

13. COVID-19’da mezenşimal kök hücre tedavisi ve intravenöz immunoglobulin tedavileri

Doç. Dr. Deniz Gören Şahin, Demirođlu Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hematoloji BD, İstanbul, drdenizgoren@gmail.com

Prof. Dr. Mutlu Arat, İstanbul Florence Nightingale Hastanesi Hematoloji ve Hematopoetik Hücre Transplantasyonu Birimi, mutluarat@gmail.com

MEZENKİMAL KÖK HÜCRE TEDAVİSİ

Mezenkimal kök hücre (MKH) nedir?

Mezenkimal kök hücreler (MKH), immünmodülatör ve rejenerasyonu tetikleyici kapasiteye sahip multipotent stromal hücrelerdir. Bu hücrelerin antimikrobiyal etki gösterdiği ve allojeneik kök hücre transplantasyonunda ‘immün ayrıcalıklı’ bir fenotip sergilediği bilinmektedir^[1]. Mezenkimal kök hücreler, bölünerek kendi kendini yenileyebilir ve osteoblastlar, kondroblastlar, adipositler, hepatositler ve diğerleri dahil olmak üzere birçok doku türüne farklılaşabilirler. Kemik iliği, dental pulpa, yağ dokusu ve umbilikal kord gibi birçok farklı dokudan izole edilebilmektedirler. Başlıca fonksiyonel etkileri ise parakrin sinyalizasyon ile sağlanan sitokin ve kemokinlerin yardımı ile sağlanmaktadır.

Mezenkimal kök hücre tedavisi kullanım alanları nelerdir?

Mezenkimal kök hücrelerin klinik kullanımı immün aracı hastalıklar ve özellikle kemik, kırıldak, kas ve yağ dokusu gibi mezenkim hücrelerinden gelişen doku ve organların zarar görmesi sonucu oluşan hastalıklar ile sınırlıdır. Günümüzdeki en sık kullanım alanlarından birinin, güçlü immünsupresif ve immünmodülatör etkilerinden dolayı allojeneik kök hücre nakli sonrası gelişen graft versus host hastalığının profilaksi ve tedavisi olduğu söylenebilir^[2]. Bunun yanı sıra birçok pre-klinik çalışmada mezenkimal kök hücrelerin, akut respiratuvar distres sendromu (ARDS) ve akut akciğer hasarı (ALI)’de etkin olabileceği ve güvenle kullanılabileceği belirtilmekle birlikte, klinik düzeydeki etkinlik verileri henüz olgunlaşmamıştır^[3,4].

COVID-19’da MKH kullanımının rasyoneli nedir?

Viral enfeksiyonlar da dahil olmak üzere tüm enfeksiyonlarda, başta doğal ve takiben kazanılmış immünitenin, mevcut inflamasyonu baskılayarak iyileşme sürecinde oynadığı temel rol net olarak bilinmektedir. Bazı durumlarda hastanın virüse karşı aşırı aktifleşmiş bağışıklık sisteminin çok sayıda sitokin ve kemokin salınımını tetiklemesi ile “sitokin fırtınası” olarak tanımlanan bir tablo oluşabilir.

İşte COVID-19 patogenezinde de, immün sistemin aşırı reaksiyon göstermesi ile ortaya çıkan sitokin fırtınasına bağlı sistemik hasar önemli bir yer tutmaktadır. COVID-19 hastalarında, ARDS ve çoklu organ disfonksiyonu gibi yaşamı tehdit eden komplikasyonlara, yaygın inflamasyon, sitokin fırtınası sendromu ve düzensiz immün yanıtın aracılık ettiği gösterilmiştir^[5,6]. Dolayısıyla bu abartılı immün yanıtın önlenmesi tedavi sürecindeki en önemli hedeflerden biri haline gelmiştir. Bu noktada, mezenkimal kök hücrelerin sahip oldukları güçlü immünmodülatör özellikleri ile, SARS-CoV-2 tarafından indüklenen hücre aracılı inflamatuvar yanıtı baskılayabileceği ve akut akciğer hasarını azaltabileceği görüşü öne sürülmüştür. Bunun yanı sıra mezenkimal hücrelerin, virüsün hücre içine giriş yolu olarak kullandığı angiotensin converting enzim 2 (ACE-2) reseptörünü taşımadıkları ve bu nedenle enfeksiyona karşı dirençli oldukları gösterilmiştir^[7,8].

MKH tedavisi hakkındaki mevcut klinik çalışmalar nelerdir?

Çalışmalar hızla devam etmekle birlikte, COVID-19 enfeksiyonu için henüz elimizde tedavi edici bir ajan ve/veya koruyucu aşı mevcut değildir. Bu platformda, pandemi süreci içerisinde, elde mevcut olan tüm olası tedavi ajanları hastalığa karşı denenmektedir. Mezenkimal kök hücre tedavisi de COVID-19 hastalarında kullanılmaya başlanmış ve klinik tabanlı deneyimin mevcut olduğu hasta sayısı giderek artmaya başlamıştır. İlk MKH deneyimi, ciddi pnömoni/ARDS ile seyreden 65 yaşındaki bir kadın hastanın olgu sunumu olarak yayınlanmıştır^[9]. Bu olguda toplam üç kez umbilikal kord kaynaklı MKH infüzyonu sonrası hastanın klinik ve laboratuvar olarak düzeldiği ve önemli bir yan etki görülmediği raporlanmıştır. Takiben Leng ve ark.^[10] ağır COVID-19 tanılı yedi hastadaki deneyimlerini paylaşmıştır. Bu çalışmada tedavi edilen tüm hastalar tek bir doz MKH infüzyonu almış ve dikkat çekici bir şekilde tüm hastalar, iki haftalık bir süre zarfında farkedilir bir yan etki olmaksızın klinik ve laboratuvar gelişme göstermişlerdir^[10]. Takip eden dönemde vakalar yayınlanmaya devam etmekle birlikte, bugüne kadar clinicaltrials.gov adresinde listelenen ve COVID-19 hastalarında MKH tedavisinin etkinliğini değerlendiren, birçok aşamada 40'tan fazla klinik çalışma yürütülmektedir^[11]. Şimdiye kadar klinik araştırmalardan elde edilen ilk sonuçlar ve olgu sunumları cesaret verici olsa da, COVID-19'daki MKH'lerin terapötik potansiyelini tahmin etmek için henüz çok erkendir. Potansiyel etkinliklerini doğrulamak için halen devam etmekte olan geniş çaplı hasta kohortunda yapılan çalışmaların sonuçları beklenmelidir.

MKH tedavisinde yan etkiler/güvenilirlik ile ilgili sorunlar nelerdir?

Mezenkimal kök hücre tedavisi genel olarak güvenli bir tedavi imajı çizse de, bazı noktaları vurgulamak gerekliliği vardır. İntravenöz uygulama sonrası MKH'lerin yaratabileceği emboli riski bu anlamda önemlidir. Mezenkimal kök hücrelerin büyük kısmı sistemik uygulama sonrası akciğer mikrovasküler sistemine yönelir ve burada hapsolür, bu hücrelerin yarı ömrü kısadır ve oldukça az bir kısmı diğer

dokulara dağılmaktadır ^[12]. Temelde doku faktörü yoluyla prokoagülan aktivite gösterdiği bilinen MKH'ler, ayrıca 'ani kan aracılı inflamatuvar reaksiyon' (IBMIR) olarak adlandırılan bir çeşit doğal bağışıklık saldırısını ortaya çıkarabilir ki, bu reaksiyon da mikrovasküler embolizasyon potansiyeline katkıda bulunabilir ^[13]. Mezenkimal kök hücrelerin yüksek dozlarda verilmesi de ayrıca protrombotik profillerini destekleyici bir faktör olabilir. Tüm bunların zaten mikrovasküler tromboz olasılığı mevcut olan COVID-19 hastalarında mortaliteye direk etkili olabilecek faktörler olduğu unutulmamalıdır.

COVID-19 hastalarına MKH uygulamaları nasıl yapılmalıdır?

Mezenkimal kök hücre terapötik rejimlerini optimize ve standardize etmek, hasta için minimum risk ile faydalı ve karşılaştırılabilir klinik sonuçlar elde etmek için gereklidir. Bu uygulamanın zamanlaması için öneri; genellikle yaşamı tehdit eden klinik tablonun hızla geliştiği ama henüz oturmadığı dönemdir ^[10]. Uygulama yolu intravenöz infüzyon şeklindedir. Bazı yayınlarda entübe hastalarda intratrakeal ve/veya bronkoskopik yol ile MKH'lerin verildiği ve uygun bir seçenek olabileceği öne sürülmüştür ^[14-16]. Optimal doz bilinmemekle birlikte, klinik çalışmalarda önerilen başlangıçta 1×10^6 hücre/kg intravenöz uygulama şeklindedir. Devam eden araştırmalar ve kayıtlı çalışmalarda hücre kaynakları umbilikal kord, Wharton jeli, adipöz doku, kemik iliği ve dental kaynaklı MKH'ler olup henüz en uygun hücre kaynağının hangisi olduğu netlik kazanmamıştır ^[17]. Önerilen doz stratejisi, yine net olarak optimize edilememekle birlikte, her seferinde üç gün arayla dört adete kadar ayrı MKH infüzyonu kullanmaktır ^[18,19].

Klinik Veriler Işığında MKH için Güncel Önerimiz Nedir?

Mezenkimal kök hücrelerin aracılık ettiği yararlı etkileri gösteren verilerin çoğu, in vitro ve in vivo yürütülen çalışmalardan elde edilmiştir; bununla birlikte, klinik ortamlarda, MKH bazlı tedavinin terapötik etkinliği henüz gösterilebilmiş değildir. Net bir öneride bulunabilmek için halen yürümekte olan klinik faz çalışmalarının sonuçları beklenmelidir. Özellikle klinik yararı konusunda en çok çalışma ve deneyime sahip olduğumuz Graft versus Host hastalığında, halen kaynak, pasaj sayısı, dozlam konusunda bir uzlaşıya sahip olamayışımız da COVID-19 pandemisinde temkinli bir takip içinde olmamızı ve kontrollü çalışmaların sonuçlarını beklememizi telkin etmektedir.

İNTRAVENÖZ İMMÜNGLOBULİN TEDAVİSİ: Non-SARS-CoV-2 Spesifik

İntravenöz immünglobulin nedir? Kullanım alanları nelerdir?

İntravenöz immünglobulin (IVIG) binlerce sağlıklı vericiden alınan plazmaların havuzlanması ile elde edilen, saflaştırılmış poliklonal IgG ürünleridir. Başlangıçta primer ve sekonder immün yetmezliklerde

yerine koyma tedavisi ve infeksiyonlarda pasif immünizasyon amaçlı kullanılmışken, günümüzde immünmodülatör etkileri sayesinde birçok otoimmün ve sistemik inflamatuvar hastalığın tedavisinde de yaygın olarak kullanılmaktadır [20,21].

Intravenöz immünglobulin (IVIG), COVID-19 hastalarına nasıl fayda sağlar?

Kesin mekanizma bilinmemekle birlikte, IVIG tedavisi sonrası hastalardaki mevcut inflamatuvar parametrelerdeki düzelme dikkat çekicidir [22]. Yüksek dozlarda immünmodülatör etki gösterdiği bilinen IVIG tedavisinin, şiddetli hastalık kriterlerine sahip COVID-19 hastalarındaki sitokin fırtınası tablosunu hedef olarak azalttığı ve bunu da komplemanın temizlenmesi, doğal bağışıklık hücrelerinin inhibisyonu, efektör T hücre aktivasyonu ve T regülatör hücrelerin çoğalması yoluyla gerçekleştirdiği öne sürülmüştür [23].

COVID-19 hastalarında IVIG ile yapılan klinik çalışma sonuçları nelerdir?

Güncel yayınlanan çok merkezli bir çalışmada, geriye dönük olarak ağır COVID-19 tanılı hastalarda IVIG tedavisi alan ve almayan hastalar (sırasıyla 174 ve 151 hasta) karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada IVIG tedavisinin erken dönemde başlanmasının (başvurunun ilk 7 günü içinde) ve yüksek dozlarda (>15gr/gün) uygulanmasının kritik hasta grubunda prognozu iyileştirdiği gösterilmiştir [22]. Bununla birlikte, çalışmanın geriye dönük olması önemli bir kısıtlayıcı faktör olup, IVIG alan gruptaki hastaların daha yaşlı olması, daha yüksek koroner arter hastalığı insidansına sahip olmaları ve kritik hasta sayısının daha yüksek olması, çalışmanın yorumlanmasında güçlükler neden olmaktadır. Bu çalışmayı takiben beş rapor daha yayınlanmıştır. Randomize açık etiketli olan bir çalışma dışında, çoğunlukla olgu serileri veya geriye dönük değerlendirmelerdir [24-28]. Genel olarak bu raporlarda da IVIG tedavisinin tekli veya kombine tedavide olumlu katkılarının olduğu öne sürülmüştür. Yeni yayınlanan randomize çift kör ve plasebo kontrollü bir çalışmada, ağır COVID-19 tanılı 59 hasta, standart tedaviye ilaveten IVIG (20 gr/gün, 3 ardışık gün süreyle) veya plasebo koluna randomize edilmiştir [29]. Analizler sonucunda IVIG grubunda kontrol grubuna kıyasla ölüm oranlarının anlamlı derecede düşük olduğu (sırasıyla 6 hasta (%20) ve 14 hasta (%48.3); $p = 0.022$) izlenmiştir. Araştırmacılar bu çalışmanın sonunda başlangıç tedavisine yanıt vermeyen şiddetli COVID-19 enfeksiyonu olan hastalara IVIG uygulamasının klinik sonuçları iyileştirebileceğini ve ölüm oranlarını önemli ölçüde azaltabileceğini gösterdiklerini, bununla birlikte, bu ilacın standart bir tedavi olarak uygunluğunu doğrulamak için daha fazla sayıdaki hasta ile yapılacak fazla çok merkezli çalışmalara ihtiyaç olduğunu vurgulamışlardır.

Ayrıca şu anda piyasada mevcut IVIG preparatlarının bazılarında da SARS-CoV-2'ye karşı çapraz nötrleştirme aktivitesi olduğu gösterilmiştir [30,31]. Fakat bunun klinik pratikteki anlamlılığı henüz net değildir.

Mevcut bulgular eşliğinde COVID-19 tedavisinde IVIG önerilir mi?

İntravenöz immünglobulin kullanımının olumlu etkilerini öne çıkaran yayınlar olmakla birlikte COVID-19 tedavisinde IVIG rutin kullanımını destekler yeterli klinik çalışma bulunmamaktadır. Randomize kontrollü prospektif çalışmalara gereksinim vardır. Klinik çalışmalarda kullanımı desteklenmektedir. 2012 ve 2015 yıllarındaki MERS CoV pandemilerindeki enfeksiyon seyri sırasında izlenen derin trombositopenide, immünmodülatör etkisi ile IVIG tedavisinin etkili olabileceği öne sürülmüştür [32,33]. Bu anlamda, COVID-19 seyri sırasında da karşılaşılabilecek olası endikasyonlarında kullanımı söz konusu olabilir. Ancak klinisyenlerin IVIG'in bilinen aseptik menenjit, böbrek yetmezliği, hemolitik anemi ve özellikle tromboz gibi nadir ancak ciddi yan etkileri konusunda dikkatli olmaları gerekir. Özellikle COVID-19'un patogenezindeki mikrovasküler tromboz eğilimi dikkate alındığında, IVIG uygulamalarının, antikoagülan tedavi ile birlikte verilmesi tercih edilmelidir.

İNTRAVENÖZ İMMÜNGLOBULİN TEDAVİSİ: SARS-CoV-2 Spesifik

SARS-CoV-2 antikor temelli IVIG tedavisinin tanımı nedir?

Pasif immünizasyonun etkinliği, daha önceki viral salgınları tedavi etmek için test edilmiş olup mevcut COVID-19 pandemisinde de hayat kurtarma potansiyeline sahiptir. Ayrıca IVIG tedavisi ile de olumlu sonuçlar alındığına dair yayınlar gözlenmeye başlamıştır. SARS-CoV-2 antikor temelli IVIG tedavisi; COVID-19 geçiren ve iyileşen bireylerinin plazmasından immünglobulinlerin (hem SARS-CoV-2 antikorları hem de mevcut antikorlar) saflaştırılması ve IVIG formülasyonuna havuzlanmasıdır.

SARS-CoV-2 Spesifik IVIG ile ilgili klinik çalışmalar mevcut mu?

COVID-19 hastalarından toplanmış immün plazmadan hazırlanan IVIG ve hiperimmünglobulin ile ilgili çalışmalara yakın zamanda başlanılmıştır. SARS-CoV-2 immünglobulinlerinin COVID-19 tedavisinde kullanımına ilişkin henüz klinik veri bulunmamaktadır. Benzer şekilde, şiddetli akut solunum sendromu (SARS) veya Orta Doğu solunum sendromu (MERS) olan hastalarda da spesifik immünglobulin veya hiperimmünglobulin ürünlerinin kullanımına ilişkin klinik veri yoktur.

Mevcut bulgular eşliğinde COVID-19 tedavisinde SARS-CoV-2 spesifik IVIG tedavisi önerilir mi?

Bu aşamada şiddetli COVID-19 tedavisi için spesifik SARS-CoV-2 immünglobulinlerin lehine veya aleyhine öneride bulunmak için yeterli veri mevcut değildir, sağlıklı karar verecek olgunluk oluşmamıştır, geçmiş deneyimlerden ders alınmaya çalışılmaktadır.

Kaynaklar

1. Gao F, Chiu SM, Motan DA, et al. Mesenchymal stem cells and immunomodulation: current status and future prospects. *Cell Death Dis.* 2016 Jan 21;7(1):e2062.
2. Gao L, Zhang Y, Hu B, et al. Phase II Multicenter, Randomized, Double-Blind Controlled Study of Efficacy and Safety of Umbilical Cord-Derived Mesenchymal Stromal Cells in the Prophylaxis of Chronic Graft-Versus-Host Disease After HLA-Haploidentical Stem-Cell Transplantation. *J Clin Oncol.* 2016 Aug 20;34(24):2843-50.
3. Cardenes N, Aranda-Valderrama P, Carney JP, et al. Cell therapy for ARDS: efficacy of endobronchial versus intravenous administration and biodistribution of MAPCs in a large animal model. *BMJ Open Respir Res.* 2019 Jan 12;6(1):e000308.
4. Huppert LA, Liu KD, Matthay MA. Therapeutic potential of mesenchymal stromal cells in the treatment of ARDS. *Transfusion.* 2019 Feb;59(51):869-875.
5. Qin C, Zhou L, Hu Z, et al. Dysregulation of Immune Response in Patients With Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clin Infect Dis.* 2020 Jul 28;71(15):762-768.
6. Chen N, Zhou M, Dong X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet.* 2020 Feb 15;395 (10223):507-513.
7. Lukomska B, Stanaszek L, Zuba-Surma E, et al. Challenges and Controversies in Human Mesenchymal Stem Cell Therapy. *Stem Cells Int.* 2019:9628536.
8. Shetty AK. Mesenchymal Stem Cell Infusion Shows Promise for Combating Coronavirus (COVID-19)-Induced Pneumonia. *Aging Dis.* 2020 Mar 9;11 (2):462-464.
9. Liang B, Chen J, Li T, et al. Clinical remission of a critically ill COVID-19 patient treated by human umbilical cord mesenchymal stem cells: A case report. *Medicine (Baltimore).* 2020 Jul 31;99 (31):e21429.
10. Leng Z, Zhu R, Hou W, et al. Transplantation of ACE2(-) Mesenchymal Stem Cells Improves the Outcome of Patients with COVID-19 Pneumonia. *Aging Dis.* 2020 Mar 9;11(2):216-228.
11. clinicaltrials.gov MSC, COVID-19 (2020) <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=COVID-19&term=Mesenchymal+Stem+Cells&cntry=&state=&city=&dist>.
12. Li C, Zhao H, Wang B. Challenges for Mesenchymal Stem Cell-Based Therapy for COVID-19. *Drug Des Devel Ther.* 2020 Sep 29;14:3995-4001.
13. Coppin L, Sokal E, Stephenne X. Thrombogenic Risk Induced by Intravascular Mesenchymal Stem Cell Therapy: Current Status and Future Perspectives. *Cells.* 2019 Sep 27;8(10):1160.

14. Al-Khawaga S, Abdelalim EM. Potential application of mesenchymal stem cells and their exosomes in lung injury: an emerging therapeutic option for COVID-19 patients. *Stem Cell Res Ther.* 2020;11(1):437.
15. Zengin R, Beyaz O, Koc ES, et al. Mesenchymal stem cell treatment in a critically ill COVID-19 patient: a case report. *Stem Cell Investig.* 2020 Sep 8;7:17.
16. Can A, Coskun H. The rationale of using mesenchymal stem cells in patients with COVID-19-related acute respiratory distress syndrome: What to expect. *Stem Cells Transl Med.* 2020 Nov;9(11):1287-1302.
17. Golchin A, Seyedjafari E, Ardeshiryajimi A. Mesenchymal Stem Cell Therapy for COVID-19: Present or Future. *Stem Cell Rev Rep.* 2020 Jun;16(3):427-433.
18. Zheng G, Huang L, Tong H, et al. Treatment of acute respiratory distress syndrome with allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cells: a randomized, placebo-controlled pilot study. *Respir Res.* 2014 Apr 4;15:39.
19. Wilson JG, Liu KD, Zhuo H, et al. Mesenchymal stem (stromal) cells for treatment of ARDS: a phase 1 clinical trial. *Lancet Respir Med.* 2015 Jan;3(1):24-32.
20. Jolles S, Sewell WA, Misbah SA. Clinical uses of intravenous immunoglobulin. *Clin Exp Immunol.* 2005 Oct;142(1):1-11.
21. Casadevall A, Dadachova E, Pirofski LA. Passive antibody therapy for infectious diseases. *Nat Rev Microbiol.* 2004;2(9):695-703.
22. Shao Z, Feng Y, Zhong L, et al. Clinical efficacy of intravenous immunoglobulin therapy in critical ill patients with COVID-19: a multicenter retrospective cohort study. *Clin Transl Immunology.* 2020;9(10):e1192.
23. Galeotti C, Kaveri SV, Bayry J. Intravenous immunoglobulin immunotherapy for coronavirus disease-19 (COVID-19). *Clin Transl Immunology.* 2020;9(10):e1198.
24. Cao W, Liu X, Bai T, et al. High-Dose Intravenous Immunoglobulin as a Therapeutic Option for Deteriorating Patients With Coronavirus Disease 2019. *Open Forum Infect Dis.* 2020;7(3):ofaa102.
25. Mohtadi N, Ghaysouri A, Shirazi S, et al. Recovery of severely ill COVID-19 patients by intravenous immunoglobulin (IVIG) treatment: A case series. *Virology.* 2020 Sep;548:1-5.
26. Xie Y, Cao S, Dong H, et al. Effect of regular intravenous immunoglobulin therapy on prognosis of severe pneumonia in patients with COVID-19. *J Infect.* 2020;81(2):318-356.
27. Sakoulas GM, Kullar R, Greenwood K, et al. (2020) Intravenous Immunoglobulin (IVIG) Significantly Reduces Respiratory Morbidity in COVID-19 Pneumonia: A Prospective Randomized Trial. *medRxiv* 9:1-6. doi:doi.org/10.1101/2020.07.20.20157891

28. Zhou Z, Xie S, Zhang J, et al. (2020) Short-Term Moderate-Dose Corticosteroid Plus Immunoglobulin Effectively Reverses COVID-19 Patients Who Have Failed Low-Dose Therapy. Preprints. doi:doi:10.20944/preprints202003.0065.v1
29. Gharebaghi N, Nejadrahim R, Mousavi SJ, et al. The use of intravenous immunoglobulin gamma for the treatment of severe coronavirus disease 2019: a randomized placebo-controlled double-blind clinical trial. *BMC Infect Dis.* 2020;20(1):786.
30. Diez JM, Romero C, Gajardo R. Currently available intravenous immunoglobulin contains antibodies reacting against severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 antigens. *Immunotherapy.* 2020;12(8):571-576.
31. Diez JM, Romero C, Vergara-Alert J, et al. Cross-neutralization activity against SARS-CoV-2 is present in currently available intravenous immunoglobulins. *Immunotherapy.* 2020;12(17):1247-1255.
32. Kapoor M, Pringle K, Kumar A, et al. Clinical and laboratory findings of the first imported case of Middle East respiratory syndrome coronavirus to the United States. *Clin Infect Dis.* 2014 Dec 1;59(11):1511-1518.
33. Arabi YM, Arifi AA, Balkhy HH, et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with Middle East respiratory syndrome coronavirus infection. *Ann Intern Med.* 2014;160(6):389-397.