endemiktir ve her yıl solunum yolu enfeksiyonlarının %15-30'una neden olurlar. Yenidoğanlarda, yaşlılarda ve kronik hastalıkları olan bireylerde daha ciddi seyrederek.

Aynı yerden farklı yıllarda izole edilmiş HCoV-229E ve HCoV-OC43 izolatları birbirinden önemli genetik farklılık göstermektedir. Bu muhtemelen HCoV-229E'nin fareleri enfekte etmek için tür bariyerini geçememesini açıklarken, HCoV-OC43'ün yakın ilişkili sığır koronavirüsünün (BCoV) ise farelere ve birkaç geviş getiren türe bulaşabildiğini göstermektedir (Monto, 1984).

Grup 2b co-koronavirüs olan SARS-CoV, 2002-2003 yılında ortaya çıkmış, 8.098 vaka meydana gelmiş ve 774 ölümlerle (ölüm oranını %9) sonuçlanmıştır. Bu ölümlerin yaklaşık %50'sini 60 yaşın üzerindeki bireyler oluşturmaktadır (Guan ve ark., 2003). Bununla birlikte, Çin'de bulunan bir yarasa türünün SARS ile ilişkili çok sayıda CoV dizileri içerdiği ve daha önce geçirilmiş bir enfeksiyon için serolojik kanıt içerdiğinden yarasa kaynaklı SARS-CoV'nin yaygın olduğu kabul görmektedir (Lau, 2005; Li, 2005). Aslında, yakın zamanda SARS-CoV ile bugüne kadar tanımlanan diğer virüslerden daha fazla benzer iki yeni yarasa SARS ile ilişkili CoV olarak tanımlanmıştır (Ge ve ark., 2013). Ayrıca, insan virüsü ile aynı reseptörü, anjiyotensin dönüştürücü enzim 2'yi (ACE2) kullandıkları ve SARS-CoV'un yarasalardan kaynaklandığına dair daha fazla kanıt sağladıkları bulunmuştur. Deniz ürünleri ve diğer hayvan pazarlarındaki bazı insanların salgından önce SARS-CoV enfeksiyonu serolojik kanıtı olmasına rağmen, bu bireylerde belirgin bir semptom yoktu (Peiris ve ark., 2003a). Bu nedenle, bir dizi faktörün daha büyük popülasyona yayılmasını kolaylaştırmadan önce, hayvan pazarlarında birkaç yıl boyunca dolaşan yakından ilişkili bir virüsün olması muhtemeldir. SARS-CoV hastalığın başlamasından hemen sonra enfekte kişilerle doğrudan temas yoluyla yayılmaktadır ve 2-7 gün kuluçka süresi vardır (Peiris ve ark., 2003b). Bu yüzden salgın karantinaya alma yoluyla kontrol edilebilmiştir. Salgının Haziran 2003'te kontrol edilmesinden sonra çok az sayıda SARS vakası meydana gelmiştir.

SARS-CoV öncelikle akciğerdeki epitel hücrelerini enfekte eder. Virüs makrofajlara ve dendritik hücrelere girebilir ancak düşük enfeksiyona yol açar (Peiris ve ark., 2003; Spiegel ve ark., 2006). Buna rağmen, bu hücre tiplerinin enfeksiyonu, hastalığa katkıda bulunabilecek pro-enflamatuvar sitokinlerin uyarılmasında önemli olabilmektedir (Law ve ark., 2005). Aslında, bu hücre

tipleri tarafından birçok sitokin ve kemokin üretilir ve SARS-CoV ile enfekte hastaların serumunda artar (Lau ve Peiris, 2005). Akciğer hasarının mekanizması ve insanlarda meydana gelen ciddi hastalığın kesin nedeni henüz belirlenmemiştir. Viral titreler, hem insanlarda hem de hastalığın çeşitli hayvan modellerinde şiddetli hastalık geliştiğinde azalmaktadır. Ayrıca, SARS-CoV suşları ile enfekte olmuş hayvanlarda, hastalık şiddetinde yaşa bağlı bir artış da görülmüş bu da insanda görülen hastalığa benzer klinik özellikler gösterdiğini kanıtlamıştır (Roberts ve ark., 2005).

SARS-CoV salgını 2003'te kontrol altına alınmışken, 2012 yılında Orta Doğu'da yeni bir insan CoV vakası ortaya çıkmıştır. MERS-CoV olarak adlandırılan bu virüs, Suudi Arabistan ve Orta Doğu'daki diğer ülkelerde yüksek derecede patojenik solunum yolu enfeksiyonuna sebep olmuştur (Van Boohemen ve ark., 2012). MERS-CoV, önceden tanımlanmış iki yarası koronavirüsü olan HKU4 ve HKU5 ile yüksek oranda ilişkili bir grup olan bir 2c β -koronavirüstür (Zhao ve ark., 2011). Virüsün yarasalardan kaynaklandığı ancak insanların yarasalara nadiren temas ettiğinden muhtemelen başka bir ara konakçıya sahip olduğu düşünülmektedir. Serolojik çalışmalar, Ortadoğu'daki dromedary develerde MERS-CoV antikorlarının varlığını göstermiştir (Zaki ve ark., 2012) ve dromedary develerin doğal konakçı olabileceğine dair kanıtlar sağlayan MERS-CoV replikasyonuna (Van ve ark., 2012) izin veren hücre hatlarının olduğu bulunmuştur. Bunun için daha ikna edici kanıtlar, Suudi Arabistan'da hem develerde hem de insan vakalarında neredeyse aynı MERS-CoV'leri tanımlayan çalışmalarda gösterilmiştir (Meyer ve ark., 2014; Eckerle ve ark., 2014). Bu çalışmalardan birinde bir insan enfekte bir deveye doğrudan temas etmiş ve bu hastadan izole edilen virüs incelendiğinde deveden izole edilen virüsle aynı olarak bulunmuştur (Memish ve ark., 2013). Günümüzde, insandan insana bulaşmanın aksine kaç tane MERS-CoV vakasının bir ara konakçıya atfedilebileceği henüz belirlenmemiştir. Ayrıca insandan deveye yayılmanın salgına katkıda bulunduğu varsayılmıştır.

MERS-CoV, reseptörü olarak Dipeptidil peptidaz 4'ü (DPP4) kullanır (Raj ve ark., 2013). Virüs, enfeksiyon oluşturmak için sadece yarasalar, insanlar, develer, tavşanlar ve atlar gibi belirli türlerin reseptörlerini kullanabilir. Ne yazık ki araştırmacılar için virüs, DPP4'ün yapısındaki farklılıklar nedeniyle fare hücrelerini enfekte edemez ve bu da potansiyel aşılardan veya antivirallerin

değerlendirilmesini zorlaştırır. Son zamanlarda, insan DPP4 genini fare akciğerlerine sokmak için bir Adenoviral vektör kullanılarak MERS-CoV için küçük bir hayvan modeli geliştirilmiştir (Zhao ve ark., 2014). Bu model, adenoviral transdüksiyonlara duyarlı herhangi bir hayvanda MERS-CoV için terapötik müdahalenin ve yeni aşılardan test edilmesini mümkün kılmaktadır.

Tanı, Tedavi ve Önlenmesi

Hastalığın tanısı bazı klinik ve veterinerlik ortamlarında veya bir etiyolojik ajanın tanımlanması için yapılan epidemiyolojik çalışmalar için oldukça önemlidir. Vakaların tanımlanması, salgınları kontrol etmek için halk sağlığı önlemlerinin geliştirilmesine rehberlik edecektir. Bu patojenleri kontrol etmek ve gıda kaynaklarını korumak için PEDV ve IBV gibi ciddi hayvansal CoV kaynaklı hastalık vakalarını teşhis etmek de önemlidir. Günümüzde multipleks gerçek zamanlı RT-PCR analizleri geliştirildiğinden, RT-PCR, insan CoV tanısı için en çok tercih edilen yöntem haline gelmiştir (Emery ve ark., 2004; Gaunt ve ark., 2010) ayrıca klinik olarak şüpheli vakalardan nazofarengeal ve/veya boğaz sürüntüsü alınır (Gaunt ve ark., 2010). SARS-CoV-2 enfeksiyonlarında şüpheli vakalar tanımlanırken epidemiyolojik öykü ve klinik bulgular beraber değerlendirilir. Şüpheli veya kesin vakalarda akciğer grafisi alınmaktadır. Toraks bilgisayarlı tomografisi (BT) gerekli durumlarda istenebilir. Akciğer görüntülerinde bilateral yamalı, nodüler alanlar, buzlu-cam görüntüsü ve/veya akciğerin orta veya perifer bölgesinde infiltrasyon alanları görülürken, ağır vakalarda akciğerde deformasyon görülebilir. Serolojik analizler, RNA'nın izole edilmesinin zor olduğu durumlarda ve epidemiyolojik çalışmalar için önemlidir.

Bugüne kadar, insan koronavirüslerini spesifik olarak hedefleyen antiviral terapötikler bulunmamıştır, bu nedenle tedaviler sadece destekleyicidir. in vitro interferonlar (IFN'ler) koronavirüslere karşı sadece kısmen etkilidir (Cinatlı ve ark., 2003). Ribavirin ile kombinasyon halinde olan IFN'ler, bazı koronavirüslere karşı tek başına IFN'lere kıyasla in vitro artan aktiviteye sahipken; bu kombinasyonun in vivo etkinliği daha fazla değerlendirme gerektirmektedir (Stockman ve ark., 2006). SARS ve MERS salgınları bu virüsler üzerindeki araştırmaları teşvik etmiştir ve bu araştırmalar viral proteazlar, polimerazlar ve giriş proteinleri gibi çok sayıda uygun antiviral hedef belirlemiştir. Bununla birlikte, bu

süreçleri hedefleyen ve viral replikasyonu inhibe edebilen ilaçlar geliştirmek için önemli çalışmalar devam etmektedir. Koronavirüs enfeksiyonlarını önlemek için sadece sınırlı seçenekler mevcuttur. Aşılar sadece IBV, TGEV ve Canine CoV için onaylanmıştır, ancak bu aşılar her zaman kullanılamazlar, çünkü çok etkili olmadıkları veya bazı durumlarda rekombinasyon yoluyla yeni patojenik CoV'lerin meydana gelmesinde rol oynayacağı bildirilmiştir. SARS-CoV salgınında, birkaç potansiyel aşı geliştirilmiştir, ancak hiçbiri henüz kullanım için onaylanmamıştır. Bu aşılar arasında rekombinant zayıflatılmış virüsler, canlı virüs vektörleri veya DNA plazmidlerinden eksprese edilen ayrı viral proteinler bulunur. Alternatif olarak terapötik SARS-CoV nötralize edici antikorlar üretilmiştir ve bunlar başka bir SARS-CoV salgını durumunda tekrar elde edilebilir ve tekrar kullanılabilir haldedir. Bu antikorlar en çok sağlık çalışanlarını korumak için yararlı olacaktır. Genel olarak, canlı zayıflatılmış aşıların koronavirüslerin hedeflenmesinde en etkili yol olacağı düşünülmektedir. Bu, 1980'lerde Avrupa'da zayıflatılmış bir varyant olan PRCV'nin ortaya çıktığı TGEV örneğinde gösterilmiştir. Bu varyantla domuzlar TGEV'den tamamen korunmuş ya da hastalığı çok hafif geçirmişlerdir. Bu zayıflatılmış virüs ile son 30 yıl içinde Avrupa ve ABD'de ciddi TGEV vakalarının tekrar ortaya çıkması engellenmiştir. Bu sebeple canlı zayıflatılmış aşıların koronavirüsleri hedeflemede en etkili yol olacağı düşünülmektedir (Laude ve ark., 1993). Bu başarıya rağmen, koronavirüsler için aşı gelişimi birçok zorlukla karşı karşıyadır (Saif, 2004). Birincisi, mukozal enfeksiyonlar için, doğal enfeksiyon bir sonraki enfeksiyonu engelleyemez ve bu nedenle aşılar ya orijinal virüsten daha iyi bağışıklık uyandırmalı ya da en azından ikincil bir enfeksiyon sırasında ortaya çıkan hastalığı azaltmalıdır. İkincisi, virüslerin rekombinasyon eğilimi, aşının yararsız hale getirilmesi ve potansiyel olarak virüsün doğada evrimini ve çeşitliliğini artırarak bir sorun yaratabilir (Wang ve ark., 1993). Son olarak, S proteini ile aşılamanın hastalığın artmasına neden olduğu gösterilmiştir (Vennema ve ark., 1990).

Günümüzde dünya genelinde birçok farklı ülkede 200'ün üzerinde aşı çalışması yapılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü aşının kullanılabilir olması için %50'nin üzerinde koruyucu antikor etkisinin olması gerektiğini şart koşmuştur. Şuan klinik çalışmaları tamamlamak üzere olan ve sonuçları dünya sağlık örgütünün kriterlerine uyacak şekilde çalışmaları yürüten en etkili aşılarından bazıları şunlardır: Türkiye, SinoVac tarafından geliştirilen

CoronaVac aşısına acil kullanım onayı verdi (13 Ocak 2021), Moderna tarafından geliştirilen aday aşı, Britanya'da onaylanan üçüncü aşı oldu (8 Ocak 2021), Avrupa İlaç Ajansı, Moderna tarafından geliştirilen aday aşının onaylanması için tavsiye kararı aldı (6 Ocak 2021), Hindistan ve Arjantin, Oxford/AstraZeneca ortaklığında geliştirilen aday aşısını onayladı (3 Ocak 2021), Dünya Sağlık Örgütü Pfizer/BioNTech aşısına acil kullanım onayı verdiğini açıkladı. Böylece, COVID-19 aday aşısı Dünya Sağlık Örgütü tarafından onaylanan ilk aşı oldu (1 Ocak 2021), Çin, Sinopharm'ın COVID-19 aday aşısının ülkedeki genel kullanımını onayladığını açıkladı (31 Aralık 2020), Moderna tarafından geliştirilen aday aşının açıklanan faz 3 çalışmalarına göre aşı COVID-19 hastalığını önlemede yüzde 94,1 etkinlik gösterdi (30 Aralık 2020), Sinopharm tarafından geliştirilen aday aşının eni koronavirüs hastalığına karşı koruyucu etkinliği yüzde 79,34 olarak açıklandı (30 Aralık 2020), Britanya, Oxford/AstraZeneca ortaklığında geliştirilen aday aşısına acil kullanım izni verdi (30 Aralık 2020).

Enfeksiyon olasılığını azaltmak için önleyici tedbirler arasında evde kalmak, kalabalık yerlerden kaçınmak, sık sık ve en az 20 saniye boyunca elleri sabun ve suyla yıkamak, iyi solunum hijyeni uygulamak ve gözlere, burna veya ağıza yikanmamış ellerle dokunmaktan kaçınmaktır (Barclay ve ark., 2020; Wiles ve Siouxsie, 2020; CDC, 2020). Ayrıca, öksürürken veya hapsirirken ağzın ve burnun bir mendille kapatılması ve bunlar yoksa dirseğin iç kısmının kullanılmasını önerir (Barclay ve ark., 2020). Herhangi bir öksürük veya hapsirmeden sonra mutlaka uygun el hijyeni uygulanmalıdır (Barclay ve ark., 2020). Kısmen asemptomatik bireylerin enfekte kişilerle iletişimini sınırlamak için halka açık yerlerde maske kullanılması tavsiye etmiştir (WHO, 2020h).

COVID-19 virüsünün doğrudan getirdiği hastalık bulguların yanı sıra, bu virüs insanların psikolojik sağlığını da olumsuz yönde etkilemiştir. Pandemi kişilerde anksiyeteye, paniğe ve strese yol açmıştır.

Sosyal uzaklaştırma stratejileri, okulları ve işyerlerini kapatarak, seyahatleri kısıtlayarak ve büyük kamu toplantılarını iptal ederek enfekte kişilerin büyük gruplarla temasını azaltmayı amaçlamaktadır. Mesafeli kılavuzlar arasında ayrıca insanların birbirinden en az 1,8 m uzaklıkta kalmaları da yer almaktadır (CDC, 2020). Sosyal uzaklaşma ve evde kalma zorunluluğunun uygulanmasından sonra, birçok bölgede daha düşük bir bulaşma oranı görülmüştür. Bu da hastalığın bu bölgelerde remisyonda olduğu anlamına gelmektedir (Maragakis,

2020). Bu yolla bulaşma riski daha aza indirgenmiş, enfeksiyon oranında düşüş meydana gelmiş ve mevcut vakaların daha iyi tedavi görmesine imkan verilmiştir (Mitra ve ark., 2020; Barclay, 2020). COVID-19 teşhisi konan veya enfekte olabileceği ihtimali olan kişilere tıbbi bakım almak dışında evde kalmaları, bir sağlık uzmanını ziyaret etmeden önce aramaları, sağlık hizmeti sağlayıcısının ofisine girmeden önce yüz maskesi ve gerekli ekipmanları takmaları önerilir. Bu salgın süresince kişisel ev eşyalarını paylaşmaktan kaçınmak ve su ve sabun olmadığı durumlarda en az %60 alkol içeren bir el dezenfektanının kullanılması tavsiye edilir (Barclay ve ark., 2020; Staff, 2020; CDC, 2020). COVID-19 virüsünün doğrudan getirdiği hastalık bulguların yanı sıra, bu virüs insanların psikolojik sağlığını da olumsuz yönde etkilemiştir. Pandemi kişilerde anksiyeteye, paniğe ve strese yol açmıştır. Bu bağlamda, hem psikolojik sağlığımızı hem de immun sistemi güçlendirmek için dengeli beslenme, ağız sağlığı ve bakımı, yeterli egzersiz, aşırı yorgunluktan kaçınma gereklidir. Bağışıklığı güçlendirme, enfeksiyonu engelleme ve duygusal ve zihinsel sağlığı korumada en etkili yöntemdir.

Virüs ne kadar ölümcül

COVID-19 koronavirüsün ne kadar ölümcül olduğunu bilmek henüz zor olsa da ölüm oranı %1 den fazla olan mevsimsel gripten çok daha fazla olduğu görülmektedir. Çin'de onaylanmış 44.000'den fazla hastanın verileri yaklaşık 50 kişiden birinin öldüğünü yönündedir. Çalışmaya göre (World Health, 2020; Lu ve ark., 2020; Chen, 2019; Wang ve ark., 2020; DDS, 2020), yeni korona virüs ile enfekte hastaların %80'inde hastalık hafif, %14'ünde hastalık ciddi ve %5'inde ise kritik seyretmektedir.

COVID-19 patojeni enfekte olan insanların yaklaşık 3'te 1'ini öldüren MERS ve 10'da 1'ini öldüren SARS gibi diğer korona virüslerden daha az ölümcüldür. Tüm bu hastalıkların akciğer yüzeyindeki proteinlere tutunduğu görülmektedir. Çalışmalara göre (World Health, 2020; Lu, ve ark., 2020; Chen, 2019; Wang ve ark., 2020; DDS, 2020) MERS ve SARS akciğer dokusunda daha yıkıcı görünmektedir. Ancak patojenler, ölüm oranları düşük olsa bile çok tehlikeli olabilmektedirler.

Belirtilerin ortaya çıkması ne kadar sürer

Hastalık genellikle 2-7 gün arasında belirti vermeye başlar. Bir kişinin enfekte olduktan sonra semptomların

ortaya çıkması için geçen süre, hastalığı önleme ve kontrol için hayati önem taşır. Kuluçka dönemi olarak bilinen bu süre, sağlık görevlilerinin virüse maruz kalmış olabilecek kişileri karantinaya almalarına veya gözlemlenmelerine izin verir. Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezlerindeki yetkililer, yeni koronavirüsün 2 ila 14 günlük bir kuluçka süresi olduğunu tahmin etmektedir. Semptomlar ortaya çıkmaya başladığında ateş, öksürük ve nefes darlığı görülebilmektedir (WHO, 2020f, g; DDS, 2020).

Bir tedavi ve aşı geliştirmek ne kadar sürer

Aşı, viral enfeksiyonları önlemede en etkili yöntemdir. Yeni koronavirüs de dahil olmak üzere herhangi bir koronavirüs hastalığı için onaylanmış kesin bir tedavi yoktur. Amerika Birleşik Devletleri (ABD), İngiltere, Almanya, Çin ve diğer ülkelerde bazı antiviral ilaçlar ve aşı çalışmaları klinik testlerle geliştirmeye çalışılmaktadır. Ülkemiz ve diğer ülkelerde enfeksiyonu geçirenlerin plazmasından elde edilen antikorların tanısı kesinleşen ve/veya şüpheli olgulara verilimi (pasif immünizasyon), kısmi bir profilaksi veya tedavi yöntemi olarak kullanılmaya çalışılmaktadır. Ancak aşı çalışmaları zaman almaktadır (WHO, 2020f, g; DDS, 2020). 2003'teki SARS salgını sonrasında, araştırmacıların insan denemelerine hazır hale gelmeleri yaklaşık 20 ay sürmüştür.

Aşı nedir?

Mayıs 1796'da, küçük bir çocuğa, sığır çiçeği ile enfekte olmuş bir hastadan alınan iltihap aşılanaşılama öyküsü başlatıldı. O zamandan beri aşılara, çiçek hastalığı, kuduz ve çocuk felci gibi birçok viral hastalıkla mücadelede etkili oldu. Bununla birlikte, VADE fenomeni, RSV, DENV, SARS-CoV ve MERS-CoV dahil olmak üzere bazı virüsler için aşılarda geliştirilmesinde önemli engeller oluşturmuştur. Şu anda, COVID-19'un azalmayan yayılması, birçok ülkeyi kapsamlı bir güvenlik değerlendirmesi olmadan yerel aşı onayına koşturmuş sevk etti. SARS-CoV-2 gibi yüksek bulaşıcılığa sahip ancak düşük vaka ölüm oranına sahip virüsler için aşılarda, güvenlik için genellikle düşük bulaşıcılığa sahip ancak Ebola virüsü gibi ölüm vakası yüksek virüslere göre daha yüksek bir çita sahip olmalıdır, çünkü birçok sağlıklı birey onları kullanmak zorunda. 15 Temmuz 2020'de DSÖ, 150'den fazla ülkenin COVID-19 aşılarda dünya çapında hızlı, adil ve eşit erişimi garanti altına almak için tasarlanmış bir mekanizma olan COVID-19 Aşı Küresel Erişim (COVAX) girişiminde yer aldığını duyurdu139.

Bu, bir COVID-19 aşısının güvenlik çıtasını daha da yükseltiyor, çünkü yaş, cinsiyet, ırk ve yandaş hastalıkları olan veya olmayanlar ne olursa olsun dünyadaki tüm insanlar için güvenli olmalı. Bir COVID-19 aşısının advers reaksiyon oranı yalnızca %1 ise, tüm dünya nüfusu aşılanırsa yaklaşık 78 milyon kişi etkilenecektir. Bir COVID-19 aşısının advers reaksiyon oranı, küresel olarak dağıtılsa son derece düşük tutulmalıdır. Farklı hayvan modellerinde ve klinik denemelerde kapsamlı güvenlik değerlendirmesi ve antijenlerin ve adjuvanların rasyonel tasarımı, VADE insidansının düşmesine katkıda bulunacaktır.

Şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs 2'nin (SARS-CoV-2) hızla yayılması, bir COVID-19 aşısı geliştirmeyi amaçlayan eşit derecede hızlı bir yanıt ortaya çıkardı. Bu çabalar cesaret vericidir; ancak, kapsamlı etkinlik ve güvenlik değerlendirmeleri bir aşının geliştirilmesinde gereklidir ve önceki aşı geliştirme kampanyalarından öğrenebiliriz. Bu Perspektifte, sağlam bir güvenlik ve etkinlik profilinin önemini vurgulayan solunum sinsitiyal virüsü, dang virüsü, SARS-CoV ve Orta Doğu solunum sendromu koronavirüsüne karşı aşı geliştirme tarihinde aşı ile ilişkili hastalık geliştirme örneklerini özetliyoruz ve COVID-19 aşı adaylarının prelinik ve klinik değerlendirmesinin yanı sıra aşı tasarımı ve optimizasyonu için öneriler sunar.

Bir aşının içeriği nelerdir?

Aşılar, hastalığa neden olan organizmanın küçük parçalarını veya küçük parçaların yapım planlarını içerir. Aşırı güvenli ve etkili tutmak için başka bileşenler de içerirler. Bu son bileşenler çoğu aşırı dahildir ve onlarca yıldır milyarlarca doz aşı olarak kullanılmaktadır. Her aşı bileşeni belirli bir amaca hizmet eder ve her bileşen üretim sürecinde test edilir. Tüm içerikler güvenlik açısından test edilmiştir.

Antijen

Tüm aşılar, bir bağışıklık tepkisi oluşturan aktif bir bileşen (antijen) veya aktif bileşeni yapmak için bir plan içerir. Antijen, bir protein veya şeker gibi hastalığa neden olan organizmanın küçük bir parçası olabilir veya zayıflatılmış veya inaktif bir formda tüm organizma olabilir.

Koruyucular

Koruyucular, birden fazla kişinin aşılmasında kullanılacaksa, flakon açıldıktan sonra aşının kontamine olmasını engeller. Bazı aşıların koruyucuları yoktur çünkü

bu tek dozluk şişelerde saklanır ve tek doz uygulandıktan sonra atılır. En yaygın kullanılan koruyucu 2-fenoksietanol'dür. Yıllardır bir dizi aşıda kullanılmıştır, çeşitli bebek bakım ürünlerinde kullanılmaktadır ve insanlarda çok az toksisiteye sahip olduğu için aşılar için güvenlidir.

Stabilizatörler

Stabilizatörler, aşı içinde kimyasal reaksiyonların oluşmasını önler ve aşı bileşenlerinin aşı şişesine yapışmasını engeller. Stabilizatörler şekerler (laktöz, sukroz), amino asitler (glisin), jelatin ve proteinler (mayadan türetilen rekombinant insan albümini) olabilir.

Sümfaktanlar

Sümfaktanlar, aşındaki tüm bileşenleri bir arada harmanlayarak tutar. Aşının sıvı halindeki elementlerin çökmesini ve kümelenmesini önler. Dondurma gibi yiyeceklerde de sıklıkla kullanılırlar.

Artıklar

Kalıntılar, tamamlanmış aşının aktif bileşenleri olmayan aşıların üretimi veya üretimi sırasında kullanılan küçük miktarlarda çeşitli maddelerdir. Maddeler, kullanılan üretim sürecine bağlı olarak değişecektir ve yumurta proteinleri, maya veya antibiyotikleri içerebilir. Bir aşıda bulunabilecek bu maddelerin kalıntı izleri, milyonda parça veya milyarda parça olarak ölçülmeleri gereken kadar küçük miktarlardadır.

Seyreltici

Seyreltici, bir aşırı kullanımdan hemen önce doğru konsantrasyona seyreltmek için kullanılan bir sıvıdır. En yaygın kullanılan seyreltici steril sudur.

Adjuvan

Bazı aşılar ayrıca adjuvanlar içerir. Bir adjuvan, bazen aşırı enjeksiyon yerinde biraz daha uzun süre tutarak veya yerel bağışıklık hücrelerini uyararak, aşırı karşı bağışıklık tepkisini iyileştirir. Yardımcı madde, küçük miktarda alüminyum tuzu (alüminyum fosfat, alüminyum hidroksit veya potasyum alüminyum sülfat gibi) olabilir. Alüminyumun uzun vadeli sağlık sorunlarına neden olmadığı ve insanların yemek ve içme yoluyla düzenli olarak alüminyumu yediği gösterilmiştir.

Aşılar nasıl geliştirilir?

Aşıların çoğu on yıllardır kullanılmaktadır ve her yıl milyonlarca insan bunları güvenle almaktadır. Tüm ilaçlarda olduğu gibi, her aşı, bir ülkenin aşı programına sokulmadan önce güvenli olduğundan emin olmak için kapsamlı ve titiz testlerden geçmelidir. Geliştirilmekte olan her aşı, bir immün yanıtı tetiklemek için hangi antijenin kullanılması gerektiğini belirlemek için önce tarama ve değerlendirmeden geçmelidir. Bu klinik öncesi aşama, insanlar üzerinde test yapılmadan yapılır. Deneysel bir aşı, güvenliğini ve hastalığı önleme potansiyelini değerlendirmek için ilk olarak hayvanlarda test edilir.

Aşı bir bağışıklık tepkisini tetiklese, insan klinik deneylerinde üç aşamada test edilir.

Faz 1

Aşı, güvenliğini değerlendirmek, bağışıklık tepkisi oluşturduğunu doğrulamak ve doğru dozu belirlemek için az sayıda gönüllüye verilir. Genellikle bu aşamada aşılar genç, sağlıklı yetişkin gönüllülerde test edilir.

Faz 2

Aşı daha sonra güvenliğini ve bir bağışıklık tepkisi oluşturma yeteneğini daha fazla değerlendirmek için birkaç yüz gönüllüye verilir. Bu aşamadaki katılımcılar, aşının hedeflendiği kişilerle aynı özelliklere (yaş, cinsiyet gibi) sahiptir. Bu aşamada genellikle çeşitli yaş gruplarını ve farklı aşı formülasyonlarını değerlendirmek için birden fazla deneme vardır. Aşırı olmayan bir grup, aşılanan gruptaki değişikliklerin aşırıya mı atfedildiğini veya tesadüfen mi gerçekleştiğini belirlemek için genellikle bir karşılaştırma grubu olarak faza dahil edilir.

3. Aşama

Aşı daha sonra binlerce gönüllüye verilir ve aşırı olmayan ancak bir karşılaştırma ürünü alan benzer bir grup insanla karşılaştırıldığında aşının korumak için tasarlandığı hastalığa karşı etkili olup olmadığını belirlemek ve güvenliğini çok daha büyük bir grup insanda inceleyin. Aşı performansı bulgularının birçok farklı popülasyon için geçerli olduğundan emin olmak için çoğu zaman faz üç denemeleri birden çok ülkede ve bir ülke içindeki birden çok yerde yürütülür. İkinci aşama ve üçüncü aşama denemeleri sırasında, çalışmayı yürüten gönüllüler ve bilim adamları, test edilen aşırı veya karşılaştırıcı ürünü hangi gönüllülerin aldığını bilmekten korunurlar. Buna "körleme" adı verilir ve kimin hangi ürünü aldığını bilerek

güvenlik veya etkinlik değerlendirmelerinde ne gönüllülerin ne de bilim adamlarının etkilenmemesini sağlamak için gereklidir. Deneme bittikten ve tüm sonuçlar tamamlandıktan sonra, gönüllüler ve deney bilim adamları aşırıya kimin aldığı ve karşılaştırıcıyı kimin aldığı konusunda bilgilendirilir. Tüm bu klinik araştırmaların sonuçları mevcut olduğunda, düzenleyici ve halk sağlığı politikası onayları için etkinlik ve güvenliğin gözden geçirilmesi de dahil olmak üzere bir dizi adım gereklidir. Her ülkedeki yetkililer çalışma verilerini yakından inceler ve aşının kullanımına izin verip vermemeye karar verir. Bir aşının, onaylanıp ulusal bir aşılama programına dahil edilmesinden önce geniş bir popülasyonda güvenli ve etkili olduğu kanıtlanmalıdır. Aşı güvenliği ve etkinliği için çıta son derece yüksektir ve aşıların başka şekilde sağlıklı olan ve özellikle hastalıktan arınmış kişilere verildiğini kabul eder.

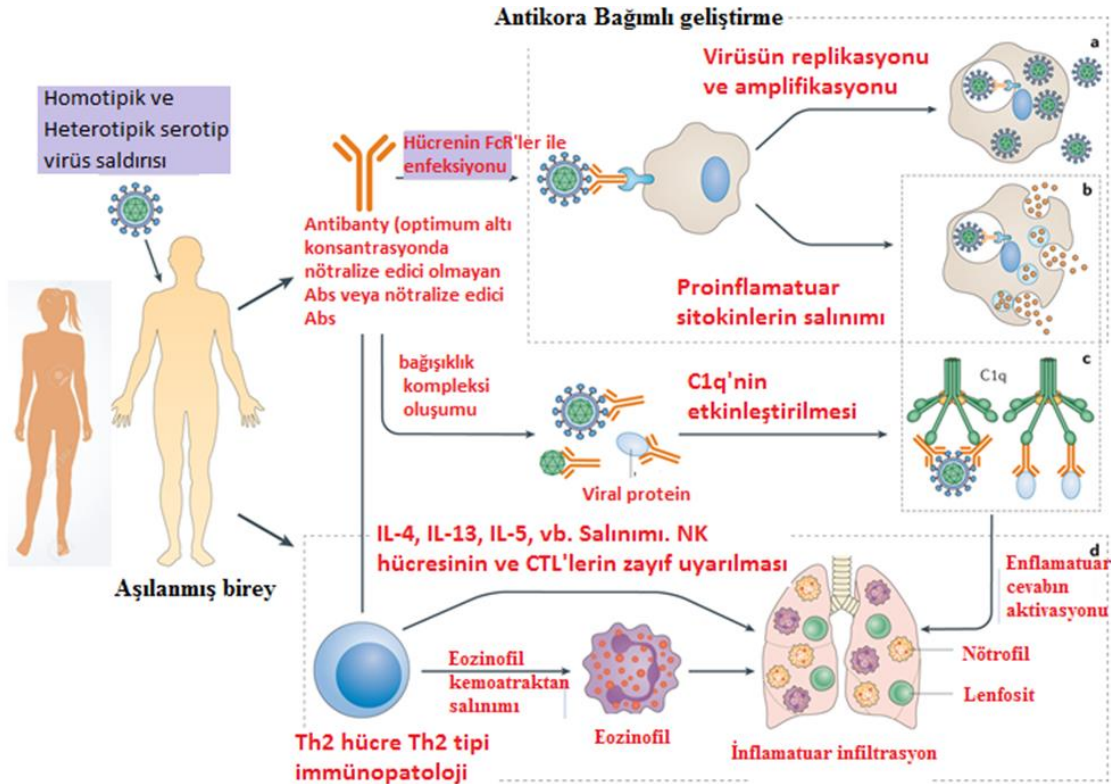
Aşı uygulandıktan sonra devam eden bir şekilde daha fazla izleme gerçekleştirilir. Tüm aşıların güvenliğini ve etkinliğini izleyen sistemler vardır. Bu, bilim insanlarının uzun bir süre boyunca çok sayıda insanda kullanılsa bile aşının etkisini ve güvenliğini takip etmesini sağlar. Bu veriler, etkilerini optimize etmek için aşı kullanımına yönelik politikaları ayarlamak için kullanılır ve ayrıca aşının kullanımı boyunca güvenli bir şekilde izlenmesine izin verir.

Aşılama, aşılanmış kişilerde humoral ve hücrel bağışıklık tepkisini uyarır. Normal durumda, homolog virüs aşılanmış bir vücuda girdiğinde, sırasıyla aşı ile indüklenen nötralize edici antikorlar (Abs) veya spesifik T hücreleri tarafından nötralize edilecek veya temizlenecektir. Aşı ile ilişkili hastalık geliştirme bağlamında, aşılar esas olarak nötrleştirici olmayan Ab'ler veya düşük nötralize edici Ab titreleri (optimum altı konsantrasyon) veya tip 2 T yardımcı hücre (TH2 hücresi) -yönlü T hücre yanıtını indükler. Aşılanan bu bireyler homotipik veya heterotipik serotip virüsleri ile tehdit edildiğinde, antikorlar virüsleri hemen tanıyacak ve iki yolla antikora bağlı hastalık alevlenmesine aracılık edecektir. İlk olarak, virüs-antikor kompleksleri, dendritik hücreler ve monositler gibi Fc reseptörünü (FcR) taşıyan hücrelere, antikora bağlı geliştirme (ADE) olarak adlandırılan FcR aracılı içselleştirme yoluyla girebilir. Dang virüsü gibi FcR taşıyan hücrelere yönelik doğal tropizmi olan virüsler için ADE, antikor içermeyen koşullara göre daha yüksek viral yüklerle neden olacaktır.

- a: Virüs girdikten sonra, replike olsun veya olmasın, zararlı bir bağışıklık tepkisini aktive ederek proinflamatuvar sitokinlerin salınmasına neden olabilir.
- b: ADE'nin yanı sıra, antikor-antijen kompleksleri, C1q yolağının aktivasyonu yoluyla kompleman yolunu uyarabilir, böylece enflamatuvar tepkileri daha da güçlendirebilir.
- c: Aşı ile ilişkili hastalık geliştirme aynı zamanda bir TH2 hücre taraflı bağışıklık tepkisini de içerebilir. Aktive edilmiş TH2 hücreleri, antikor üretiminin aktivasyonuna katkıda bulunur. Bununla birlikte, interlökin-4 (IL-4), IL-13 ve IL-5'in yanı sıra eozinofil

kemoatraktan salgırlar, böylece akciğerde eozinofil infiltrasyonu ve proinflamatuvar sitokin üretimi ile sonuçlanırlar.

- d: Doğal öldürücü (NK) hücreler ve CD8 + sitotoksik T lenfositleri (CTL'ler), TH2 hücre çarpık bağışıklık yanıtlarında zayıf bir şekilde uyarılır. Abartılı sitokin salınımı (bölüm b), kompleman yolunun aktivasyonu (bölüm c) ve eozinofillerin aşırı mobilizasyonu, akciğerin eozinofiller, nötrofiller ve lenfositler tarafından infiltrasyonuna ve inflamatuvar sitokinlerin (bölüm d) üretimine katkıda bulunur.



Şekil 3. Aşının ve aşılanmanın Koronavirüs üzerine etkisi (Shan Su ve ark., 2020).

Sonuç

Son 50 yılda çok çeşitli insan ve hayvan hastalıklarına neden olan birçok farklı koronavirüs ortaya çıkmıştır. Bu virüslerin, birden fazla türü ve hücre tipini yeniden kombine etme, mutasyona uğratma ve enfekte etme yetenekleri nedeniyle hem insan hem de farklı hayvan salgınlarına neden olmaya, gelişmeye ve sürmeye devam etmesi muhtemeldir.

Koronavirüsler üzerine gelecekteki çalışmalar viral replikasyon ve patogenezin birçok yönünü araştırmaya devam edecektir. Birincisi, bu virüslerin türler arasında atlama, yeni bir konakta enfeksiyon oluşturma eğiliminin

anlaşılması ve önemli koronavirüs rezervuarlarının belirlenmesi, potansiyel salgınların ne zaman ve nerede ortaya çıkabileceğini tahmin etmeye önemli ölçüde yardımcı olacaktır. Özellikle yarasalar başta olmak üzere domuz, fare, inek ve birçok evcil hayvan bu virüsler için önemli bir rezervuar gibi görüldüklerinden, bu virüslerden nasıl ve hangi yollarla kaçınılacağını belirlemek ilginç olacaktır. İkincisi, bu virüsler tarafından kodlanan yapısal olmayan ve yardımcı proteinlerin birçoğunun bilinen bir işlevinin henüz ortaya çıkmaması ve bu proteinler için etki mekanizmalarını tanımlamanın yanı sıra viral replikasyon ve patogenezdaki rollerini

tanımlamak önemli olacaktır. Ayrıca virüsün farklı konaklarda oluşturduğu patogenezin bir enfeksiyondan sonra ikinci bir virülans etki oluşturması, konaktan konağa mutasyonlarının belirlenmesi gerekir. Virüsün hayvanlarda oluşturduğu patogeneze sonra hayvansal kan plazmalarının koruyucu özelliklerini farklı konaklarda test etmek önemli olacaktır.

Güncel verilere göre kesin tanı RT-PCR testleriyle konulmakta olup, tedavi üzerinde çalışmalar devam etmektedir. Bu virüsle mücadelede maske, mesafe ve hijyen kurallarına dikkat etmeli ve bağışıklık sistemini desteklemeliyiz.

Son olarak, koronavirüslerin hastalığa nasıl neden olduğunun mekanizmasını tanımlamak ve konakçı immünopatolojik yanıtı anlamak, bu hastalıktan kaçınmak için aşı ve ilaç tasarlama ayrıca hastalık semptomlarını azaltmak için çok önemli olacaktır.

Ethical Approval

The authors declare to no need to ethical approval.

Conflicts of Interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Funding Statement

The authors don't declare any fund.

Referanslar

Abraham, S., Kienzle, T. E., Lapps, W., & Brian, D. A. (1990). Deduced sequence of the bovine coronavirus spike protein and identification of the internal proteolytic cleavage site. *Virology*, 176, 296-301.

Armstrong, J., Niemann, H., Smeeckens, S., Rottier, P., & Warren, G. (1984). Sequence and topology of a model intracellular membrane protein, E1 glycoprotein, from a coronavirus. *Nature*, 308, 751-752.

Assiri, A., Al-Tawfiq, J. A., Al-Rabeeah, A., Al-Rabiah, F. A., Al-Hajjar, S., Al-Barrak, A., Flemban, H., Al-Nassir, W. N., Balkhy, H. H., Al-Hakeem, R. F., Makhdoom, H. Q., Zumla, A. I., & Memish, Z. A. (2013). Epidemiological, demographic, and clinical characteristics of 47 cases of Middle East respiratory syndrome coronavirus disease from Saudi Arabia, a descriptive study. *The Lancet Infectious Diseases*, 13, 752-761.

Baranov, P. V., Henderson, C. M., Anderson, C. B., Gesteland, R. F., Atkins, J. F., & Howard, M. T. (2005). Programmed ribosomal frameshifting in decoding the SARS-CoV genome. *Virology*, 332, 498-510.

Barcena, M., Oostergetel, G. T., Bartelink, W., Frank G. A. Faas, F. G. A., Verkleij, A., Rottier, P. J. M., Koster, A. J., & Bosch, B. J. (2009). Cryo-electron tomography of mouse hepatitis virus, insights into the structure of the coronavirus. *The Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106, 582-587.

Barclay, E. (2020). How canceled events and self-quarantines save lives, in one chart. <https://www.vox.com/2020/3/10/21171481/coronavirus-us-cases-quarantine-cancellation>

Barclay, E., Scott, D., & Animashaun, A. (2020). The US doesn't just need to flatten the curve. It needs to raise the line. <https://www.vox.com/2020/4/7/21201260/coronavirus-usa-chart-mask-shortage-ventilators-flatten-the-curve>

Beijing. (2020). Announcement from the Headquarter for novel coronavirus pneumonia prevention and control (No. 1) China National Health Commission, http://www.gov.cn/xinwen/2020-01/23/content_5471751.htm

Belouzard, S., Chu, V.C., & Whittaker, G.R. (2009). Activation of the SARS coronavirus spike protein via sequential proteolytic cleavage at two distinct sites. *The Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106, 5871-5876.

Bos, E. C., Luytjes, W., Van der Meulen, H. V., Koerten, H.K., & Spaan W. J. (1996). The production of recombinant infectious DI-particles of a murine coronavirus in the absence of helper virus. *Virology*, 218, 52-60.

Boscarino, J. A., Logan, H. L., Lacny, J. J., & Gallagher, T. M. (2008). Envelope protein palmitoylations are crucial for murine coronavirus assembly. *Journal of Virology*, 82, 2989-2999.

Bosch, B. J., Van der Zee, R., De Haan, C.A., & Rottier, P. J. M. (2003). The coronavirus spike protein is a class I virus fusion protein, structural and functional characterization of the fusion core complex. *Journal of Virology*, 77, 8801-8811.

Brierley, I., Digard, P., & Inglis, S.C. (1989). Characterization of an efficient coronavirus ribosomal frameshifting signal, requirement for an RNA pseudoknot. *Cell*, 57, 537-547.

CDC. (2020). Recommendation Regarding the Use of Cloth Face Coverings, Especially in Areas of Significant Community-Based Transmission. <https://www.stacksstacks.cdc.gov>

CDC. (2020). Centers for Disease Control and Prevention "What to Do if You Are Sick". Centers for Disease Control and Prevention (CDC). <https://www.cdc.gov>

CDC. (2020). Centers for Disease Control and Prevention First travel-related case of 2019 novel coronavirus detected in United States. Atlanta, GA, US Centers for Disease Control and Prevention, 2020. <https://www.cdc.gov/media/releases/2020/p0121-novel-coronavirus-travel-case.html>

- CDC. (2020). Centers for Disease Control Coronavirus Disease 2019 (COVID-19), Prevention & Treatment. <https://www.cdc.gov>
- Hsieh, C-M., Tsai, C-K., Chiang, Y-C., Lee, S., Hsiao, H., Wu, W-J., Chang, W-L., Lin, C-H., & Huang, T. (2006). Modular organization of SARS coronavirus nucleocapsid protein. *Journal of Biomedical Science*, 13, 59-72.
- Chaolin, H., Yeming, W., Xingwang, L., Lili, R., Jianping, Z., Yi H., Zhang, L., Fan, G., Xu, J., Gu, X., Cheng, Z., Yu, T., Xia, J., Wei, Y., Wu, W., Xie, X., Yin, W., Li, H., Liu, M., Xiao, Y., & Gao, H., et al. (2020). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*, 395, 497-506.
- Chen, C., Zhang, X. R., Ju, Z. Y., & He, W. F. (2020). Advances in the research of cytokine storm mechanism induced by Corona Virus Disease 2019 and the corresponding immunotherapies. *Zhonghua Shao Shang Za Zhi*, 36(6), 471-475.
- Cheng, P. K., Wong, D. A., Tong, L. K., Ip, S-M., Lo, A. C. T., Lau, S-C., Yeung, E. Y. H., & Lim, W. W. L. (2004). Viral shedding patterns of coronavirus in patients with probable severe acute respiratory syndrome. *The Lancet*, 363, 1699-1700.
- Cinatl, J., Morgenstern, B., Bauer, G., Chandra, P., Rabenau, H., & Doerr H. W. (2003). Treatment of SARS with human interferons. *The Lancet*, 362, 293-294.
- CNHC. (2020). China National Health Commission (CNHC) Update on the novel coronavirus pneumonia outbreak (Jan 24, 2020). Beijing, China National Health Commission, <http://www.nhc.gov.cn/xcs/yqfkdt/202001/c5da49c4c5bf4bcfb320ec2036480627.shtml>
- Collins, A. R., Knobler, R. L., Powell, H., & Buchmeier, M. J. (1982). Monoclonal antibodies to murine hepatitis virus-4 (strain JHM) define the viral glycoprotein responsible for attachment and cell-cell fusion. *Virology*, 119, 358-371.
- Corman, V. M., Baldwin, H. J., Tateno, A. F., Zerbinati, R. M., Annan, A., Owusu, M., Nkrumah, E. E., Maganga, G. D., Oppong, S., Adu-Sarkodie, Y., Vallo, P., da Silva Filho, L. V., Leroy, E. M., Thiel, V., van der Hoek, L., Poon, L. L., Tschapka, M., Drosten, C., & Drexler, J. F. (2014). Although all mammal CoVs may appear to be caused by bats (J.F. Drexler, V.M. Corman, C. Drosten Ecology, evolution and classification of bat coronaviruses in the aftermath of SARS *Antiviral Research*, 101, 45-56.
- Cornelissen, L. A., Wierda, C. M., Van der Meer, F. J., Herrewegh, A. A., Horzinek, M. C., Egberink, H. F., & de Groot, R. J. (1997). Hemagglutinin-esterase, a novel structural protein of torovirus. *Journal of Virology*, 71, 5277-5286.
- Corti, D., Zhao, J., Pedotti, M., Simonelli, L., Agnihothram, S., Fett, C., Fernandez-Rodriguez, B., Foglierini, M., Agatic, G., Vanzetta, F., Gopal, R., Langrish, C. L., Barrett, N. A., Sallusto, F., Baric, R. S., Varani, L., Zambon, M., Perlman, S., & Lanzavecchia, A. (2015). Prophylactic and postexposure efficacy of a potent human monoclonal antibody against MERS coronavirus. *The Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112, 10473-10478.
- DDS, via, CEIC. (2020). Travel volume data from International Air Transport Association China Railway Corporation, National Railway Administration and Civil Aviation Administration of China (accessed Jan 22, 2020).
- DeDiego, M. L., Alvarez, E., Almazan, F., Rejas, M. T., Lamirande, E., Roberts, A., Shieh, W-J., Zaki, S. R., Subbarao, K., & Enjuanes, L. (2007). A severe acute respiratory syndrome coronavirus that lacks the E gene is attenuated in vitro and in vivo. *Journal of Virology*, 81, 1701-1713
- DeGroot, R. J., Luytjes, W., & Horzinek, M. C., van der Zeijst, B. A. M., Spaan, W. J. M., & Lenstra, J.A. (1987). Evidence for a coiled-coil structure in the spike proteins of coronaviruses. *Journal of Molecular Biology*, 196, 963-966.
- DeHaan, C. A., & Rottier, P. J. (2005). Molecular interactions in the assembly of coronaviruses. *Advances in Virus Research*, 64, 165-230.
- Delmas, B., & Laude, H. (1990). Assembly of coronavirus spike protein into trimers and its role in epitope expression. *Journal of Virology*, 164, 5367-5375.
- Eaton, B. T., Broder, C. C., Middleton, D. J., & Wang, L. F. (2006). Hendra and Nipah viruses, different and dangerous *Nature Reviews Microbiology*, 4, 23-35.
- Eckerle, I., Corman, V.M., Muller, M.A., Lenk, M., Ulrich, R. G., & Drosten, C. (2014) Replicative capacity of MERS coronavirus in livestock cell lines. *Emerging Infectious Diseases*, 20, 276-279.
- Emery, S.L., Erdman D.D., Bowen M.D., Newton, B. R., Winchell, J. M., Meyer, R. F., Tong, S., Cook, B. T., Holloway, B. P., McCaustland, K. A., Rota, P. A., Bankamp, B., Lowe, L. E., Ksiazek, T. G., Bellini, W. J., & Anderson, L. J. (2004). Real-time reverse transcription-polymerase chain reaction assay for SARS-associated coronavirus. *Emerging Infectious Diseases*, 10, 311-316. [
- Fehr, A.R., & Perlman, S. (2015). Maier HJ, Bickerton E, Britton P (Edl.). An Overview of Their Replication and Pathogenesis; Section 2 Genomic Organization. *Methods in Molecular Biology. Springer. 1282, 1-23.*
- Gaunt, E. R, Hardie, A., Claas, E. C., Simmonds, P., Templeton, K. E. (2010). Epidemiology and clinical presentations of the four human coronaviruses 229E, HKU1, NL63, and OC43 detected over 3 years using a novel multiplex real-time PCR method. *Journal of Clinical Microbiology*, 48, 2940-2947.
- Ge, X.Y., Li, J. L., Yang, X. L., Chmura, A. A., Zhu, G., Epstein, J. H., Mazet, J. K., Zhang, W., Peng, C., Zhang, Y-

- J., Luo, C-M., Tan, B., Wang, N., Zhu, Y., Cramer, G., Zhang, S-Y., Wang, L-F., Daszak, P., & Shi, Z-L. (2013). Isolation and characterization of a bat SARS-like coronavirus that uses the ACE2 receptor. *Nature*, 503, 535-538.
- Godet, M.L., Haridon, R., Vautherot J.F., Laude, H. (1992). TGEV corona virus ORF4 encodes a membrane protein that is incorporated into virions. *Virology*, 188, 666-675.
- Grenfell, R., & Drew, T. (2020). Here's Why It's Taking So Long to Develop a Vaccine for the New Coronavirus. <https://www.sciencealert.com/who-says-a-coronavirus-vaccine-is-18-months-away>
- Guan, Y., Zheng, B.J., He, Y.Q., Liu, X. L., Zhuang, Z. X., Cheung, C. L., Luo, S. W., Li, P. H., Zhang, L. J., Guan, Y. J., Butt, K. M., Wong, K. L., Chan, K. W., Lim, W., Shortridge, K. F., Yuen, K. Y., Peiris, J. S. M. M., Poon, L. L. (2003). Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China. *Science*, 302, 276-278.
- Huang, C., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Zhao, J., Hu, Y., Zhang, L., Fan, G., Xu, J., Gu, X., Cheng, Z., Yu, T., Xia, J., Wei, Y., Wu, W., Xie, X., Yin, W., Li, H., Liu, M., Xiao, Y., & Gao, H. et al. (2020). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*, 395(10223), 497-506.
- Hurst, K. R., Koetzner, C. A., & Masters, P. S. (2009). Identification of in vivo-interacting domains of the murine coronavirus nucleocapsid protein. *Journal of Virology*, 83, 7221-7234.
- Hurst, K. R., Kuo, L., Koetzner, C. A., Ye, R., Hsue, B., Masters, P. S. (2005). A major determinant for membrane protein interaction localizes to the carboxy-terminal domain of the mouse coronavirus nucleocapsid protein. *Journal of Virology*, 79, 13285-13297.
- Isabel, S., Pedro, A., Mateos, G., Fernando, A., Sonia, Z., & Luis, E. (2011). RNA-RNA and RNA-protein interactions in coronavirus replication and transcription. *RNA Biology*, 8(2), 237-248.
- Keck, J.G., Makino, S., Soe, L.H., Fleming, J. O., Stohlman, S. A., & Lai M. M. (1987). RNA recombination of coronavirus. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 218, 99-107.
- Klauegger, A., Strobl, B., Regl, G., Kaser, A., Luytjes, W., & Vlasak, R. (1997). Identification of a coronavirus hemagglutinin-esterase with a substrate specificity different from those of influenza C virus and bovine coronavirus. *Journal of Virology*, 73, 3737-3743.
- Krijnse-Locker, J., Ericsson M., Rottier, P. J. M., & Griffiths, G. (1994). Characterization of the budding compartment of mouse hepatitis virus, evidence that transport from the RER to the Golgi complex requires only one vesicular transport step. *Journal of Cell Biology*, 124, 55-70.
- Kubo, H., Yamada, Y. K., & Taguchi, F. (1994). Localization of neutralizing epitopes and the receptor-binding site within the amino-terminal 330 amino acids of the murine coronavirus spike protein. *Journal of Virology*, 68, 5403-5410.
- Lai, M. M., Baric, R. S., Makino, S., Keck, J. G., Egbert, J., Leibowitz, J. L., & Stohlman, S. A. (1985). Recombination between nonsegmented RNA genomes of murine coronaviruses. *Journal of Virology*, 56, 449-456.
- Lau, S. K., Woo, P. C., Li, K. S., Huang, Y., Tsoi, Y. H-W., Wong, B. H. L., Wong, S. S. Y., Leung, S-Y., Chan, K-H., & Yuen, K-Y. (2005). Severe acute respiratory syndrome coronavirus-like virus in Chinese horseshoe bats. *The Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102, 14040-14045.
- Lau, Y. L., & Peiris, J. S. M. (2005). Pathogenesis of severe acute respiratory syndrome. *Curr Opin Immunol*. 17, 404-410.
- Laude, H., Van Reeth, K., & Pensaert, M. (1993). Porcine respiratory coronavirus, molecular features and virus-host interactions. *Veterinary Research*, 24, 125-150.
- Law, H.K, Cheung, C.Y., Ng, H.Y., Sia, S. F., Chan, Y. O., Luk, W., Nicholls, J. M., Peiris, J. S. M., & Lau, Y. L. (2005). Chemokine upregulation in SARS coronavirus infected human monocyte derived dendritic cells. *Blood*, 106, 2366-2376.
- Li, W., Shi, Z., Yu, M., Ren, W., Smith, C., Epstein, J. H., Wang, H., Cramer, G., Hu, Z., Zhang, H., Zhang, J., McEachern, J., Field, H., Daszak, P., Eaton, B. T., Zhang, S., & Wang, L-F. (2005). Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses. *Science*, 310, 676-679.
- Lu, H., Stratton, C.W., & Tang, Y.W. (2020). Outbreak of pneumonia of unknown etiology in Wuhan, China, The mystery and the miracle. *Journal of Medical Virology*, 92, 401402.
- Luytjes, W., Sturman, L.S., Bredenbeek, P.J., & et al. (1987). Primary structure of the glycoprotein E2 of coronavirus MHV-A59 and identification of the trypsin cleavage site. *Virology*. 161, 479-487.
- Maragakis, L. L. (2020). Coronavirus, Social Distancing and Self Quarantine. www.hopkinsmedicine.org.
- Memish, Z. A, Cotten, M., Meyer, B., Watson, S. J., Alshafi, A. J., Al Rabeeah, A. A., Corman, V. M., Sieberg, A., Makhdoom, H. Q., Assiri, A., Masri, M. A., Aldabbagh, S., Bosch, B-J., Beer, M., Müller, M. A., Kellam, P., & Drosten, C. (2014). Human infection with MERS coronavirus after exposure to infected camels, Saudi Arabia. *Emerging Infectious Diseases*, 20, 1012-1015.

- Meyer B., Muller M.A., Corman V.M., Reusken, C. B. E. M., Ritz, D., Godeke, G-J., Lattwein, E., Kallies, S., Siemens, A., van Beek, J., Drexler, J. F., Muth, D., Bosch, B-J., Wernery, U., Koopmans, M. P. G., Wernery, R., & Drosten, C. (2014). Antibodies against MERS coronavirus in dromedary camels, United Arab Emirates, 2003 and 2013. *Emerging Infectious Diseases*, 20, 552-559.
- Mitra, A., Dwyre, D. M., Schivo, M., Thompson, G. R., Cohen, S. H., Ku, N., & Graff, J. P. (2020). Leukoerythroblastic reaction in a patient with COVID-19 infection. *American Journal of Hematology*, doi:10.1002/ajh.25793.
- Monto, A. S (1984). Coronaviruses. In Evans AS (ed.). *Viral Infections of Humans. Viral Infections of Humans, Epidemiology and Control*. Springer US. 151-165.
- Neuman, B.W., Adair, B.D., Yoshioka C., Quispe J.D., Orca G., Kuhn P., Milligan, R. A., Yeager, M., & Buchmeier, M. J. (2006). Supramolecular architecture of severe acute respiratory syndrome coronavirus revealed by electron cryomicroscopy. *Journal of Virology*. 80 (16), 7918-28.
- Neuman, B.W., Kiss, G., Kunding, A.H., Bhella, D., Baksh, M. F., Connelly, S., Droese, B., Klaus, J. P., Makino, S., Sawicki, S. G., Siddell, S. G., Stamou, D. G., Wilson, I. A., Kuhn, P., Buchmeier, M. J. (2011). A structural analysis of M protein in coronavirus assembly and morphology. *Journal of Structural Biology*, 174, 11-22.
- Nieto-Torres, J.L., Dediego, M.L., Verdia-Baguena, C., Jimenez-Guardeño, J. M., Regla-Nava, J. A., Fernandez-Delgado, R., Castaño-Rodríguez, C., Alcaraz, A., Torres, J. Aguilera, V. M., & Enjuanes, L. (2014). Severe acute respiratory syndrome coronavirus envelope protein ion channel activity promotes virus fitness and pathogenesis. *PLOS Pathogens*, 10, e1004077.
- Peiris, J.S., Chu, C.M., Cheng, V.C., Chan, K. S., Hung, I. F. N., Poon, L. L. M., Law, K. I., Tang, B. S. F., Hon, T. Y. W., Chan, C. S., Chan, K. H., Ng, J. S. C., Zheng, B. J., Ng, W. L., Lai, R. W. M., Guan, Y., & Yuen, K. Y. (2003). Clinical progression and viral load in a community outbreak of coronavirus-associated SARS pneumonia, a prospective study. *The Lancet*, 361, 1767-1772.
- Peiris, J. S., Yuen, K. Y., Osterhaus, A. D. M. E., & Stöhr, K. (2003). The severe acute respiratory syndrome. *The New England Journal of Medicine*, 349, 2431-2441.
- Raj, V.S., Mou, H., Smits, S.L., Dekkers, D. H. W., Müller, M. A., Dijkman, R., Muth, D., Demmers, J. A. A., Zaki, A., Fouchier, R. A. M., Thiel, V., Drosten, C., Rottier, P. J. M., Osterhaus, A. D. M. E., Bosch, B. J., & Haagmans, B. L. (2013). Dipeptidyl peptidase 4 is a functional receptor for the emerging human coronavirus-EMC. *Nature*, 495, 251-254.
- Roberts, A., Paddock, C., Vogel, L., Butler, E., Zaki, S., & Subbarao, K. (2005). Aged BALB/c mice as a model for increased severity of severe acute respiratory syndrome in elderly humans. *Journal of Virology*, 79, 5833-5838.
- Saif, L. J. (2004). Animal coronavirus vaccines, lessons for SARS. *Developmental Biology*, 119, 129-140.
- Sawicki, S. G., Sawicki, D. L., & Siddell, S. G. (2007). A contemporary view of coronavirus transcription. *Journal of Virology*, 81, 20-29.
- Sethna, P. B, Hofmann, M. A., & Brian, D. A. (1991). Minus-strand copies of replicating coronavirus mRNAs contain antileaders. *Journal of Virology*, 65, 320-325.
- Su, S., Du, L., & Shibo, J. (2020). Learning from the past, development of safe and effective COVID-19 vaccines. *Nature Reviews Microbiology*, <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00462-y>
- Siu Y.L., Teoh K.T., Lo J., Chan, C. M., Kien, F., Escriou, N., Tsao, S. W., Nicholls, J. M., Altmeyer, R., Peiris, J. S. M., Bruzzone, R., & Nal, B. (2008). The M, E, and N structural proteins of the severe acute respiratory syndrome coronavirus are required for efficient assembly, trafficking, and release of virus-like particles. *Journal of Virology*, 82, 11318-11330.
- Snijder, E. J., Bredenbeek, P. J., & Dobbe, J. C., Thiel, V., Ziebuhr, J., Poon, L. L. M., Guan, Y., Rozanov, M., Spaan, W. J. M., & Gorbalenya, A. E. (2003). Unique and conserved features of genome and proteome of SARS-coronavirus, an early split-off from the coronavirus group 2 lineage. *Journal of Molecular Biology*, 331, 991-1004.
- Staff. (2020). Spain officially recommends face mask use. *Gazette Life*. Retrieved 20 April 2020.
- Stockman, L. J., Bellamy, R., & Garner, P. (2006). SARS, systematic review of treatment effects. *PLOS Medicine*, 3, e343.
- Van Boheemen, S., de Graaf M., Lauber, C., Bestebroer, T. M., Raj, V. S., Zaki, A. M., Osterhaus, A. D. M. E., Haagmans, B. L., Gorbalenya, A. E., Snijder, E. J., & Fouchiera, R. A. M. (2012). Genomic characterization of a newly discovered coronavirus associated with acute respiratory distress syndrome in humans. *mBio*, 3. doi, 10.1128/mBio.00473-12.
- Vennema H., de Groot R.J., Harbour D.A., Dalderup, M., Gruffydd-Jones, T., Horzinek, M. C., & Spaan, W. J. (1990). Early death after feline infectious peritonitis virus challenge due to recombinant vaccinia virus immunization. *Journal of Virology*, 64, 1407-1409.
- Vijgen, L., Keyaerts, E., Lemey, P., Moës, E., Li, S., Vandamme, A., & Van Ranst, M. (2005). Circulation of genetically distinct contemporary human coronavirus OC43 strains. *Virology*, 337, 85-92.
- Wang, L., Junker, D., & Collisson, E. W. (1993). Evidence of natural recombination within the S1 gene of infectious bronchitis virus. *Virology*, 192, 710-716.
- WHO. (2020b). Novel Coronavirus – Japan (ex-China). Geneva, World Health Organization, Jan 16, 2020. <https://www.who.int/csr/don/16-january2020-novel-coronavirus-japan-ex-china/en/> (accessed Jan 23, 2020).

- WHO. (2020a). Novel coronavirus – Thailand (ex-China). Geneva, World Health Organization, Jan 14, 2020. <https://www.who.int/csr/don/14-january2020-novel-coronavirus-thailand/en/> (accessed Jan 23, 2020).
- WHO. (2020c). Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV). Geneva, World Health Organization, 2020. <http://www.who.int/emergencies/merscov/en/> (accessed Jan 12, 2020).
- WHO. (2020d). Summary of probable SARS cases with onset of illness from 1 November 2002 to 31 July 2003. Geneva, World Health Organization, 2004. http://www.who.int/csr/sars/country/table2004_04_21/en/ (accessed Jan 12, 2020).
- WHO. (2020e). Clinical management of severe acute respiratory infection when novel coronavirus (nCoV) infection is suspected. Geneva, World Health Organization, 2020. [https://www.who.int/internal-publications-detail/clinical-management-of-severe-acute-respiratory-infection-when-novelcoronavirus-\(ncov\)-infection-is-suspected](https://www.who.int/internal-publications-detail/clinical-management-of-severe-acute-respiratory-infection-when-novelcoronavirus-(ncov)-infection-is-suspected) (accessed Jan 22, 2020).
- WHO. (2020f). World Health Organization. "Advice for Public". Archived from the original on 26 January 2020. Retrieved 10 February 2020.
- WHO. (2020g). Data on daily reported cases from the Health Commission of Hubei Province, National Health Commission of the People's Republic of China and World Health Organization (accessed Jan 22, 2020).
- WHO. (2020h). Data on fatality rates and number of transmissions per sick person from the World Health Organization, U.S. Centers for Disease Control and Prevention, Johns Hopkins University, Global Health Data Exchange, Food and Agriculture Organization of the United States, Global Mapping of Infectious Disease Risk, National Institutes of Health, European Centre for Disease Prevention and Control, University of Oxford, Korea Institute of Oriental Medicine, Inserm, Imperial College, Harvard University, Hong Kong University, Lancaster University and University of Bern (accessed Jan 22, 2020).
- Wiles, Siouxsie. (2020). After 'Flatten the Curve', we must now 'Stop the Spread'. Here's what that means". The Spinoff. Archived from the original on 26 March 2020. Retrieved 13 March 2020.
- World Health Organization. (2020). Director-General's Opening Remarks at the Media Briefing on COVID-19–11 March 2020. Available online, <https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-openingremarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>.
- Ye, Y., & Hogue, B. G. (2007). Role of the coronavirus E viroporin protein transmembrane domain in virus assembly. *Journal of Virology*, 81, 3597-3607.
- Zaki, A M., van Boheemen, S., Bestebroer, T. M. B., & Agnihothram, S. S., Fett, C., Zhao, J., Gale, Jr., M. J., Baric, R. S., Enjuanes, L., Gallagher, T., McCray, Jr. P. B., & Perlmana, S. (2012). Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *The New England Journal of Medicine*, 367, 1814-1820.
- Zhao, J., Li, K., Wohlford-Lenane, C., & Perlman, S. (2014). Rapid generation of a mouse model for Middle East respiratory syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111, 4970-4975.
- Zhao, J., Zhao, J., Legge, K., & Perlman, S. (2011). Age-related increases in PGD(2) expression impair respiratory DC migration, resulting in diminished T cell responses upon respiratory virus infection in mice. *Journal of Clinical Investigation*, 121, 4921-4930.
- Zhao, L., Jha, B.K., Wu ,A., Elliott, R., Ziebuhr, J., Gorbalenya, A.E., Silverman, R. H., & Weiss, S. R. (2012). Antagonism of the interferon-induced OAS-RNase L pathway by murine coronavirus ns2 protein is required for virus replication and liver pathology. *Cell Host & Microbe*, 11(6), 607-616.