Eurasian Journal
of Veterinary Sciences
Covid-19 Special Issue
www.eurasianjvetsci.org

INVITED REVIEW

SARS CoV-2'nin moleküler ve epidemiyolojik yönleri

Emre Özan[1], Cüneyt Tamer[2], Bahadır Müftüoğlu[1]

[1]Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Laboratuvar Hayvanları Anabilim Dalı, Atakum, Samsun, Türkiye
[2]Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı, Atakum, Samsun, Türkiye

Geliş:15.08.2020, Kabul: 23.10.2020

*emre.ozan@omu.edu.tr

Molecular and epidemiological aspects of SARS CoV-2

Eurasian J Vet Sci, 2020, Covid-19 Special Issue, 41-49
DOI: 10.15312/EurasianJVetSci.2020.298

Öz

İnsanoğlu, tarih boyunca çeşitli mikroorganizmalar tarafından meydana getirilen enfeksiyonlardan muzdarip olmuş ve maalesef olmaya devam etmektedir. Bu enfeksiyonlardan bazıları sınırlı bir bölge de hastalıklar meydana getirirken, bazıları ise ciddi epidemilere hatta dünyayı etkisi altına alan pandemilere neden olmuştur. Son olarak *Coronaviridae* ailesinin üyesi olan ve *Severe Acute Respiratory Syndrome coronavirus 2* (SARS CoV-2) olarak adlandırılan viral etken tarafından meydana getirilen pandemi, halk sağlığı açısından önemli salgınlardan biri olarak tarih sahnesindeki yerini almıştır. Hastalığın ilk bildirimi 2019 yılının Aralık ayında Çin'in Wuhan şehrinden yapılmış olmasına rağmen kısa bir süre de birçok ülke de hastalık görülmeye başlanmış ve Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından pandemi seviyesine ulaştığı bildirilmiştir. Günümüzde, hastalık henüz kontrol altına alınamamakla birlikte yaklaşık 19 milyon insanın hastalığa yakalandığı bilinmektedir. Ayrıca hastalığın, özellikle ileri yaşlı ve/veya kronik hastalığa sahip farklı yaş gruplarındaki insanlarda ölümlere neden olması, salgının ciddiyetini ortaya koymaktadır. Birçok ülke tarafından SARS CoV-2'nin moleküler ve epidemiyolojik özellikleri hakkında bilgi birikimimizin arttırılması, hastalıkla mücadele de kritik öneme sahip olan aşı ve antiviral ajanların geliştirilmesi için çeşitli araştırmalar yapılmaktadır. Bu araştırmaların bir sonucu olarak özellikle aşı geliştirme çalışmaların da umut verici haberler gelmeye başlamıştır. Ancak SARS CoV-2'nin moleküler yapısının daha iyi bilinmesi ve meydana gelmesi olası mutasyonların takip edilmesi, özellikle aşılama başarısı için kritik önem taşımaktadır.

Anahtar kelimeler: Coronavirus, COVID-19, moleküler epidemiyoloji, SARS CoV-2

Abstract

Mankind has suffered from infections caused by various microorganisms throughout history. While some of these infections have caused diseases in a limited region, some of these have caused serious epidemics and even pandemics that affect the world. The pandemic, which is caused by the viral agent called *Severe Acute Respiratory Syndrome coronavirus 2* (SARS CoV-2) in *Coronaviridae* family, has taken its place in the history scene as one of the important epidemics in terms of public health. Although the first notification of the disease was made in Wuhan, China in December 2019, the disease started to appear in many countries for a short time and it was declared as pandemic by the World Health Organization (WHO). Today, it is known that about 19 million people get the disease, besides the disease has not been controlled yet. Also, the fact that the disease causes deaths, especially in the elderly and/or people with chronic diseases in different age groups, reveals the severity of the outbreak. Various researches are carried out by many countries to increase our knowledge about the molecular and epidemiological properties of SARS CoV-2 and to develop vaccines and antiviral agents, which are critical in fighting the disease. As a result of these researches, promising news started to come especially in vaccine development studies. However, better knowledge of the molecular structure of SARS CoV2 and the monitoring of possible mutations are critical, especially for vaccination success.

Keywords: Coronavirus, COVID-19, molecular epidemiology, SARS CoV-2

Giriş

Coronaviruslar, evcil ve yabani hayvanlar ile insanlarda özellikle sindirim ve solunum sistemi enfeksiyonlarına neden olabilmektedir. Meydana gelen hastalığın şiddeti, subklinik enfeksiyonlardan, ölümle sonuçlanabilen hastalık tablosuna kadar değişkenlik gösterebilmektedir. Uzun yıllar coronaviruslar tarafından meydana getirilen enfeksiyonların halk sağlığından daha ziyade hayvan sağlığı açısından önemli olduğu düşünülmekteydi. Bunun nedeni olarak, 2002 yılında Çin'de meydana gelen *severe acut respiratory syndrome coronavirus-1* (SARS CoV-1) salgınına kadar insanlarda görülen dört coronavirusun, orta şiddetli solunum yolu enfeksiyonları meydana getirmesi gösterilebilir. Ancak SARS CoV-1 salgını ve ilerleyen yıllarda görülen *Middle East respiratory syndrome coronavirus* (MERS CoV) salgınları bu düşüncenin değişmesine neden olmuştur (Ozan ve Tamer 2020, Yeşilbağ ve Aytoğu 2020). Ayrıca hayvanların, insanlarda enfeksiyon yapan coronavirusların doğal veya ara konakçısı olarak rol oynamalarının yanı sıra, enfeksiyonlar sırasında meydana gelebilecek mutasyonlar ile coronavirusların türler arası bariyeri aşmasına yardımcı olabileceğinin anlaşılması, halk sağlığı açısından coronavirusların önemini arttıran etkenlerden biri olarak düşünülebilir. Son yirmi yıl içerisinde, özellikle yarasa coronaviruslarının türler arası bariyerleri aşmasını sağlayacak mutasyonlar geçirdiği anlaşılmaktadır. Günümüzde etkisini halen devam ettiren ve dünya genelinde pandemiye neden olan coronavirus salgını buna örnek olarak verilebilir (Cui ve ark 2019, Ozan ve Tamer 2020).

Hastalık, ilk olarak 2019 yılı Aralık ayının sonunda, Çin'in Wuhan şehrinde ateş ve solunum sistemi belirtileri gösteren bir hastada bildirilmiştir. Kısa süre içerisinde, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) Çin Ofisi tarafından, ilk hasta ile teması olduğu saptanan ve etiyolojisi bilinmeyen şiddetli solunum sistemi semptomlarının görüldüğü 44 hastanın varlığı rapor edilmiştir. Çinli araştırmacılar tarafından 7 Ocak 2020'de hastalık etkeninin yeni tip coronavirus olduğu tespit edilmiş ve 2019-novel coronavirus (2019-nCoV) olarak adlandırılmıştır. Çin dışında ilk vakanın 13 Ocak 2020'de Tayland'da görülmesinden kısa süre sonra ise hastalığın görüldüğü ülke sayısı artmaya başlamıştır (Hasöksüz ve ark 2020). Uluslararası Virus Taksonomi Komitesi (International Commitee on Taxonomy of Viruses, ICTV) tarafından 11 Şubat 2020 tarihinde 2019-nCoV tarafından meydana getirilen hastalık coronavirus infectious disease-19 (COVID-19) ve etken ise *severe acute respiratory syndrome coronavirus-2* (SARS CoV-2) olarak adlandırılmıştır (Kaul 2020, Li ve ark 2020).

Bu derlemenin amacı, günümüzde halen bütün şiddetiyle devam etmekte olan SARS CoV-2 pandemisinin epidemiyolojik özelliklerine genel bir bakış sunmanın yanı sıra, virusun moleküler yapısı ve hastalığın ilk görülmeye başladığı zamandan itibaren viral RNA'da meydana gelen değişiklikler hakkında bilgi vermektir.

SARS CoV-2'nin epidemiyolojik özellikleri

Çin'in Wuhan şehrinde 31 Aralık 2019 tarihi itibariyle, etiyolojisi bilinmeyen pneumoni vakasının bildirilmesinden yaklaşık iki ay sonra DSÖ tarafından COVID-19 pandemi olarak ilan edilmiştir. Maalesef hastalığın ülkeler ve insanlar arasında yüksek yayılma hızı günümüzde de devam etmektedir. Küresel çapta meydana gelen SARS CoV-2 enfeksiyonuna baktığımızda, 3 Ağustos 2020 tarihine kadar hastalığın 216 ülkede 19 milyona yakın insana bulaştığını ve vefat sayısının 690.000'den fazla olduğunu görmekteyiz. Bu süre zarfında ülkeler tarafından çeşitli mücadele yöntemleri kullanılmasına rağmen, hastalığın yayılma hızında küresel bazda önemli bir azalma sağlanamamıştır. COVID-19 pandemisinin başlarında vakaların en çok görüldüğü yer Çin olurken, zaman içerisinde önce İtalya ve İspanya, daha sonrasında ABD hastalığın yeni merkezi olmaya başlamıştır. Günlük yeni vaka sayısı ve enfekte insan sayısı gibi parametrelere bakıldığında ABD'yi Brezilya, Hindistan ve Rusya takip etmektedir. Ancak Güney Afrika ile Peru, Meksika ve Kolombiya gibi Güney Amerika ülkelerindeki tablo da azımsanmayacak durumdadır. Halen dünya genelinde 7 milyon civarında enfekte insan bulunduğu bilinmektedir. Amerika, Avrupa, Güneydoğu Asya, Doğu Akdeniz, Afrika ve Batı Pasifik bölgelerinde tespit edilen vaka sayısının toplam vaka sayısına oranları sırasıyla %53.70, %18.88, %12.37, %8.68, %4.54 ve %1.83'dür. Günlük meydana gelen en yüksek vefat sayısı (12.453) 17 Nisan 2020 tarihinde olmasına rağmen, yine günlük teşhis edilen en yüksek yeni vaka sayısı (297.133) 1 Ağustos 2020 tarihinde görülmüştür. Hastalığın yayılımı Avrupa ülkelerinde kısmen kontrol altına alınmış gibi görünmesine rağmen ABD'de ilk COVID-19 vakasının tespitinden sonra hastalığın yayılmasının halen daha kritik düzeyde yüksek seyretmesinin yanı sıra Brezilya, Hindistan ve Rusya gibi ülkelerde de hastalığın hızlı yayılım göstermesi ve en yüksek günlük yeni vaka sayısının Ağustos ayının başında tespit edilmesi hastalığın halk sağlığı açısından ne denli tehlikeli durumda olduğunu göstermektedir (WHO, 2020). Ayrıca, başta Avrupa ülkeleri olmak üzere ülkeler arası seyahat kısıtlaması gibi tedbirlerin kısmi olarak azaltılması, solunum sistemi enfeksiyonların daha sık görüldüğü sonbahar ve kış aylarının yaklaşması ve hastalıktan korunmamıza katkı sağlayacak ruhsatlı bir aşının henüz olmaması ilerleyen zamanlarda vakaların artma riskini de beraberinde getirmektedir (Ozan ve Tamer 2020).

Ülkemizde ise ilk SARS CoV-2 vakası 11 Mart 2020 tarihinde bildirilmiş ve günlük yeni vaka sayısı en yüksek 5.138 olarak kayıt edilmiştir. 3 Ağustos 2020'ye kadar ülkemizde 235.000 civarında vaka ve 5.800 civarında vefat sayısı bildirilmiştir. Enfekte insan sayısının önemli miktarda düşmesine rağmen günlük yeni vaka sayılarının halen 1.000'nin üzerinde seyretmesi SARS CoV-2'nin ülkemiz açısından da önemini koruduğunu göstermektedir (TÜBİTAK 2020).

SARS CoV-2'nin yarasa coronaviruslarından orijin aldığı dü-

şünülmesine rağmen hastalığın en önemli bulaşma kaynağı, SARS CoV-1 ve MERS CoV'da olduğu gibi enfekte insanlardır. SARS CoV-2 ile enfekte bir kişinin öksürmesi, hapşırması veya konuşması sırasında tükürük veya solunum sekresyonları ile virus içeren damlacıklar çevreye saçılmaktadır. Hastalığın bulaşma yolu olarak damlacık enfeksiyonu ve direkt temasın önemli olduğu kabul edilmektedir (Bulut ve Kato 2020). SARS CoV-2, genetik yakınlığı bulunan SARS CoV-1 gibi angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) reseptörünü kullanmakta olup, SARS CoV-1'e göre daha yüksek affinite sergilemektedir (Petrosillo ve ark 2020, Riggioni ve ark 2020). Bu özelliğinden dolayı, hastalıkların yayılım hızını gösteren önemli verilerden biri kabul edilen R0 değeri SARS CoV-2'de (2-2.5), SARS CoV-1(1.7-1.9) ve MERS CoV'a (0.7) göre daha yüksek görülmektedir. Mevcut bilgilerimize göre vaka-ölüm oranları incelendiği zaman SARS CoV-2'de (%2.3) bu oranın SARS CoV-1(%9.5) ve MERS CoV'a (%34.4) göre daha düşük seyrettiği görülmektedir (Petrosillo ve ark 2020).

COVID-19 vakalarında hastalığın şiddeti yaşa bağlı değişiklik göstermektedir. Yapılan araştırmalarda COVID-19'a bağlı meydana gelen ölüm oranlarının 45 yaş üzerindeki insanlarda her 10 yaş artışında iki katına çıktığı bildirilmektedir. Ayrıca İtalya ve Çin'de görülen vakalarda hastalığın şiddeti ile hipertansiyon, kardiyovasküler hastalık ve diyabete bağlı olarak artışların görüldüğü kayıtlara geçmiştir (Riggioni ve ark 2020). Ayrıca COVID-19 vakalarında ölümle sonuçlanan prognozunun yanı sıra orta şiddetli veya subklinik vakaların varlığı da bilinmektedir (Bulut ve Kato 2020). COVID-19'a yakalanmış kişilerde genel olarak solunum sistemi semptomları olan ateş, öksürük, solunum güçlüğü gibi belirtilerin yanı sıra kas ağrıları da görülebilmektedir. Bazı vakalarda ise boğaz ağrısı, nezle ve ishalin görüldüğü de rapor edilmiştir (Shi ve ark 2020).

SARS CoV-2 enfeksiyonları, çocuklarda yetişkinlere kıyasla hafif semptomlarla seyretmektedir. Küçük yaştaki çocuklar, şiddetli COVID-19 semptomları açısından düşük risk altındadır. Tespit edilen çoğu çocuk vakalarında ateş, yorgunluk ve kuru öksürük gibi hafif belirtiler gözlenmekte veya hiçbir klinik bulguya rastlanılmamaktadır. Hasta çocuklara uygulanan destek tedavisi neticesinde genellikle iki haftada iyileşme şekillenmektedir. Çocuklarda COVID-19'un bu hafif seyrinin tam olarak hangi sebepten kaynaklandığı açıklanamamaktadır. Ancak bu durumun çocuk ve yetişkinler arasında ACE2 reseptörlerinin ekspresyon farklılıklarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Yapılan araştırmalar ACE2 ekspresyonunun çocuklarda en düşük düzeyde olduğu ve yaşa bağlı olarak arttığını göstermektedir (Riggioni ve ark 2020). Bazı araştırmacılar tarafından, ACE2 reseptör düzeyinin yaşa bağlı bu değişimine benzer şekilde, yaşam alanının yüksek/düşük rakımda olmasına bağlı olarak da değişiklik gösterebileceği söylenmektedir. Yüksek rakımda yaşayan insanlarda, COVID-19'un patojenitesinin daha düşük olduğu ve bu durumun ACE2 reseptör miktarında görülen azalmaya bağlı olabileceği bildirilmektedir (Arias-Reyes ve ark 2020).

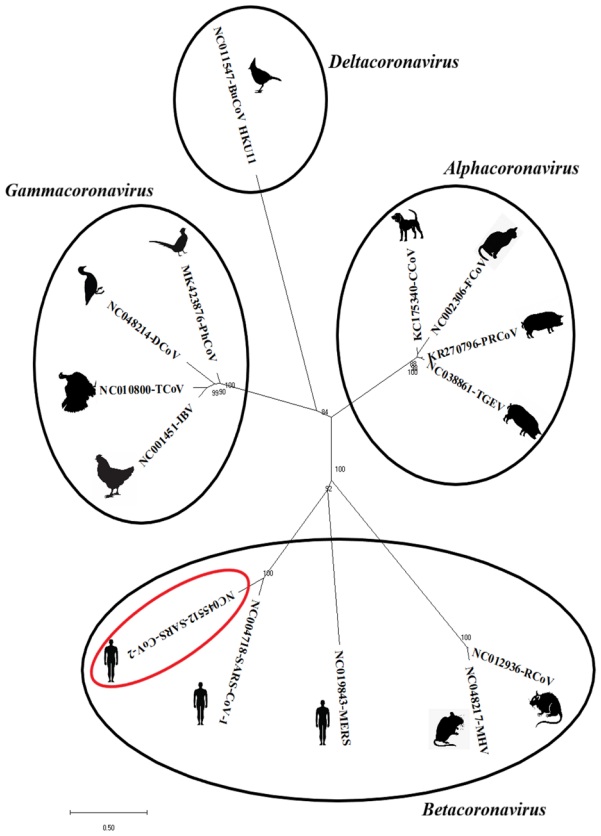
SARS CoV-2 zoonotik bir enfeksiyon olmasına rağmen hayvanlarda hastalığın seyri tam olarak anlaşılabilmiş değildir. Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü (World Organisation for Animal Health, OIE) tarafından hayvan vakalarının bildirimi yapılmış ve GenBank'ta hayvan vakalarından elde edilen viruslara ait sekans verileri de bulunmaktadır (NCBI 2020, OIE 2020). Ancak OIE tarafından bildirimi yapılan hayvan vakalarında ya klinik belirti görülmediği ya da solunum sistemi enfeksiyonlarına neden olan başka etkenlerin varlığının tespit edildiği bildirilmektedir. Buna ek olarak OIE uzmanları tarafından, diğer zoonotik hastalıkların aksine SARS CoV-2'nin hayvanlara enfekte insanlardan bulaşmış olabileceği görüşü üzerinde durulmaktadır. SARS CoV-2 enfeksiyonunun insanlara hayvanlar tarafından bulaşma durumunu ve SARS CoV-2 enfeksiyonlarının hayvanlar üzerindeki etkisini anlayabilmemiz için daha kapsamlı araştırmaların yapılması gerektiği düşünülmektedir (OIE 2020).

SARS CoV-2'nin moleküler özellikleri

Orijin ve sınıflandırma

Çin'de etiyolojisi bilinmeyen ve insanlarda şiddetli solunum sistemi semptomları ile seyreden vakaların görülmesinin ardından yapılan metagenomik analizler sonucunda, hastalık etkeninin *Coronaviridae* ailesinde bulunan viruslar ile benzerlikleri tespit edildi. Daha sonra SARS CoV-2 olarak adlandırılan virusun *bat coronavirus RaTG13* ile yaklaşık %96, SARS CoV-1 ile yaklaşık %80 ve MERS CoV ile de yaklaşık %50 nükleotit benzerliği sergilediği görülmüştür (Helmy ve ark 2020, Junejo ve ark 2020, Zhou ve ark 2020). Bazı araştırmacılar tarafından SARS CoV-2 virusunun pangolin coronaviruslarına yüksek oranda benzediğinin ve bu nedenle pangolinlerin ara konak olabileceği söylenmesine rağmen bu görüşe katılmayan çalışmalar da bulunmaktadır (Li ve ark 2020).

SARS CoV-2, ICTV tarafından *Coronaviridae* ailesinde bulunan *Orthocoronavirinae* alt ailesi, *Betacoronavirus* cinsi ve *Sarbecovirus* alt cinsi içerisinde sınıflandırılmaktadır (ICTV 2020). *Orthocoronavirinae* alt ailesinde sadece memelilerde enfeksiyon meydana getiren virusların bulunduğu A*lphacoronavirus* ve *Betacoronavirus* cinsleri ile kuşlar ve bazı memeli türlerinde enfeksiyon meydana getiren virusların bulunduğu *Deltacoronavirus* ve *Gammacoronavirus* cinsleri yer almaktadır (Cui ve ark 2019). SARS CoV-2'nin *Orthocoronavirinae* alt ailesi içerisinde bulunan bazı virus türleri ile benzerliklerini gösteren filogenetik analiz Şekil 1'de sunulmuştur.



Şekil 1. SARS CoV-2'nin Orthocoronavirinae içerisinde bulunan bazı viruslarla filogenetik analizi. GenBank'tan indirilen tüm genom sekansları ile data seti oluşturuldu ve alignment BioEdit (Ver 7.2.5) programında yapıldı. Filogenetik ağaç MEGA X (Ver 10.0.5) programında Tamura-Nei modeli ile Neigbor-Joining metodu kullanılarak oluşturuldu

Virion özellikleri

SARS CoV-2 zarflı bir virus olmakla birlikte tek zincirli, pozitif polariteli, segmentsiz ve yaklaşık 29 kbp uzunluğunda bir RNA'ya sahiptir. Viral genomun 5' ve 3' bölgelerinde iki adet protein kodlamayan bölge bulunmaktadır. Ayrıca viral genomda bulunan 11 açık okuma alanı (ORF) tarafından 27 protein kodlanmaktadır (Helmy ve ark 2020). Virus, farklı ORF'lar tarafından kodlanan spike (S), envelope (E), membran (M) ve nükleokapsit (N) olarak adlandırılan dört yapısal proteine sahiptir. Virusun dış katmanında bulunan ve zarf proteini olan S glikoproteini, konak hücrelerin alt solunum yolu hücrelerinde bulunan ACE2 reseptörlerine bağlanarak viral replikasyonun ilk basamağını başlatmaktadır (Astuti 2020, Wu ve ark 2020). Bu nedenle coronavirusların S glikoproteinini kodlayan gen bölgesinde meydana gelebilecek mutasyonların virusun türler arası bariyeri aşmasını sağlayarak konakçı spektrumunda değişiklik oluşturabilmesinin yanı sıra konakta doku tropizminde de değişikliğe neden olabileceği düşünülmektedir (Brownlie ve Whittaker 2017).

Viral genomda, yapısal proteinleri kodlayan ORF'ların haricinde yedi ORF daha bulunmaktadır (ORF1ab, ORF3a, ORF6, ORF7a, ORF7b, ORF8 ve ORF10). İlk ORF olan ve viral RNA'nın yaklaşık üçte ikisi uzunluğunda olan ORF1ab içerisinde iki alt okuma bölgesi bulunmaktadır (ORF1a ve ORF1ab). ORF1ab tarafından içlerinde RNA bağlı RNA polimerazın da bulunduğu 16 adet yapısal olmayan protein kodlanmaktadır (Wu ve ark 2020). ORF1ab tarafından kodlanan diğer yapısal olmayan proteinlerin doğal bağışıklığın baskılanması ve konak hücre RNA'nın translasyonunun bloke edilmesi gibi görevlerinin olduğu bilinmektedir. Diğer ORF'lar tarafından en az altı aksesuar protein kodlanmaktadır. Ancak, halen daha bazı yapısal olmayan proteinlerin görevleri tam olarak bilinmemektedir (Yoshimoto ve ark 2020).

Filogenetik analiz ve moleküler farklılıklar

SARS CoV-2'nin de üyesi olduğu *Coronaviridae* ailesinde bulunan virusların, tüm RNA virusları içerisinde en uzun ikinci genomu bulundurmaları ve diğer RNA viruslarında olduğu gibi yüksek mutasyon oranına sahip olmalarından dolayı COVID-19 pandemisine neden olan virusun genetik olarak farklı tiplere sahip olabileceği düşünülmekte ve yapılan filogenetik analizler de bu düşünceyi doğrulamaktadır (Brownlie ve Whittaker 2017, Fan ve ark 2019, Tang ve ark 2020, Zaki ve ark 2012).

COVID-19 salgınının görülmeye başlandığı ilk zamanlarda, Tang ve ark (2020) tarafından yapılan bir araştırma ile SARS CoV-2'nin S ve L olarak adlandırılan iki tipinin olduğu tespit edilmiştir. Tang ve ark (2020) tarafından 103 SARS CoV-

Tablo 1. SARS CoV-2 tipleri için genetik belirteç kombinasyonları (GISAID 2020)

SARS CoV-2 Tipleri	Genetik Belirteç Kombinasyonları[a,b]
S	C8782T, T28144C (ORF8 protein-L84S)
L	C241, C3037, C8782, G11083, A23403, G25563, G26144, T28144, g28882
V	G11803T (NSP6-L37F), G26144T (ORF3a protein-G251V)
G	C241T, C3037T, A23403G (S protein-D614G)
GH	C241T, C3037T, A23403G (S protein-D614G), G25563T (ORF3a protein-Q57H)
GR	C241T, C3037T, A23403G (S protein-D614G), G28882A (N protein-G204R)

a:Referans Wuhan-Hu-1 izolatının sekans dizilimine göre nt pozisyonu ve/veya değişimi.

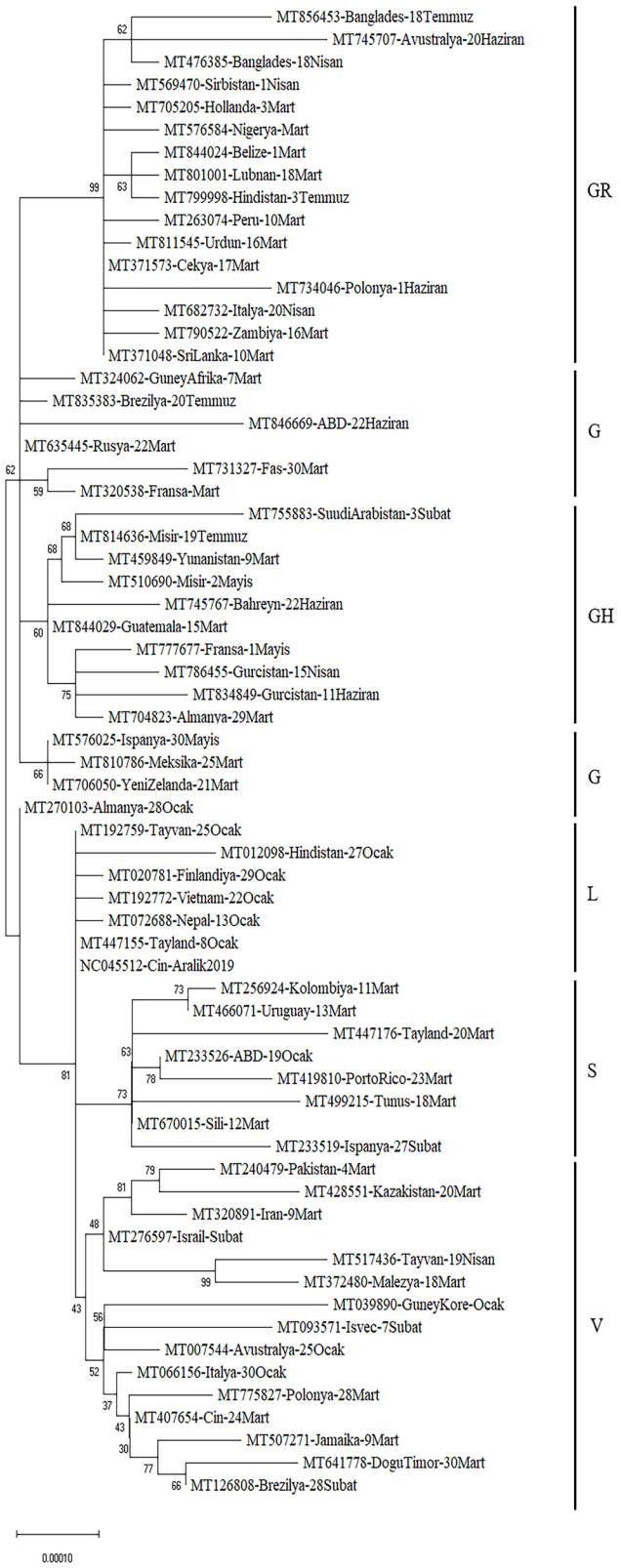
b:İlgili proteinde meydana gelen aa değişimi.

2 virusunun tüm genom sekansları incelendiğinde, referans Wuhan-Hu-1 izolatının sekansına göre 8782 ve 28144 pozisyonunda bulunan nükleotit (nt) farklılıklarına uygun şekilde örneklerin filogenetik ağaçta konumlandığı görülmüştür. İlk farklılığın görüldüğü 8782nt pozisyonu (ORF1ab üzerinde 8517nt), L tipinde C iken, S tipinde T olarak tespit edilmiştir. Bu nt farklılığı, amino asit (aa) değişimine neden olmamaktadır. Ancak 28144nt pozisyonunda (ORF8 üzerinde 251nt ve 84aa) L tipinde T ve S tipinde C olarak tespit edilen farklılığın aa değişimine neden olduğu görülmüştür. Tiplerin isimlendirilmesinde de anlaşılacağı üzere bu nt farklılığı nedeniyle ORF8'in 84aa pozisyonunda L tipinde lösin ve S tipinde ise serin bulunmaktadır. Referans Wuhan-Hu-1 izolatının L tipinde tespit edilmesine rağmen yapılan analizlerde S tipi atasal tip olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, örneklerin %70'i L tipinde ve %30'u S tipinde gruplandırılmıştır. Bu sonuçlara göre araştırmacılar tarafından, L tipinin daha agresif olduğu ve daha hızlı yayılım gösterdiği düşünülmüştür (Tang ve ark 2020).

İlerleyen zamanlarda GISAID veri tabanı uzmanları tarafından yapılan çalışmalar ile SARS CoV-2'nin S ve L tiplerine ek olarak V, G, GH ve GR tiplerinin de bulunduğu ve toplamda altı tipe ayrıldığı tespit edilmiştir. Bu uzmanlar tarafından, SARS CoV-2 tiplerini tespit etme amacıyla, dokuz genetik belirteç kombinasyonu kullanılmış ve bu belirteçler Tablo 1'de verilmiştir. Uzmanlar tarafından, V ve G tiplerinin L tipinden, GH ve GR tiplerinin ise G tipinden köken aldığı düşünülmektedir (GISAID 2020).

Yin (2020) tarafından yapılan başka bir araştırmada, 558 SARS CoV-2 tüm genom sekansı incelenerek nt ve aa'lerde meydana gelen mutasyonlar ve görülme sıklıkları tespit edilmiştir. Araştırmaya göre C241T, C3037T, C14408T ve A23403G nt mutasyonları en sık karşılaşılan mutasyonlar olarak tespit edilmiştir. NSP3'ün kodlandığı bölgede meydana gelen C3037T mutasyonunun aa değişimine neden olmadığı görülmüştür. Ancak araştırmacı tarafından, kesintili subgenomik replikasyon için önemli bir bölgede meydana gelen C241T mutasyonu, RNA'ya bağlı RNA polimerazın sentezlendiği ve aa değişimine neden olan C14408T mutasyonu ile ACE2 reseptör bağlanma bölgesi olan S proteinin de aa değişimi yapan A23403G mutasyonlarının kritik öneme sahip oldukları vurgulanmaktadır. Bu önemli mutasyonların özellikle Avrupa ülkelerinde diğer coğrafik alanlara göre daha fazla görüldüğünü bildirilmektedir. Ayrıca, yapısal proteinlerden N ve M proteinlerinde de aa değişimi meydana getiren mutasyonların varlığına da dikkat çekilmektedir (Yin 2020).

GenBank'ta bulunan SARS CoV-2'nin tüm genom sekansları içerisinden farklı coğrafik bölgelerden ve farklı örnekleme zamanlarına göre seçilen 66 sekans verisi incelendiğinde, örneklerin filogenetik ağaçta bu SARS CoV-2 tiplerine göre konumlandığı görülmektedir. MEGA X (Ver 10.0.5) programında Tamura-Nei modeli ile Neighbor-Joining metodu kul-



Şekil 2. SARS CoV-2 tüm genom filogenetik analizi. Sekans verileri, GenBank numarası-izole edildiği ülke-izolasyon zamanı olarak isimlendirildi

lanılarak oluşturulan filogenetik ağaç Şekil 2'de sunulmaktadır. Şekil 2'de sunulan filogenetik ağaç incelendiğinde, birçok ülkede COVID-19 salgınının görülmeye başlaması ile elde edilen izolatların zaman içerisinde mutasyona uğradığı ve farklı bir SARS CoV-2 tipine dönüştüğü veya farklı sebeplerle ülkede sirküle olan baskın virus tipinin değiştiği görülmektedir. Örneğin, Çin'de Aralık 2019'da ilk tespit edilen izolat L tipinde iken, 24 Mart 2020 tarihinde tespit edilen izolat V tipindedir. Aynı şekilde İspanya'da 27 Şubat 2020 tarihinde tespit edilen izolat S tipinde iken 30 Mayıs 2020 tarihinde tespit edilen izolat G tipinde yer almaktadır.

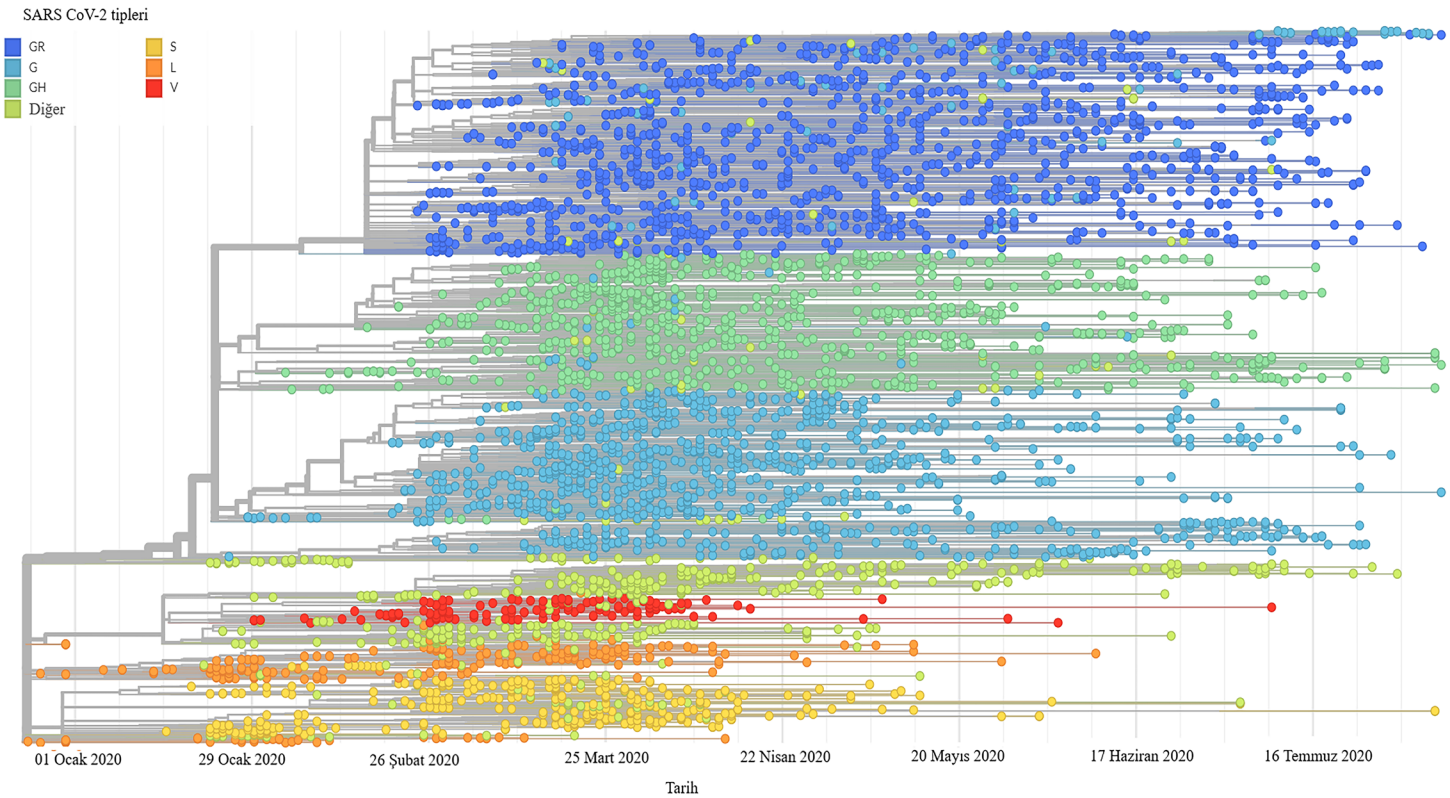
Zamanla meydana gelen mutasyonlara bağlı olarak yeni SARS CoV-2 tiplerinin ortaya çıkması ve dünya genelinde hangi tipin daha fazla sirküle olduğu, GISAID uzmanları tarafından Aralık 2019 ile Ağustos 2020 arasında elde edilen 4468 SARS CoV-2 sekans verisi kullanılarak hazırlanan filogenetik analizde daha iyi anlaşılmaktadır (Şekil 3).

Hayvanlarda görülen SARS CoV-2 enfeksiyonlarının moleküler analizi

SARS CoV-2 enfeksiyonlarının evcil ve yabani hayvanlardaki risk durumu ve hayvanların hastalığın yayılımındaki durumu halen gizemini korumakla birlikte OIE tarafından raporlanmış hayvan enfeksiyonlarının varlığı da bilinmektedir. OIE tarafından aralarında ABD, İngiltere, Çin, Rusya ve Güney Afrika'nın bulunduğu ülkelerden kedi, köpek, puma, kaplan ve aslanlarda görülen COVID-19 enfeksiyonları raporlanmıştır (OIE 2020). Bunlara ek olarak GenBank'ta hayvanlardan izole edilen 18 SARS CoV-2 tüm genom sekansı bulunmaktadır (NCBI 2020). Referans örnek Wuhan-Hu-1 izolatı ile birlikte bu 18 tüm genom analizinden data seti oluşturularak filogenetik analiz yapılmıştır (Şekil 4).

Yapılan analiz sonucunda hayvanlardan elde edilen SARS CoV-2 örneklerinin L, G, GR ve GH tiplerinde olduğu görülmüştür. Ayrıca ORF1a tarafından kodlanan yapısal olmayan proteinler ile dört yapısal proteini kodlayan gen bölgeleri, aa değişimi yönünden incelenerek tespit edilen değişimler ayrıntılı olarak Tablo 2'de sunulmuştur. E protein ve M protein sekanslarında aa değişimine neden olabilecek bir mutasyon tespit edilmediği için Tablo 2'de yer almamaktadır.

Fransa'da insanlardan elde edilen ve GenBank'ta yer alan 82 SARS CoV-2 tüm genom analizi ile hayvan örnekleri incelenmiştir. Bazı insan izolatları ile hayvan izolatlarının sekans verilerinin, S protein-D614G, N protein-R203K ve N protein-G204R bölgelerinde aa değişimi açısından benzerlik gösterdiği görülmüştür. Ancak NSP2-H208Y, NSP3-V234I ve



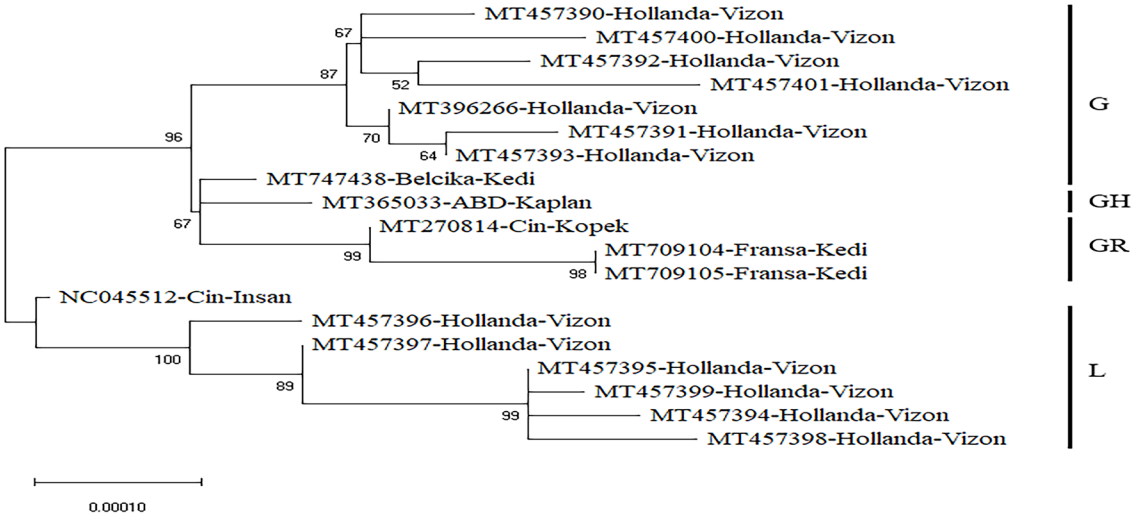
Şekil 3. GISAID verilerine göre SARS CoV-2 tiplerinin filogenetik analizi (GISAID 2020)

Tablo 2. Hayvanlardan izole edilen SARS CoV-2 örneklerinde aa farklılıkları

Accession No	Ülke	Konakçı	NSP2					NSP3								NSP5	NSP9		S protein						N protein	
			85	192	208	225	268	178	234	278	384	750	1139	1183	1392	259	37	107	261	367	453	486	501	614	203	204
[a]NC045512	Çin	İnsan	T	A	H	A	D	D	V	P	K	I	V	A	C	I	G	A	G	V	Y	F	N	D	R	G
MT365033	ABD	Kaplan	I	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.
MT270814	Çin	Köpek	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	K	R
MT747438	Belçika	Kedi	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.
MT709104	Fransa	Kedi	.	.	Y	.	.	.	I	.	N	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	K	R
MT709105	Fransa	Kedi	.	.	Y	.	.	.	I	.	N	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	K	R
MT457390	Hollanda	Vizon	.	V	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	F	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.
MT457391	Hollanda	Vizon	.	V	.	T	.	.	.	.	.	.	I	.	.	.	E	.	.	.	.	.	T	G	.	.
MT457392	Hollanda	Vizon	.	V	.	.	.	.	.	.	.	V	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.
MT457393	Hollanda	Vizon	.	V	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	E	.	.	.	.	.	.	G	.	.
MT457394	Hollanda	Vizon	.	.	.	.	[b]-	.	.	.	.	.	.	.	.	V	E	.	D	.	F	.	.	.	.	.
MT457395	Hollanda	Vizon	.	.	.	.	[b]-	.	.	.	.	.	.	.	.	V	E	.	D	.	F	.	.	.	.	.
MT457396	Hollanda	Vizon	.	.	.	.	[b]-	.	.	.	.	.	.	.	.	.	E	.	.	.	.	L	.	.	.	.
MT457397	Hollanda	Vizon	.	.	.	.	[b]-	.	.	.	.	.	.	.	.	V	E	.	.	.	F	.	.	.	.	.
MT457398	Hollanda	Vizon	.	.	.	.	[b]-	.	.	.	.	.	.	.	.	V	E	.	D	.	F	.	.	.	.	.
MT457399	Hollanda	Vizon	.	.	.	.	[b]-	.	.	.	.	.	.	.	.	V	E	V	D	.	F	.	.	.	.	.
MT457400	Hollanda	Vizon	.	V	.	.	.	Y	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.
MT457401	Hollanda	Vizon	.	V	.	.	.	.	.	L	.	.	.	V	.	.	.	.	.	F	.	.	.	G	.	.
MT396266	Hollanda	Vizon	.	V	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	E	.	.	.	.	.	.	G	.	.

aReferans Wuhan-Hu-1 izolatı

bNSP2'de bu aa dizilimleri bulunmamaktadır



Şekil 4. Hayvanlardan izole edilen SARS CoV-2 örneklerinin tüm genom analizi. Sekans verileri, GenBank numarası-izole edildiği ülke-izolasyon zamanı olarak isimlendirildi

NSP3-K384N bölgelerindeki aa değişimleri sadece hayvan izolatlarının sekans verilerinde tespit edilirken, insan izolatlarının sekans verilerinde bu değişimlerin olmadığı tespit edilmiştir. Aynı şekilde Hollanda'da insanlardan elde edilen ve GenBank'ta yer alan 3 SARS CoV-2 tüm genom analizlerinin incelenmesi sonucunda aa değişimdeki tek benzerliğin S protein-D614G bölgesinde meydana geldiği görülmüştür ve hayvan izolatlarının sekans verilerinde görülen diğer aa değişimlerine insan izolatlarının sekans verilerinde rastlanmamıştır.

Öneriler

SARS CoV-2 enfeksiyonu ilk kez görülmesinden kısa bir süre sonra tüm dünyayı etkisi altına alarak, hem halk sağlığını ciddi boyutlarda etkilemiş, hem de sosyal hayat ve ekonomik alanda ciddi sorunlara neden olmuştur. Etken halen halk sağlığını tehdit etmeye devam ederken, aynı zamanda sağlık sektörü ve diğer alanlara yansıyan sorunlar nedeniyle de ülkeleri olumsuz yönde etkilemeye devam etmektedir. Günümüz de viral etkenlere karşı tam olarak etkili bir antiviral ajanın bulunmaması, SARS CoV-2 enfeksiyonları ile mücadelede en önemli seçenek olarak aşılamayı ön plana çıkarmaktadır. Hastalığın yayılmaya başlamasıyla birlikte eş zamanlı birçok ülkede aşı geliştirme çalışmaları başlatılmış ve son günlerde umut verici haberler gelmeye başlamıştır. Aynı zamanda tedavi başarımızı arttırmak amacıyla birçok araştırmacı tarafından antiviral ilaç geliştirilmeye çalışıldığı da bilinmektedir. Ancak bu biyolojik ürünlerin etkinliğinin ve güvenirliğinin değerlendirilmesinde zamana ihtiyaç vardır. Ne olursa olsun maske ve mesafe gibi koruyucu önlemlere dikkat edilmesi en önemli kural olmalıdır.

SARS CoV-2 salgını insanoğlunun karşılaştığı ilk salgın olmayıp maalesef sonuncusu da olmayacaktır. Bu amaçla özellikle hayvanlardan insanlara bulaşabilecek yeni etkenlere karşı daha iyi mücadele edebilmemiz için teknolojik alt yapımızı geliştirmemizin yanı sıra bilgi birikimimizin de geliştirilmesinin gerektiği açıktır.

Kaynaklar

Aries-Reyes C, Zubieta-DeUrioste N, Poma-Machicao L, Aliaga-Raduan F, et al., 2020. Does the pathohenesis of SARS-CoV-2 virus decrease at high-altitude? Respir Physiol Neurobiol, 277, 103443.

Astuti I, 2020. Sever acute respiratory seyndrome coronavirus 2 (SARS-Cov-2): an overview of viral structure and host response. Diabetes Metab Syndr, 14, 407-412.

Bulut C, Kato Y, 2020. Epidemiology of COVID-19. Turk J Med Sci, 50, 563-570.

Brownlie J, Whittaker G, 2017. Coronaviridae, In: Fenner's Veterinary Virology, Ed; MacLachlan NJ, Dubovi EJ, Beşinci Baskı, Elsevier Inc, United Kingdom, 435-461.

Cui J, Li F, Shi ZL, 2019. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. Nat Rev Microbiol, 17(3), 181-192.

Fan Y, Zhao K, Shi ZL, Zhou P, 2019. Bat coronaviruses in China. Viruses, 11(3), 210.

GISAID, 2020. Genomic epidemiology of hCOV-19. Erişim:[https://www.gisaid.org/epiflu-applications/next-hcov-19-app/]. Erişim Tarihi:14.08.2020

Hasöksüz M, Kılıç S, Saraç F, 2020. Coronaviruses and SARS-CoV-2. Turk J Med Sci, 50, 549-556.

Helmy YA, Fawzy M, Elaswad A, Sobieh A, et al., 2020. The CO-

VID-19 pandemic: a comprehensive review of taxonomy, genetics, epidemiology, diagnosis, treatment, and control. J Clin Med, 9, 1225.

ICTV, 2020. International Commitee on Taxonomy of Viruses. Erişim:[https://talk.ictvonline.org/taxonomy/]. Erişim Tarihi:14.08.2020

Junejo Y, Ozaslan M, Safdar M, Khailany RA, et al., 2020. Novel SARS-CoV-2/COVID-19: Origin, pathogenesis, genes and genetic variations, immune responses and pkylogenetic analysis. Gene Reports, 20, 100752.

Kaul D, 2020. An overview of coronaviruses including the SARS-2 coronavirus – molecular biology, epidemiology and clinical implications. Curr Med Res Pract, 10, 54-64.

Li X, Zai J, Zhao Q, Nie Q et al., 2020. Evolutionary history, potential intermediate animals host, and cross-species analyses of SARS-CoV-2. J Med Virol, 92(6), 602-611.

NCBI, 2020. National center for biotechnology information. Erişim:[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/?term=severe+acute+respiratory+seyndrome+coronavirus+2]. Erişim Tarihi:14.08.2020

OIE, 2020. World organisation for animal health. Erişim:[https://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/WI]. Erişim Tarihi:14.08.2020

Ozan E, Tamer C, 2020. Evcil hayvanların önemli coronavirüs enfeksiyonları. Eurasian JHS, 3(COVID-19 Special Issue), 102-110.

Petrosillo N, Viceconte G, Ergonul O, Ippolito G, et al., 2020. COVID-19, SARS and MERS: are they closely related? Clin Microbiol Infect, 26(6), 729-734.

Riggioni C, Comberiati P, Giovannini M, Agache I, et al., 2020. A compendium answering 150 questions on COVID-19 and SARS-CoV-2. Allergy, In press.

Shi Y, Wang G, Cai XP, Deng JW, et al., 2020. An overview of COVID-19. J Zhejiang Univ Sci, 21(5), 343-360.

Tang X, Wu C, Li X, Song Y, et al., 2020. On the origin and continuing evolution of SARS-CoV-2. Natl Sci Rev, 7, 1012-1023.

TÜBİTAK, 2020. Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu, COVID-19 Araştırma Portalı. Erişim:[https://covid19.tubitak.gov.tr/dunyada-durum]. Erişim Tarihi:03.08.2020.

WHO, 2020. World Health Organization-Coronavirus Disease(COVID-19). Erişim:[https://covid19.who.int/]. Erişim Tarihi:03.08.2020

Wu F, Zhao S, Yu B, Chen YM, et al., 2020. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. Nature, 579, 265-269.

Yeşilbağ K, Aytoğu G, 2020. Coronavirus host divergence and novel coronavirus (Sars-CoV-2) outbreak. Clin Exp Ocul Trauma Infect, 2(1), 6-14.

Yin C, 2020. Genotyping coronavirus SARS CoV-2: methods and implications. Genomics, 112, 3588-3596.

Yoshimoto FK, 2020. The proteins of severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS CoV-2 or n-COV19), the cause of COVID-19. The Protein Journal, 39, 198-216.

Zaki AM, Van Boheemen S, Bestebroer TM, Osterhaus ADME, et al., 2012. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. N Engl J Med, 367(19), 1814-1820.

Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, et al., 2020. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. Nature, 579, 270-273.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: Emre Özan
Tasarım: Emre Özan
Denetleme/Danışmanlık: Emre Özan, Cüneyt Tamer
Veri Toplama ve/veya İşleme: Emre Özan, Cüneyt Tamer, Bahadır Müftüoğlu
Analiz ve/veya Yorum: Emre Özan, Cüneyt Tamer
Kaynak Taraması: Emre Özan, Cüneyt Tamer
Makalenin Yazımı: Emre Özan, Cüneyt Tamer
Eleştirel İnceleme: Emre Özan, Cüneyt Tamer, Bahadır Müftüoğlu

Cite This Article: *Özan E, Tamer C, Müftüoğlu B, 2020. SARS CoV-2'nin moleküler ve epidemiyolojik yönleri. Eurasian J Vet Sci, Covid-19 Special Issue, 41-49*