

3.

Bölüm

COVID-19 (SARS COV-2): MEVCUT TANI MOLEKÜLER YAKLAŞIM VE PCR

Mehmet Hakan TAŞKIN¹

1. PCR testi nedir, nasıl yapılır?
2. Doğru örnek nasıl alınmalı?
3. PCR sonucunu nasıl değerlendirelim?
4. Herkese mi PCR yapılmalı?

GİRİŞ

Başlangıçta hayvanlardan orjin aldığı düşünülse de daha sonra insandan insana geçtiği anlaşılan coronavirus disease 2019 (COVID-19) - sonradan tanımlanan yeni adıyla severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) - ilk olarak Aralık 2019'da Çin Wuhan'dan bildirildi(1). Şurası da açık ki uzun bir zaman bu virüsle birlikte yaşayacağız ve yeni bölgesel salgınlar açısından da çok uyanık ve hazır olmamız gerekiyor gibi görünmektedir. Tam olarak bu sebepten dolayı da tanı ön plana çıkmakta, buda biyolojik örneklerde özellikle alt ve üst solunum yolu örneklerinde viral RNA'nın moleküler biyoloji teknikleriyle (ayrıcılık olarak Reverse Transcription RT-PCR) doğrudan saptanmasına dayanmaktadır. Öngörülebilir gelecekte de böyle kalacaktır.

Diğer coronavirüsler gibi SARS-CoV-2'de Coronaviridae ailesi, Coronavirinae alt ailesi, betacoronavirus genusuna ait olup zarflı, pozitif yönelimli, yaklaşık 30kb'lık tek zincirli RNA genomuna sahip 60-140 nm çapında yuvarlak veya oval bir virustur (Şekil-1). Diğer betacoronaviruslardan olan SARS-CoV ve MERS-CoV (Middle East Respiratory Syndrome coronavirus) ile sırasıyla %80 ve %

¹ Uzm. Dr. Mehmet Hakan TAŞKIN, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Samsun Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Bölümü mhtaskin@gmail.com

SONUÇ

Bu virüsle oldukça uzun bir süre birlikte yaşayacağımız artık oldukça açık görünüyor, böylece yeni yerel salgınların ortaya çıkmasına karşı uyanıklığımız ve duyarlılığımız mümkün olan en yüksek seviyelerde tutulmalıdır. Bununla birlikte, COVID-19'un etiyolojik teşhisi, biyolojik materyallerde, ayrıcalıklı olarak üst ve alt solunum örneklerinde viral RNA'nın doğrudan moleküler biyoloji teknikleri ile özellikle de rRT-PCR aracılığıyla doğrudan tanımlanmasına dayanmaktadır ve bu test yöntemi diğer olası etkenler ve mutasyonların tanısında uzun süre laboratuvarlarımızda kalacaktır.

KAYNAKLAR

1. Zhu N et al, «2019,» *N Engl J Med*, 2020.
2. D. Kim, J. Lee, J. Yang, J. Kim, V. Kim ve H. Chang, «The Architecture of SARS-CoV-2 Transcriptome,» *Cell*, cilt 181, pp. 914-921, 2020.
3. Peng Zhou et al, «A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin,» *Nature*, no. 579, pp. 270-273, 2020.
4. R. Mardani, A. Ahmadi Vasmehjani, F. Zali, A. Gholami, S.D. Mousavi Nasab, H. Kaghazian, et al, «Laboratory Parameters in detection of COVID-19 patients with positive RT-PCR; a diagnostic accuracy study,» *Arch. Acad. Emerg. Med.*, no. 8, p. e43, 2020.
5. Mohini Joshi1, Deshpande J.D, «POLYMERASE CHAIN REACTION: METHODS, PRINCIPLES AND APPLICATION. International Journal of Biomedical Research,» *International Journal of Biomedical Research*, no. 1, p. 81-97, 2010.
6. Konrad R et al., «Rapid establishment of laboratory diagnostics for the novel coronavirus SARS-CoV-2 in Bavaria, Germany,» *Euro Surveill*, no. 25, 2020.
7. Patel A, Jernigan DB, «Initial Public Health Response and Interim Clinical Guidance for the 2019 Novel Coronavirus Outbreak - United States, December 31, 2019-February 4, 2020,» *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, no. 69, p. 140, 2020.
8. Brandsma E, Verhagen HJMP, van de Laar TJW, et al, «Rapid, sensitive and specific SARS coronavirus-2 detection: a multi-center comparison between standard qRT-PCR and CRISPR based DETECTR,» *J Infect Dis*, 2020.
9. 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*, no. 25, 2020.
10. Chu DKW, Pan Y, Cheng SMS, Hui KPY, Krishnan P, Liu Y, et al, «Molecular diagnosis of a novel coronavirus (2019-nCoV) causing an outbreak of pneumonia,» *Clin Chem*, no. 66, pp. 549-555, 2020.
11. «World Health Organization. Coronavirus disease (COVID-19) technical guidance: Laboratory testing for 2019-nCoV in humans. [http:// www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technicalguidance/laboratory-guidance](http://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technicalguidance/laboratory-guidance)».
12. «World Health Organization. Diagnostic detection of 2019-nCoV by real-time RTPCR. [http:// www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/protocol-v2-1.pdf?sfvrsn=a9ef618c_2](http://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/protocol-v2-1.pdf?sfvrsn=a9ef618c_2)».
13. Pfefferle S, Reucher S, Norz D, Lutgehetmann M, «Evaluation of a quantitative RTPCR assay for the detection of the emerging coronavirus SARS-CoV-2 using a high throughput system,» *Euro Surveill February*, no. 25, 2020.
14. Zheng S, Fan J, Yu F, et al, «Viral load dynamics and disease severity in patients infected with SARS-CoV-2 in Zhejiang province, China, January-March 2020: retrospective cohort study,» *BMJ*, no. 369, p. m1443. 2., 2020.
15. Wang W, Xu Y, Gao R, Lu R, Han K, Wu G, Tan W, «Detection of SARS-CoV-2 29 in different

- types of clinical specimens.,» *JAMA*, 2020.
16. «Infectious Diseases Society of America. COVID-19 Prioritization of Diagnostic Testing. <https://www.idsociety.org/globalassets/idsa/public-health/COVID-19-prioritization-of-d-x-testing.pdf>,» 2020.
 17. R. M. Martinez., «Clinical Samples for SARS-CoV-2 Detection: Review of the Early Literature.,» *Clinical Microbiology Newsletter.*, no. 42, pp. 121-127, 2020.
 18. Wang W. Xu Y. Gao R. et al, «Detection of SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens.,» *JAMA.*, no. 323 , pp. 1843-1844, 2020 .
 19. Yu F. Yan L. Wang N. et al., «Quantitative detection and viral load analysis of SARS-CoV-2 in infected patients.,» *Clin Infect Dis.* , no. 28, pp. 793-798, 2020 .
 20. Wu J. Liu J. Li S. et al., «Detection and analysis of nucleic acid in various biological samples of COVID-19 patients.,» *Travel Med Infect Dis.* , 2020.
 21. Abbas Mohammadi, Elmira Esmailzadeha, Yijia Li, Ronald J. Boschb, Jonathan Z. Li., «SARS-CoV-2 detection in different respiratory sites: A systematic review and meta-analysis.,» *EBio-Medicine* , no. 59, 2020.
 22. He X, Lau EHY, Wu P, et al, «Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19.,» *Nat Med* , no. 26, 2020.
 23. Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, et al, «Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019.,» *Nature* , no. 581, 2020.
 24. Jiping Shi et al., «Molecular and serological assays for SARS-CoV-2: insights from genome and clinical characteristics.,» *Clinical chemistry*, no. 66(8), pp. 1030-1046, 2020.
 25. Bullard J, Dust K, Funk D, Strong JE, Alexander D, Garnett L, et al., «Predicting infectious SARS-CoV-2 from diagnostic samples.,» *Clin Infect Dis.* , 2020.
 26. La Scola B, Le Bideau M, Andreani J, Hoang VT, Grimaldier C, Colson P, et al., «Viral RNA load as determined by cell culture as a management tool for discharge of SARS CoV 2 patients from infectious disease wards.,» *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, no. 39, pp. 1059-61, 2020.
 27. Binnicker MJ., «Can the SARS-CoV-2 PCR Cycle Threshold Value and Time from Symptom Onset to Testing Predict Infectivity?,» *Clin Infect Dis.* , 2020.
 28. Zou L, Ruan F, Huang M, Liang L, Huang H, Hong Z, et al., «SARS CoV 2 viral load in upper respiratory specimens of infected patients.,» *N Engl J Med* , no. 382, pp. 1177-9, 2020.
 29. Lan L, Xu D, Ye G, Xia C, Wang S, Li Y, et al., «Positive RT PCR test results in patients recovered from COVID 19.,» *JAMA* , no. 323, p. 1502 3, 2020.
 30. Miller TE, Beltran W, Bard AZ, Gogakos T, Anahtar MN, Gerino M, et al., «Clinical sensitivity and interpretation of PCR and serological COVID 19 diagnostics for patients presenting to the hospital.,» *FASEB J.* , 2020.
 31. «32. Pan American Health Organization and World Health Organization. Laboratory guidelines for the detection and diagnosis of COVID-19 virus infection.,» 2020.
 32. Jiping Shi, Dongsheng Han, Runling Zhang, Jinming Li1, Rui Zhang., «Molecular and serological assays for SARS-CoV-2: insights from genome and clinical characteristics.,» *Clin Chem.* , no. 1;66(8), pp. 1030-1046, 2020 .
 33. «Infectious Diseases Society of America Guidelines on the Diagnosis of COVID-19, May,» 2020.
 34. Zhao J, Yuan Q, Wang H, Liu W, Liao X, Su Y, et al., «Antibody responses to SARSCoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019.,» *Clin Infect Dis* , 2020.
 35. Centers for Disease Control and Prevention. Interim guidance for rapid antigen testing for SARS-CoV-2. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/antigen-tests-guidelines>