

SARS-CoV-2 ve TANILANMASI

Esin ŞENOL, Yeşim YILDIZ

Aralık 2019'da Çin'in Wuhan kentinde pnömoni olgularında meydana gelen artıştan kısa bir süre sonra, 7 Ocak 2020'de, bu hastaların bronkoalveolar lavaj sıvısından gerçek zamanlı ters transkriptaz polimerize zincir reaksiyonu (qRT-PCR) yöntemi ile etken izole edilmiş ve daha önce insanlardan izole edilmemiş yeni bir Coronavirus olarak tanımlanarak ilk genom dizisi 10 Ocak'ta virological.org'da yayınlanmıştır (1,2). Başlangıçta, 2019-yeni Coronavirus (2019-nCoV) olarak adlandırılan bu virüs, Betacoronavirus ailesine ait olup, daha sonra bugünkü tanımıyla, Severe Acute Respiratory Sendrom-Coronavirus-2 (SARS-CoV-2) olarak tanımlanmıştır (3).

Bu hızlı ve olumlu gelişmeler, hassasiyeti ve özgüllüğü yüksek birçok qRT-PCR testi-nin geliştirilmesine olanak tanımış, SARS-CoV-2'nin <10 kopyasını tespit eden ve SARS-CoV veya diğer insan coronavirusleri ile çapraz reaksiyona girmeyen testler sayesinde dünya çapındaki birçok laboratuvar artık SARS-CoV-2'yi test edebilir hale gelmiştir (4). Enfeksiyöz SARS-CoV-2, maymun hücre kültürüne inoküle edilmiş ve insan solunum epi-telinde sitopatik etkisi gösterilmiştir. Hastalığı geçiren kişilerin serum örneklerinden elde edilen IgM ve IgG sınıfı antikorların hücre kültürlerinde virüsü nötralize ettiği gösterilmiş, nötralizan antikorlar ile virüsle enfekte hücreler indirek immunefloresan yöntemiyle tespit edilebilmiştir (5).

COVID-19 ile "mevsimsel grip" ilişkili pnömoni arasındaki temel fark, COVID-19'un ko-morbid durumu olmayan, genç hasta grubunda da ağır hastalık tablosuna sebep olabilmesidir (6). Etkili aşısının veya tedavisinin olmadığı göz önünde bulundurulduğunda, SARS-CoV-2 yayılımını azaltmak için halihazırda mevcut olan tek yöntem, enfekte kişileri belirlemek ve izole etmektir (7).

COVID-19 salgını, bulaşıcı hastalıkların kontrolünde, tanının temel rolünü çarpıcı bir şekilde ortaya koymaktadır. Klinik pratikte, hasta kişileri hızlıca belirlemek ve yönetmek amacıyla, moleküler ve serolojik yöntemlerin yanında, radyolojik temelli yaklaşımlar ile tanılabilir ve bazı belirlenmiş laboratuvar testleri ile de prognostik sınıflandırma yaklaşımı kullanılmaktadır. SARS-CoV-2 enfeksiyonu açısından yüksek riskli ciddi vakaların, doğru tanı yanında erken tespiti ve yönetimi birçok klinisyen için günümüzün en büyük mücadelesidir. Hastalık tanısındaki süregiden belirsizlik nedeniyle, enfeksiyon kontrolü ve sağlık çalışanı sağlığı konularındaki sorunlar da devam etmektedir.

Etken Hakkında

Coronavirüsler (CoV), Nidovirales takımı Coronaviridae ailesi içinde sınıflandırılan insan ve hayvan patojenleridir. Coronaviridae ailesi alfa, beta, gama ve delta olmak üzere dört cinsi içermekte olup alfa cinsi içindeki türler insanlarda hafif seyirli ve kendini sınırlandıran üst solunum yolu enfeksiyonlarına neden olmaktadır. Betacoronavirus 2b cinsinin Sarbecovirus alt cinsi ile 2002 yılında Şiddetli Akut Solunum Sendromu virüsü (SARS-CoV), 2012 yılında Orta Doğu Solunum Sendromu virüsü (MERS-CoV) ve 2019 yılında SARS (Severe Acute Respiratory Sendrom)-Coronavirus-2 (SARS-CoV-2) türleri ortaya çıkmış ve bu virüsler halk sağlığını tehdit eden önemli patojenler olmuştur (8).

SARS-CoV-2; zarflı ve helikal simetrik bir kapsid yapısına ve pozitif polariteli, tek zincirli ve doğrusal bir RNA genoma sahiptir. 29.8 kb genom boyutu ile RNA virüsleri içinde en büyük genoma sahip olan virüslerden biridir. Genomik RNA yapısal ve yapısal olmayan proteinlerin sentezinden sorumludur. Dört ana yapısal protein S, membran (M), zarf (E) ve nükleokapsid (N) proteinleridir. S proteini viral zarfın üzerinde taç benzeri çıkıntılar şeklinde olup insan hücrelerinde bulunan ACE-2 reseptörlerine bağlanarak virüsün konak hücreye tutunmasını sağlamaktadır. Yapısal ve yapısal olmayan proteinler sentezlenir. M, E ve N proteinleri ile virion oluşumu gerçekleşir ve salınma ile replikasyon döngüsü tamamlanır (9).

Yapısal proteinler tutunma ve virion oluşumundan sorumluyken, yapısal olmayan proteinler (nsp); konakçı proteinlerini posttranslasyonel modifikasyona uğratarak konağın bağışıklık sisteminin baskılanması (nsp3), RNA bağımlı RNA polimeraz aktivitesi (nsp12) ve ekzoribonükleaz aktivitesi (nsp14) gibi işlevlerle viral replikasyonda görev alırlar. SARS-CoV-2 genomik RNA'sında bulunan açık okuma pencereleri (ORF) ve ACE-2 geni, COVID-19 gelişiminde anahtar rol oynamakta olup bu gende meydana gelen mutasyonlar SARS-CoV-2'nin yayılımını ve sebep olduğu hastalığın şiddetini etkilemektedir (10). Antiviral ilaç ve aşı geliştirme çalışmalarının çoğu bu hedeflere odaklanmaktadır. SARS-CoV-2'nin yapısı aydınlatıldıkça önleyici ve tedavi edici stratejiler daha başarılı hale gelecektir.

COVID-19 Hakkında

2019 yılı sonlarında Çin'in Hubei eyaletine bağlı Wuhan şehrinde pnömoni etkeni olan yeni bir coronavirus ortaya çıkmış, diğer ülkelere de hızla yayılan virüsün sebep olduğu hastalık 2020 yılının şubat ayında Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından COVID-19 olarak isimlendirilmiştir (11).

COVID-19'a sebep olan virüs, SARS-CoV-2 olarak adlandırılmıştır. SARS-CoV-2 insandan insana hızla yayılmış, 2020 yılı mart ayında DSÖ COVID-19'un pandemi olduğunu ilan etmiştir (12). SARS-CoV-2 pandemisi nedeniyle dünya genelinde yaklaşık 28 milyon doğrulanmış vaka ve 880 binden fazla ölüm meydana gelmiş olup, salgın tüm hızıyla devam etmektedir (13). Hastalığı asemptomatik veya hafif semptomlarla geçiren kişilerin varlığı göz önünde bulundurulduğunda, dünya genelinde enfekte olmuş kişilerin sayısının tespit edilenlerden çok daha fazla olduğu tahmin edilmektedir (14).

COVID-19 Tanısı

Tanı “klinik şüphesi” ve şüphesi duyulması durumunda yapılacak laboratuvar ve radyolojik testler ile konulmaktadır. En sık karşılaşılan sistem kümeleri; **solunum yolu** tutulumu ile ilişkili olan, ateş, öksürük, nefes darlığı ve balgam, miyalji, halsizlik, eklem ağrıları gibi **iskelet sistemi** bulguları, ishal, bulantı, kusma ile seyreden **enterik** bulgular ve daha seyrek olarak da **cilt-mukoza** tutulum bulgularıdır (15). Etkenin, organotropizması sonucu, santral sinir sistemi, böbrek, karaciğer gibi pek çok organ ve sistemi etkilemekte ve sık görülen “sistem kümeleri” bulgularına ek olarak geniş yelpazede pek çok farklı bulgular ortaya çıkmaktadır.

Salgın Çin dışı kıtalara yayıldığında fark edilen ve özellikle Avrupa’dan sık bildirilen, tat ve koku alma bozukluğu gibi “otolarengeal bulgular” ile sık karşılaşılmakta ve hastalık tanısı için iyi öngördürücü bulgular oldukları belirtilmektedir. Bu bulguların öngördürücü değeri şu tanım ile özetlenebilecektir; “grip bulguları ile birlikte koku alma bozukluğu COVID-19 anlamına gelir” (16).

Tablo 1’de CDC veri tabanında 370.000 olguda saptanan, COVID-19 ilişkili başlıca bulgular ve sıklıkları verilmektedir (17).

Tablo 1. COVID-19 ilişkili başlıca bulgular ve sıklıkları.

Bulgular	Görülme Sıklığı (%)
Öksürük	50
Ateş (>38 °C)	43
Miyalji	36
Baş ağrısı	34
Dispne	29
Boğaz ağrısı	20
İshal	19
Bulantı-kusma	12
Koku/tat alma bozukluğu	<10
Karın ağrısı	<10
Burun akıntısı	<10

Kimlere Test Yapılmalı

Yeni başlangıçlı ateş ve/veya solunum yoluyla ilişkili semptomlara (ör. öksürük, nefes darlığı) ek olarak miyalji, ishal, koku ve/veya tat bozuklukları gibi semptomlar da COVID-19 hastalığını düşündürmektedir. Başka viral enfeksiyonlarda da görülebilen bu semptomlara ek olarak son 2 hafta içinde COVID-19 vakalarının yoğun olarak bildirildiği yerlere seyahat etmiş olmak veya doğrulanmış COVID-19 vakası ile yakın temasta bulunmuş olmak, başvuran kişide COVID-19 hastalığı şüphesini arttırmaktadır. Yakın temas olarak ifade edilen durum iki metreden daha yakın mesafede, on dakikadan uzun süre

kişisel koruyucu ekipman (KKE) kullanmadan bir arada bulunmuş olmak ve/veya enfekte kişinin çıkartılarıyla KKE kullanmadan temas etmiş olmaktadır.

Semptomların başlangıcından birkaç gün sonra eklenen nefes darlığı, COVID-19 için ön tanıyı güçlendiren bir bulgudur (18). 20-40 yaş arası sağlık çalışanları ile yapılan bir çalışmanın sonuçları koku alma bozukluğu ve miyalji semptomlarının daha yüksek test pozitiflik oranları ile ilişkili olduğunu göstermiştir (19). Ancak mikrobiyolojik testlerle doğrulanmadığı sürece bu bulgulardan hiçbiri tek başına COVID-19 hastalığı için tanı koydurucu değildir.

COVID-19 ile ilişkili semptomu olan herkese test yapılmalıdır. Test kapasitesinin sınırlı olması halinde ise hastaneye yatış gerektirecek kadar solunum sıkıntısı olanlara, semptomatik olup ağır hastalık geçirmek için risk faktörleri olan kişilere, semptomatik sağlık çalışanlarına ve semptomatik olup kalabalık yaşam koşullarına sahip kişilere test konusunda öncelik verilmelidir (20).

Halk sağlığı ve enfeksiyon kontrol stratejileri açısından “asemptomatik” kişilerin test yapılarak tespit edilmesi bazı koşullarda önem taşımaktadır. Hastalık bulaşması halinde ağır geçirme riski taşıyan kişilerle aynı evde yaşayanlar ve bakım evinde çalışanlar, hastalık prevalansının %10 ve üzerinde olduğu yerlerde hospitalize edilen tüm hastalar, cerrahi prosedür ve/veya aerosol oluşturan girişim planlanan hastalar, immunsupresif tedaviler ve/veya transplantasyon prosedürleri öncesi hazırlık döneminde olan hastalar bu kategoride değerlendirilerek tarama amaçlı test edilmelidir (21-23). Miyokard enfarktüsü, iskemik inme ve diğer tromboembolik durumlar ile başvuran hastalara da bu durumların SARS-CoV-2 enfeksiyonunun “ekstrapulmoner” komplikasyonları olabileceği düşünülerek mikrobiyolojik testler yapılmalıdır.

COVID-19 Testi İçin Klinik Örnekler Nasıl Alınmalı?

COVID-19 teşhisi için hastadan, semptomların başlangıcından itibaren 7 gün içinde uygun örneğin alınması gerekmektedir. Tanı için nazofaringeal ve orofaringeal sürüntü, bronkoalveoler lavaj, trakeal aspirat veya balgam örneği kullanılabilenekte olup bu örneklerden etkenin izole edilebilme oranları değişkenlik göstermektedir. Bronkoalveolar lavaj ve trakeal aspirat örnekleri etkenin tespit edilmesi açısından en yüksek sensitiviteye sahip olup bu oran %90'ın üzerindeyken, üst solunum yolundan alınan örneklerde oran %60'lara düşmektedir. Aseptomatik veya hafif semptomu olan kişilerde testin duyarlılığını arttırmak için aynı viral taşıma besiyerine (viral transport medium-VTM) nazofaringeal ve orofaringeal sürüntünün birlikte inoküle edilmesi önerilmektedir (24-27).

Nükleik Asit Amplifikasyon Testleri (NAAT) özellikle de RT-qPCR ile SARS-CoV-2 RNA'sının üst solunum yolu örneklerinden izole edilmesi öncelikli tercih edilen tanısal testtir. SARS-CoV-2 solunum yolu örnekleri dışında qRT-PCR ile tam kanda, tükürükte, dışkıda ve idrarda tespit edilebilmektedir (25). Solunum yolu dışındaki örneklerden moleküler testlerle virüs izole edilmesinin tanısal değeri henüz net değildir (28) (Tablo 2).

Tablo 2. SARS-CoV-2 izole edilebilecek kaynaklar ve özellikleri.

Kaynak	Bulaş yolu	PCR ile RNA saptanması (Semptom başlangıcı sonrası gün)	Canlı virüs (Semptom başlangıcı sonrası gün)
Nazofarenks	Damlacık	37 güne kadar	7 güne kadar
Balgam	Damlacık ve solunum	37 güne kadar	7 güne kadar
Dışkı	Fekal-oral bulaşa dair kanıt yok	>30 gün	Yalnızca bir olgu
Kan	Canlı virüs gösterilemedi	14 güne kadar	Hayır
İdrar	Canlı virüs gösterilemedi	Hayır	Hayır
Konjonktiva	Canlı virüs gösterilemedi	Evet	Hayır
Vertikal	Vertikal bulaşa dair kanıt yok	Hayır	Hayır

Yakın zamanda yapılan bir çalışma ile klinik bulguların ilk 10 gününde tükürükten izole edilen virüs miktarının, kombine üst solunum yolu örneğinden fazla olduğu gösterilmiş, 11. günden itibaren yine kombine örnekte izole edilen virüs sayısının öne geçtiği görülmüştür (29).

Hastalardan örnek alınması işlemi eğitimli tıbbi personel tarafından yapılmalı, işlem süresince mutlaka N95 maske, tulum, tek kullanımlık eldiven, gözlük veya siperlik kullanılmalıdır. Aerosol ile teması en aza indirmek amacıyla örnek alma işlemi için oluşturulmuş özel kabinler kullanılmalıdır.

Hastadan örnek alınan “swap”, üzerindeki işaretli yerden kırılarak VTM içeren plastik kırılmaz tüpün içine atılmalı ve tüpün kapağı sıkıca kapatılmalıdır. Her bir tüp bir adet “swap” olacak şekilde düzenlenmektedir. Tüp üzerine hastaya ait bilgiler yazılmalıdır. Dış yüzeyi %70 alkol çözeltisi ile silindikten sonra tüpler kilitli plastik transport kutusuna yerleştirilmelidir. Bu kutu bir dış konteynere yerleştirilerek örnekler belirlenen laboratuvara taşınmalıdır. Örnek alma alanında hazırlanan vaka inceleme formu ve test istem formu dış konteyner içine yerleştirilerek örneklerle eş zamanlı olarak laboratuvara ulaştırılmalıdır. Laboratuvara nakil, belirlenen personeller tarafından yapılmalı, pnömotik sistemler kullanılmamalıdır. Mümkünse kurum içindeki örnek nakli için ayrı yollar ve asansörler tanımlanmalıdır (30).

COVID-19 Laboratuvarları ve Mikrobiyolojik Test Yöntemleri

Tüm salgınlarda olduğu gibi COVID-19 pandemisinde de hasta ve hastalığı taşıyan kişilerin hızlı bir şekilde tespit edilmesi ve izole edilmesi, salgının kontrolü açısından büyük önem taşımaktadır. Ancak COVID-19 özgün olmayan bulgularla karışımına çıktığından, hatta hastalık bazı kişilerde “asemptomatik” seyrettiğinden hastalık tanımlanmasında ve tanısında zorluklar yaşanmaktadır. Yalnızca birkaç özel test ile tanı konabiliyor olması tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarlarına büyük sorumluluk yüklemektedir. Bu testler iyi tanımlanmış moleküler ve mikrobiyolojik yöntemlerden oluşmakta, testlerin deneyimli

personeller tarafından yüksek biyogüvenlik önlemleri alınarak uygulanması gerekmektedir. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)' de yapılmış bir anket çalışması, ülkede bulunan akademik laboratuvarlardan neredeyse yarısının yönetsel veya lojistik sorunlar nedeniyle SARS-CoV-2 için polimerize zincir reaksiyonu (PZR) testini yapamadığını ortaya koymuştur (31).

Ülkemizde, medikal mikrobiyoloji laboratuvarları kapasite ve donanımlarına göre Sağlık Bakanlığı tarafından COVID-19 testi için yetkilendirilmiştir. Mart 2020'de yetkilendirilmiş laboratuvar sayısı 7 iken Eylül 2020 itibarıyla 223 adet medikal mikrobiyoloji laboratuvarı COVID-19 yetkilendirilmiş tanı laboratuvarı olarak çalışmaktadır (32). Böylece ülke genelinde günlük test kapasitesi 100 binli sayılara ulaşmıştır. Günlük optimum test kapasitesine ulaşılabilmesi, pozitif vakaların erken tespit edilerek hem tedavi gereksinimlerinin değerlendirilmesine hem de hızla izole edilerek salgının kontrol altına alınmasına katkı sağlamaktadır.

Viral patojenler ile gelişen enfeksiyonların tanısında çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bunlardan en sık kullanılanlar; hücre ve doku kültürlerinde virüs izolasyonu, elektron mikroskopik incelemeler, immün floresan uygulamalar, NAAT, sekanslama teknikleri, antijen veya antikor saptamaya yönelik serolojik yöntemler ve immün kromatografik testlerdir (33).

Hücre kültüründe virüs izolasyonu viral enfeksiyonların tanısında altın standart yöntemdir ancak üçüncü düzey gibi üst düzey biyogüvenlik gerektirir ve birkaç günden önce sonuç verilemeyen bir yöntem olduğu için salgın koşullarında kullanımı uygun değildir. Benzer şekilde elektron mikroskopik inceleme de uzun örnek hazırlama süreci gerektirmesi, kullanımı zor ve pahalı bir yöntem olması nedeniyle salgın koşullarında tanı amaçlı kullanıma uygun değildir. Serolojik testler hızlı sonuç vermesi ve maliyet etkin olması nedeniyle viral enfeksiyonların tanısında tercih edilmektedir. Ancak COVID-19'da spesifik antikorların oluşması hastalık başlangıcından itibaren 14 güne kadar uzayabildiği için antikor saptamaya yönelik testler erken tanıda efektif değildir, antijen saptamaya yönelik testlerin ise duyarlılık ve özgüllüğünün artırılmasına ihtiyaç vardır (34).

Nükleik Asid Amplifikasyon Testleri (NAAT):

Salgın koşullarında SARS-CoV-2'nin tespit edilebilmesi için hızlı, güvenilir, maliyet etkin ve kullanımı kolay testler gereklidir. PZR yöntemi klinik örneklerde 10 kopya/ml gibi düşük düzeydeki virüs miktarlarını bile saptayabilen, yüksek duyarlılık ve özgüllük oranlarına sahip, kabul edilebilir maliyetlerde, ortalama 3 saatte sonuç verebilen bir tekniktir. Tüm bunlar göz önünde bulundurulduğunda NAAT salgında kullanılacak en iyi tanı yöntemi olarak öne çıkmaktadır (4).

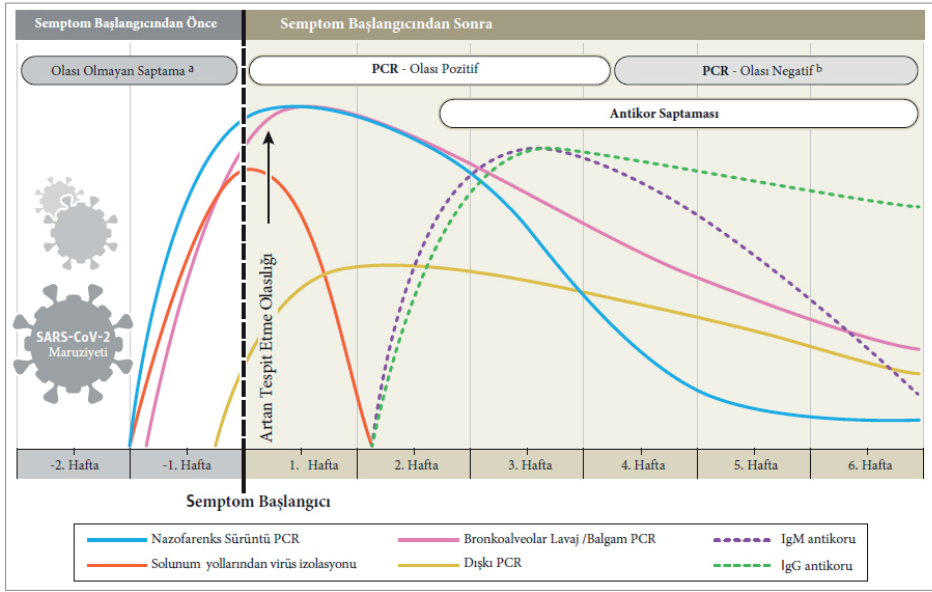
SARS-CoV-2'nin moleküler yöntemlerle tespit edilebilmesi için önce viral RNA klinik örneklerden ticari olarak temin edilebilen kitler yardımıyla ekstrakte edilmektedir. Nükleik asit temelli testlerin en önemli dezavantajı pandemi koşulu göz önünde bulundurulduğunda bu aşamada yaşanan zaman kaybıdır. Tam otomatik izolasyon/ekstarksiyon cihazları bile 100 örnek için yaklaşık 5 saatlik işlem süresine ihtiyaç duymaktadır. Yüz binlerce testin çalışılması gereken pandemi koşulları için daha etkin çözümlere ihtiyaç vardır.

SARS-CoV-2'nin genomik bölgelerini hedef alan gerçek zamanlı RT-qPCR yöntemi, tanı için yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir. Dünya genelinde birçok ülkedeki birçok firma tarafından üretilmiş gerçek zamanlı RT-qPCR kitleri DSÖ tarafından kullanıma uygun bulunmuştur (35). Ülkemizde Sağlık Bakanlığı ve Bioeksen Bioteknoloji şirketi tarafından geliştirilmiş olan, RdRp (RNA bağımlı RNA polimeraz) bölgesini hedef alan Bio-Speedy COVID-19 RT-qPCR kiti kullanılmaktadır.

Amerika Gıda ve İlaç Kurumundan (FDA; Food and Drug Administration) performans özellikleri ve çalışılma süreleri 15 dakika ile birkaç saat arasında değişen, farklı pek çok NAAT testi onay almıştır (36).

Serolojik Testler:

SARS-CoV-2'ye ait antijenleri ve bunlara karşı geliştirilen immunglobulinleri saptamak amacıyla geliştirilmiş olan serolojik testler, bireyin tanısı için kullanılacaksa moleküler testler ile desteklenmelidir. Antikorların gelişmesi, günler hatta haftalar aldığı için akut enfeksiyon tanısında kullanılmaları önerilmemektedir. Hastalığın 3. veya 4. haftasında bakılması ve IgM testleri yerine, total veya IgG antikorları bakılması önerilmektedir. Beşinci haftadan sonra antikor testlerinin duyarlılığı belirsizdir.



Tahmini zaman aralıkları ve viral saptama oranları, yayınlanan çeşitli raporlardan alınan verilere dayanmaktadır. Çalışmalar arasındaki değerlerdeki değişkenlik nedeniyle, tahmin edilen zaman aralıkları yaklaşık değerler olarak düşünülmelidir ve SARS-CoV-2 enfeksiyonunun tespit edilme olasılığı niteliksel olarak sunulmuştur. SARS-CoV-2, şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs 2'yi gösterir; PCR, polimeraz zincir reaksiyonu.

^a Yalnızca hastalar maruziyet zamanından itibaren proaktif olarak takip edilirse saptanabilir

^b Nazofarenks Sürüntü PCR'da Pozitif'e göre negatif sonuç vermesi daha olasıdır

Şekil 1. SARS-CoV-2 enfeksiyonunda kullanılan tanısal testlerin semptom başlangıç zamanına göre değişimleri (41).

Klinik seyirin, PCR testinin pozitif bulunamayacağı, 3 haftadan uzun sürdüğü uzamış bazı bulgular için, serolojik testler kullanılabilir (37). Serolojik testlerin pratikte kullanım amaçları ise; hastalık yaygınlığını saptamak, hastalığı hafif semptomlarla veya asemptomatik geçiren kişileri tespit etmek, aşı çalışmaları ile oluşturulacak toplum bağışıklığını ortaya koymak ve immün plazma vericilerini belirlemektir (38,39).

Virüs ile karşılaşma sonrası plazma/serumda SARS-CoV-2'ye karşı gelişen ve 10. günden itibaren artan antikorları saptayabilen enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) temelli testler ile toplumdaki gerçek enfeksiyon oranları ortaya konulabilmektedir (40).

Mikrobiyolojik Testlerin Yorumlanması

SARS-CoV-2 RNA, semptom başlangıcından 1-2 gün önce solunum yolu örneklerinde qRT-PCR ile izole edilebilmekte, orta şiddetteki vakalarda 7-12 gün, ağır seyirli vakalarda 3 haftaya kadar virüs izolasyonunun devam ettiği görülmektedir (42,43).

İlk NAAT sonucu negatif olmasına rağmen hastalık şüphesi devam ediyorsa hastadan 24-48 saat sonra bir örnek daha alınmalıdır. DSÖ hastaların takibi için örnek alma sıklığının en az iki ila dört günde bir olması gerektiğini önermektedir (44). Bazı durumlarda, bulaştırıcılık sonlanımı için belirtilen, 12-14 günlük süre sonunda, ardışık iki negatif PCR sonucunu takiben, tekrar pozitif PCR sonucu tespit edilebilir. Bu durumun rekürrens olarak değerlendirilmeden önce yanlış negatif PCR veya uzamış nükleik asit konversiyonundan kaynaklanabileceği göz önünde bulundurulmalıdır (45).

Yanlış Negatif Sonuç:

Gerçek zamanlı RT-qPCR; oldukça duyarlı bir yöntem olmasına rağmen, COVID-19 hastalarında yanlış negatif sonuçlar bildirilmektedir. Alınan hasta örneğine, hastalık dönemine, kullanılan yöntemine ait hatalar yanlış negatif sonuçlara neden olabilir. Uygun olmayan örnek alımı yanlış negatif sonuçların oluşmasında önemli bir faktördür. Hasta örneğinin yetersiz miktarda alımı, uygun olmayan bölgeden alınması, örnek alımının tekniklere uygun şekilde yapılmaması, transport ve saklama koşullarında uygunsuzluk, enfeksiyonun geç veya çok erken döneminde alınması gibi durumlar yanlış negatifliklere neden olabilir. Negatif test sonucuna rağmen hastalık şüphesi devam ediyorsa testin tekrarlanması önerilmektedir (46).

Hastalarda seri test yapılarak varılan sonuçlar göstermiştir ki semptom başlangıcından sonraki ilk haftada kantitatif virüs miktarı en yüksek düzeylerde olup iyileşme ile azalmaktadır. Hastalığın erken döneminde test sonucu negatif olup, bilgisayarlı tomografide tipik bulguları bulunan hastalarda, ortalama 1-3 gün sonra tekrar test yapıldığında negatif sonuçtan pozitif sonuca dönüş olduğu görülmüştür (47).

Alt solunum yolu örneklerinden virus izolasyon oranı üst solunum yolu örneklerine kıyasla çok daha yüksektir. Nazofarengeal ve orofarengeal örnekten negatif sonuç alınan bir hastada SARS-CoV-2 enfeksiyonu şüphesi yoğun ise; alt solunum yolu örneği alınmalıdır (48).

Yanlış Pozitif Sonuç:

Örnekler arasındaki çapraz kontaminasyon, daha önceki laboratuvar amplifikasyonundan kalan artık kontaminasyonu, “nonspesifik primerler” nedeniyle diğer viruslarla çapraz reaksiyona bağlı olarak yanlış pozitif sonuçlarla karşılaşılabilir. Klinik laboratuvar ortamının temiz tutulması, örnek transportunda standardizasyon prosedürlerini uygulamak, SARS-CoV-2 için spesifik primer seçimi bu sorunun çözümünde uygulanabilecek tedbirlerdir (49).

Antijen testleri, bazı durumlarda tanı amacıyla uygulansa da sensitivitesi nükleik asit temelli testlerden düşük olduğu için, negatif olarak sonuçlanan antijen testlerinin bir NAAT ile doğrulanması gerekmektedir. NAAT testi sonucu negatif olan hastanın en az 3 haftadır devam eden semptomları varsa IgG antikor testinin kullanılması tanıda yardımcı olabilir (37). SARS-CoV-2 antikor testlerini değerlendirdiğimizde, SARS-CoV'da olduğu gibi, semptom başlangıcından 21. günden sonra antikor mevcut değilse kişinin etkenle karşılaşmadığını gösterir (50,51).

Dünya Sağlık Örgütü, akut ve konvelesan serum örneklerinin alınması için en uygun dönemlerin ilk 7 gün ve 21-28. gün olduğu önerisinde bulunmuştur (52). Olguların izleminde, örneğin alınma zamanı gibi birçok faktör, duyarlılık ve özgüllüğü etkilemektedir. Seroloji temelli testlerle ilgili en büyük problem coronavirus ailesindeki farklı virüslere

Tablo 3. COVID-19 tanısında kullanılan testlerin özellikleri (56).

	Öncelikli klinik kullanım	Örnek türü	Performans özellikleri	Yorumlar
NAAT Testleri (PCR dahil)	Aktif enfeksiyon	Solunum yolu örnekleri	-İdeal koşullarda yüksek duyarlılık ve özgüllük -Alınan örnek, test zamanlaması ve örnek alma kalitesi performans etkili -Yalancı negatiflik oranları, testler arasında %5-40	Sonuç; 15 dak-8 saat, Evde örnek almaya uygun kitler var
Seroloji (Antikor testleri)	Aktif Enfeksiyon Tanısı Geçirilmiş ya da 3-4 haftadır süren bir klinik seyir	Kan	-Duyarlılık ve özgüllük çok değişken -antikorların gelişmesi günler, IgG'nin gelişmesi 14 gün sürer -Diğer coronavirüsler ile çapraz reaksiyon olabilir -Düşük seroprevelanslı bölgelerde dikkatle yorumlanmalı -Pozitif prediktif değeri düşük	Sonuç;15 dak-2 saat arasında, Bulunan antikorların, bağışıklığı gösterdiği şüpheli
Antijen testleri	Aktif enfeksiyon	Nazofarenks sürüntü	-Veri yetersiz -PCR'dan daha az duyarlı	Hızlı sonuç, 1 saatten kısa süre

karşı gelişen antikorlar ile SARS-CoV-2'ye yönelik hedef bölgelerinde çapraz reaksiyonların meydana gelebilmesidir (53).

Moleküler veya serolojik testlerde yanlış negatiflik ve / veya azalmış viral atılım-ıla ilişkili konakçı faktörlerinin daha iyi anlaşılması; test, yeniden test ve hasta izolasyon protokollerini hızlıca belirlemek için gereklidir. Hastalık tanısında birden çok bölgeden numune alınması veya birden çok test türünün kombine kullanılmasının standardize edilmesine çalışılmaktadır (54).

Virüs yayılımı karşısında, tanısız testlerin rolü, mevcut testin türüne, test için gereken kaynaklara ve sonuçları elde etmek için gereken zamana bağlıdır. Hangi test için hangi örnek tipinin kullanılmasının daha doğru ve kolay olduğu, testin kullanım amacına göre belirlenmelidir (4,55).

COVID-19 Tanısında Radyolojinin Yeri

COVID-19 tanısı için hızlı ve yeterince hassas RT-PCR testlerinin olmaması, tarama veya tanısız olarak görüntüleme yöntemlerinin kullanılmasını da akla getirmiştir. Pek çok merkez, tanı için akciğer görüntülemesini kullanmış ve sonuçlar değerlendirilmiştir. Akciğer radyografisinde, bilateral pnömoni en sık bildirilen özellik olup (%11,8-100) tek taraflı fokal odaktan daha yaygındır (57,58). Salgının erken dönemlerinde Çin'den gelen yayınlar, bilgisayarlı tomografiyi (BT) bu konuda merkeze koymuştur. BT, radyografiden daha hassas olarak kabul edilmektedir.

Birçok kohort çalışması, hastaların çoğunda (%77,8-100) buzlu cam opasiteleri olduğunu bildirmiştir. BT'de, COVID-19 bulgusu olarak en yaygın bildirilen diğer özellikler arasında periferik dağılım, ince retiküler opasiteler ve vasküler kalınlaşma bulunmaktadır (59). Seri nazofarengeal örnekleme ile karşılaştırıldığında, BT, COVID-19 tanısı için, tek bir zaman noktasında RT-PCR testinden daha duyarlı olabilir (60,61). Ancak Amerikan Radyoloji Cemiyeti, BT'nin COVID-19 hastalığı için tarama veya birinci basamak tanı testi olarak kullanılmamasını önermektedir (62). Radyoloji disiplini, bilimsel inceleme sürecini aceleye getirmenin öngörülemez sonuçlar ortaya koyabileceği konusunda uyarmakta, COVID-19 için potansiyel tedaviler ve aşılarla ilgili çalışmaların hız kazanması ile radyolojik yöntemlerin tanıda kullanımının daha amaca uygun hale gelebileceğini düşünmektedir (63).

Tanıda Diğer Laboratuvar Testlerinin Kullanımı

Laboratuvar testlerinden bazıları da COVID-19 hastalarında tanıyı destekleyebilmektedir. Bunların arasında en sık bildirilenler; albümin düzeyinde azalma (%75,8), C-reaktif protein artışı (%58,3), yüksek laktat dehidrojenaz seviyeleri (%57,0) ve lenfopenidir (%43,1) (64). Eritrosit sedimentasyon hızında; aspartat aminotransferaz, alanin aminotransferaz ve kreatinin kinaz seviyelerinde artış; lökopeni; lökositöz; bilirubin ve kreatinin seviyelerinde artış da bildirilmiştir (65-67).

Mevcut güncel durumda, salgının neredeyse tüm coğrafyalardaki yoğunluğu ve bu yoğunluk kontrol edilemez ise, artacak olan sağlık bakımı gereksinimini karşılamaktaki

yeterlilik en önemli sorundur. Bu hastaları izleyen hekimler için ise erken tanı, riskli seyredebilecek hasta gruplarını ve hastalık şiddetini öngörerek hasta bakımının iyileştirilmesi ve mortalitenin azaltılması en önemli önceliklerdir.

Pandemi sürecinde, üzerinde en çok çalışılan konu, hastaların hızla ve güvenle tanımlanabileceği “point of care” (hasta başı hızlı testler) testlerin geliştirilmesi ise, pandemiye sonlandıracak gelişmelere kadar, hayatın, eğitim ve COVID-19 dışı sağlık sorunları için sağlık bakımı gibi alanlarının açılıp sürdürülebilmesi için büyük önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR

1. Guo YR, Cao QD, Hong ZS, Tan YY, Chen SD, Jin HJ et al. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak-an update on the status. *Military Medical Research* 2020;7:11.
2. Chen Y, Liu Q, Guo D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *J Med Virol* 2020;92:418-23.
3. Tan W, Zhao X, Ma X, Wang W, Niu P, Xu W, et al. A novel coronavirus genome identified in a cluster of pneumonia cases-Wuhan, China 2019-2020. *China CDC Weekly* 2020;2:61-2.
4. 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.
5. Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* 2020; 579:270-3.
6. Tolksdorf K, Buda S, Schuler E, Wieler LH, Haas W. Influenza-associated pneumonia as reference to assess seriousness of coronavirus disease (COVID-19). *Euro Surveill* 2020;25:2000258.
7. Cheng MP, Lee TC, Tan DHS, Murthy S. Generating randomized trial evidence to optimize treatment in the COVID-19 pandemic. *CMAJ* 2020;192:E405-7.
8. Coronaviridae. ICTV. https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/positive-sense-rna-viruses-2011/w/posrna_viruses/222/coronaviridae
9. Fung TS, Liu DX. Human Coronavirus: Host-Pathogen Interaction. *Annu Rev Microbiol* 2019;73:529-57.
10. Zhou Y, Hou Y, Shen J, Huang Y, Martin W, Cheng F. Network-based drug repurposing for novel coronavirus 2019-nCoV/SARS-CoV-2. *Cell Discov* 2020;6:14.
11. <https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-remarks-at-the-media-briefing-on-2019-ncov-on-11-february-2020>
12. <https://www.euro.who.int/en/health-topics/health-emergencies/coronavirus-covid-19/news/news/2020/3/who-announces-covid-19-outbreak-a-pandemic>
13. <https://covid19.who.int/>
14. Linton NM, Kobayashi T, Yang Y, Hayashi K, Akhmetzhanov AR, Jung SM, et al. Incubation Period and Other Epidemiological Characteristics of 2019 Novel Coronavirus Infections with Right Truncation: A Statistical Analysis of Publicly Available Case Data. *J Clin Med* 2020;9:538.
15. CDC. 2019 Novel Coronavirus, Wuhan, China: Symptoms. CDC. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/about/symptoms.html>
16. Tong JY, Wong A, Zhu D, Fastenberg JH, Tham T. The Prevalence of Olfactory and Gustatory Dysfunction in COVID-19 Patients: A Systematic Review and Meta-analysis. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2020;163:3-11.
17. Stokes EK, Zambrano LD, Anderson KN, Marder EP, Raz KM, El Burai Felix S, et al. Coronavirus Disease 2019 Case Surveillance - United States, January 22-May 30, 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2020; 69:759-65.

18. Cohen PA, Hall LE, John JN, Rapoport AB. The Early Natural History of SARS-CoV-2 Infection: Clinical Observations From an Urban, Ambulatory COVID-19 Clinic. *Mayo Clin Proc* 2020; 95:1124-6.
19. Tostmann A, Bradley J, Bousema T, Yiek WK, Holwerda M, Bleeker-Rovers C, et al. Strong associations and moderate predictive value of early symptoms for SARS-CoV-2 test positivity among healthcare workers, the Netherlands, March 2020. *Euro Surveill* 2020; 25:2000508.
20. Infectious Diseases Society of America. COVID-19 Prioritization of Diagnostic Testing. <https://www.idsociety.org/globalassets/idsa/public-health/covid-19-prioritization-of-dx-testing.pdf>
21. Centers for Disease Control and Prevention. Overview of Testing for SARS-CoV-2. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/testing-overview.html>
22. Infectious Diseases Society of America Guidelines on the Diagnosis of COVID-19, May 5, 2020. <https://www.idsociety.org/practice-guideline/covid-19-guideline-diagnostics/>
23. European Society for Blood and Marrow Transplantation. COVID-19 anbd BMT. <https://www.ebmt.org/covid-19-and-bmt>
24. 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; ciaa344.
25. 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.
26. Loeffelholz MJ, Tang YW. Laboratory diagnosis of emerging human coronavirus infections-the state of the art. *Emerg Microbes Infect* 2020; 9:747-56.
27. Sağlık Bakanlığı Sağlık hizmetleri Genel Müdürlüğü. COVID-19 (SARS-CoV-2 enfeksiyonu) Laboratuvar Biyogüvenlik Rehberi. <https://tetkikteshis.saglik.gov.tr/TR,65016/covid-19-sars-cov-2-enfeksiyonu-laboratuvar-biyogüvenlik-rehberi.html>
28. Cevik M, Bamford C, Ho A. COVID-19 pandemic – A focused review for clinicians. *Clin Microbiol Infect* 2020; 26:842-7.
29. Wylie AL, Fournier J, Casanovas-Massana A, Campbell M, Tokuyama M, Vijayakumar P, et al. Saliva or Nasopharyngeal Swab Specimens for Detection of SARS-CoV-2. *N Engl J Med* 2020; 383:1283-6.
30. Hong KH, Lee SW, Kim TS, Huh HJ, Lee J, Kim SY, et al. Guidelines for Laboratory Diagnosis of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in Korea. *Ann Lab Med* 2020; 40:351-60.
31. Maxmen A. Thousands of coronavirus tests are going unused in US labs. *Nature* 2020; 580:312-3.
32. <https://covid19.saglik.gov.tr/TR-68720/covid-19-yetkilendirilmis-tani-laboratuvarlari-listesi.html>
33. Organization WH. Laboratory testing for coronavirus disease 2019 (COVID-19) in suspected human cases: interim guidance, 2 March 2020. World Health Organization; 2020.
34. Xiang J, Yan M, Li H, Liu T, Lin C, Huang S, et al. Evaluation of Enzyme-Linked Immunoassay and Colloidal Gold-Immunochemical Assay Kit for Detection of Novel Coronavirus (SARS-Cov-2) Causing an Outbreak of Pneumonia (COVID-19). *medRxiv*. 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.02.27.20028787>
35. WHO; <https://www.finddx.org/covid-19/pipeline>.
36. US Food and Drug Administration. Emergency Use Authorizations. <https://www.fda.gov/medical-devices/emergency-situations-medical-devices/emergency-use-authorizations>.
37. Hansen KE, Caliendo AM, Arias CA, et al. Infectious Diseases Society of America Guidelines on the Diagnosis of COVID-19: Serologic Testing. August 18, 2020 <https://www.idsociety.org/practice-guideline/covid-19-guideline-serology/>.

38. Okba NM, Muller MA, Li W, Wang C, GeurtsvanKessel CH, Corman VM, et al. SARS-CoV-2 specific antibody responses in COVID-19 patients. medRxiv. 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.03.18.20038059>
39. Long QX, Liu BZ, Deng HJ, Wu GC, Deng K, Chen YK, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. *Nat Med* 2020; 26:845-8.
40. Amanat F, Nguyen T, Chromikova V, Strohmeier S, Stadlbauer D, Javier A, et al. A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans. *MedRxiv* 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.03.17.20037713>
41. Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *JAMA* 2020; 323:2249-51.
42. Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange S, Müller MA, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature* 2020; 581:465-9.
43. Jiehao C, Jin X, Daojiong L, Zhi Y, Lei X, Zhenghai Q, et al. A Case Series of children with 2019 novel coronavirus infection: clinical and epidemiological features. *Clin Infect Dis* 2020; 71:1547-51.
44. WHO. Clinical management of severe acute respiratory infection when novel coronavirus (2019-nCoV) infection is suspected. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/330893>
45. Xiao AT, Tong YX, Zhang S. False negative of RT-PCR and prolonged nucleic acid conversion in COVID-19: Rather than recurrence. *J Med Virol* 2020; 10.1002/jmv.25855.
46. Doll ME, Pryor R, Mackey D, Doern CD, Bryson A, Bailey P, et al. Utility of retesting for diagnosis of SARS-CoV-2/COVID-19 in hospitalized patients: Impact of the interval between tests. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2020;11:1-2.
47. Xu J, Wu R, Huang W, Zheng W, Xinling R, Wu N, et al. Computed tomographic imaging of 3 patients with Coronavirus Disease 2019 with negative virus real-time reverse-transcriptase polymerase chain reaction test. *Clin Infect Dis* 2020; 71:850-2.
48. Kumar S, Nyodu R, Maurya VK, Saxena SK. Host Immune Response and Immunobiology of human SARS-CoV-2 Infection. In: Saxena SK, ed. *Coronavirus Disease 2019 (COVID19) Epidemiology, Pathogenesis, Diagnosis, and Therapeutics*. Singapore: Springer; 2020.p.43-53.
49. Shi J, Han D, Zhang R, Li J, Zhang R. Molecular and Serological Assays for SARS-CoV-2: Insights From Genome and Clinical Characteristics. *Clin Chem* 2020; 66:1030-46.
50. Meyer B, Drosten C, Muller MA. Serological assays for emerging coronaviruses: challenges and pitfalls. *Virus Res* 2014;194:175-83.
51. WHO. Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS): laboratory diagnostic tests. 2020.
52. WHO2. Laboratory testing for 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases. 2020.
53. Udugama B, Kadhiresan P, Kozlowski HN, Malekjahani A, Osborne M, Li VYC, et al. Diagnosing COVID-19: The Disease and Tools for Detection. *ACS Nano* 2020; 14:3822-35.
54. Guo L, Ren L, Yang S, Xiao M, Chang D, Yang F, et al. Profiling early humoral response to diagnose novel Coronavirus Disease (COVID-19). *Clin Infect Dis* 2020; 71:778-85.
55. FIND. SARS-COV-2 Diagnostic Use Cases. <https://www.finddx.org/covid-19/dx-use-cases/>
56. Caliendo AM, Hanson KE. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): Diagnosis. In Hirsch MS, Bloom A (eds). *UpToDate*. <https://www.uptodate.com/>.
57. Chung M, Bernheim A, Mei X, Zhang N, Huang M, Zeng X, et al. CT imaging features of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV). *Radiology* 2020; 295:202-7.
58. Wang D, Hu B, Hu C, Zhu F, Liu X, Zhang J, et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA* 2020; 323:1061-9.

59. Bai HX, Hsieh B, Xiong Z, Halsey K, Choi JW, Tran TML, et al. Performance of radiologists in differentiating COVID-19 from viral pneumonia on chest CT. *Radiology* 2020; 296:E46-54.
60. Ai T, Yang Z, Hou H, Zhan C, Chen C, Lv W, et al. Correlation of chest CT and RT-PCR testing in coronavirus disease 2019 (COVID-19) in China: a report of 1014 cases. *Radiology* 2020; 296:E32-40.
61. Fang Y, Zhang H, Xie J, Lin M, Ying L, Pang P, et al. Sensitivity of chest CT for COVID19: comparison to RT-PCR. *Radiology* 2020; 296:E115-7.
62. American College of Radiology. ACR recommendations for the use of chest radiography and computed tomography (CT) for suspected COVID-19 infection. Erişim 5 Nisan 2020. www.acr.org/Advocacy-and-Economics/ACR-Position-Statements/Recommendations-for-Chest-Radiography-and-CT-for-Suspected-COVID19-Infection.
63. Hope MD, Raptis CA, Henry TS. Chest Computed Tomography for Detection of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Don't Rush the Science. *Ann Intern Med* 2020; 173:147-148.
64. Rodriguez-Morales AJ, Cardona-Ospina JA, Gutiérrez-Ocampo E, Villamizar-Peña R, Holguin-Rivera Y, Escalera-Antezana JP, et al. Latin American Network of Coronavirus Disease 2019-COVID-19 Research (LANCOVID-19). Clinical, laboratory and imaging features of COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Travel Med Infect Dis* 2020; 34:101623.
65. Chen L, Liu HG, Liu W, Liu J, Liu K, Shang J, et al. Analysis of clinical features of 29 patients with 2019 novel coronavirus pneumonia. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi* 2020; 43:203-8.
66. Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet* 2020; 395:507-13.
67. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020; 395:497-506.