

Review Paper SARS-COV-2: History, Genetics, and Treatment



Niloofar Agharezaee¹ , *Flora Forouzesheh¹

1. Department of Genetics, Faculty of Advanced Science and Technology, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran.



Citation: Agharezaee N, Forouzesheh F. [SARS-COV-2: History, Genetics, and Treatment (Persian)]. Journal of Arak University of Medical Sciences (JAMS). 2020; 23(5):666-685. <https://doi.org/10.32598/JAMS.23.COV.5712.2>

doi <https://doi.org/10.32598/JAMS.23.COV.5712.2>



Article Info:

Received: 30 May 2020

Accepted: 28 Jul 2020

Available Online: 01 Dec 2020

Key words:

Coronavirus Disease 2019, Genetics, History, Public health, Treatment

ABSTRACT

Background and Aim Coronaviruses are a large family of viruses that cause disease in humans and animals. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) is an acute respiratory infectious disease caused by a new coronavirus. The World Health Organization has declared this infectious disease as a global pandemic. **Objective:** This study aims to review the latest research advances in genetics, pathogenicity, and clinical features of COVID-19, as well as current therapies to combat this disease.

Methods & Materials This is a systematic review study on articles published from 2010 to 2020 by searching in reputable databases such as PubMed, Scopus, Google Scholar, Web of Science, and ScienceDirect.

Ethical Considerations Ethical principles have been observed in accordance with the guidelines of the National Ethics Committee and the COPE regulations.

Results Examining the genome and genetic studies of the virus, it can be said that there are many similarities between different coronavirus types, but there are differences in their genomic and phenotypic structures that can affect their pathogenesis. Re-use of existing therapeutic drugs, previously designed for other infections and viral pathologies is currently the only practical approach to fight COVID-19. The tests for SARS-CoV-2 genome-specific vaccines and the therapeutic antibodies are currently being tested, but they require a long-term process and complete safety testing.

Conclusion Rapid diagnosis of SARS-CoV-2 infection is the basis of disease control. There is currently no specific antiviral drug approved for SARS-CoV-2 infection. Therefore, preventive measures are necessary to stop and control the spread of COVID-19, according to genetic studies and the obtaining knowledge of the molecular mechanism of this virus.

Extended Abstract

1. Introduction

The rapid spread of SARS-CoV-2, a new coronavirus that emerged in Wuhan, China in late 2019, has led the World Health Organization to report this disease as an international concern [4]. Clinical symptoms at the beginning of the outbreak included fever, cough, and fatigue,

and a small number of patients had symptoms of gastrointestinal infection. After about three months, the symptoms of the disease changed and gastrointestinal symptoms and skin rash were also observed [4]. To date, no vaccine against COVID-19 is available and there are no specific cures for the virus. Therefore, there is a large scientific gap in the emerging SARS-CoV-2, which leads to the spread of incorrect information [8]. The purpose of this review study is to present the latest research advances in genetics, pathogenicity and

* Corresponding Author:

Flora Forouzesheh, PhD.

Address: Department of Genetics, Faculty of Advanced Science and Technology, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Tel: +98 (21) 22006660-7

E-mail: f8forouzesheh@gmail.com

Table 1. Comparison of different human coronavirus types

Types	Latency Period (Days)	Clinical Symptoms	Ref.
229E (alpha)	2-5	Restlessness, headache, nasal discharge, sneezing, sore throat, fever and cough	[9]
NL63 (alpha)	2-4	Cough, abnormal rapid breathing, fever, lack of oxygen in tissues, inflammation of the larynx and the trachea in children	[10, 11]
OC43 (beta)	2-5	Restlessness, headache, nasal discharge, sneezing, sore throat, fever and cough	[9]
HKU1 (beta)	4-2	Fever, runny nose, cough, shortness of breath	[12, 13]
MERS-CoV (beta)	2-13	Fever, chills, cough, sore throat, muscle aches, arthritis, shortness of breath, pneumonia, diarrhea and vomiting, acute renal failure	[14-16]
SARS-CoV (beta)	2-11	Fever, muscle pain, headache, restlessness, dry cough, shortness of breath, respiratory pain, diarrhea	[17, 18]
SARS-CoV-2 (beta)	3-6	Fever, dry cough, shortness of breath, muscle aches, headache, diarrhea	[19]

clinical features of COVID-19 as well as current therapies and scientific advances in the fight against this pandemic.

2. Materials and Methods

This is a systematic overview study. The keywords “Coronavirus disease 2019 (COVID-19)”, “Genetics”, “Therapy”, “Control” and “Public health” were used for the search in PubMed, Web of Science, Google Scholar, and Scopus databases for studies published from 2010 to 2020. The initial search yielded 55 articles. Based on the purpose of the study, the abstract and full texts of studies were checked and finally 30 articles were selected for the review.

3. Results

SARS-CoV-2 is a monopartite, single-stranded, positive-sense RNA virus with a genome size of 29903 nucleotides.

The virus genome consists of two untranslated regions (UTRs) at the 3' and 5' end and 11 open reading frameworks (ORFs) that encode 27 proteins [8, 32] (Table 1). The first ORF (ORF1/ab) constitutes about 2/3 of the virus genome, encoding 16 non-structural proteins (NSPs), while the remaining third of the genome encodes 4 structural proteins and at least 6 accessory proteins. The structural proteins are spike glycoprotein (S), matrix protein (M), envelope protein (E), and nucleocapsid protein (N) (Figure 1), while the accessory proteins are orf3a, orf6, orf7a, orf7b, orf8, and orf10, as shown in Table 2 [8].

The SARS-CoV-2 virus is transmitted through direct contact, aerosol, fecal-oral route, and infected objects and materials, by symptomatic and asymptomatic patients during the incubation period [7, 40]. It is characterized by fever (88.7%), dry cough (67.8%), fatigue (38.1%), sputum production (33.4%), shortness of breath (18.6%), sore throat

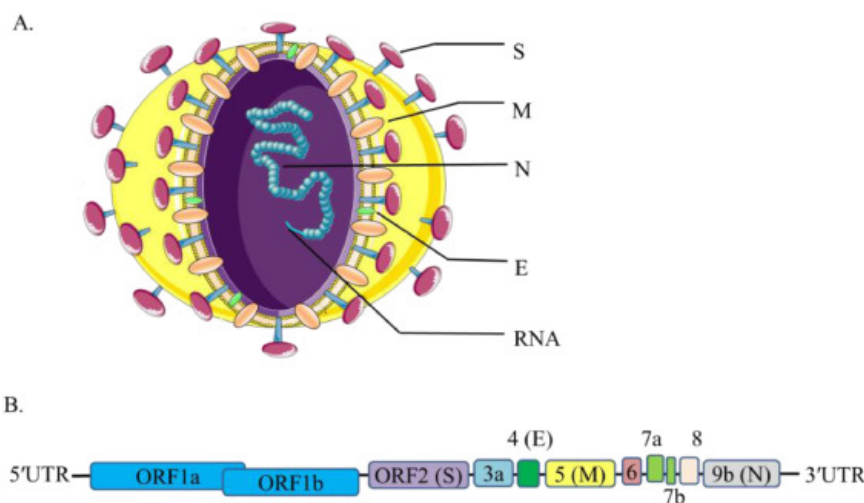
**Figure 1.** SARS CoV-2 genome organization with following gene order: 5'-replicase (ORF1ab)-structural proteins [S-E-M-N]-3'

Table 2. SARS CoV-2 genes and encoded proteins

Function	Protein Length (Amino Acid)	Protein	Gene Length (Nucleotide)	Gene
	-	Untranslated	265	5' UTR
Encoding 16 NSPS	4405/7096	pp1a/pp1ab	21290	<i>orf1ab</i>
Encoding spike glycoprotein	1273	S	3822	S
Encoding one accessory protein	275	orf3a	828	<i>orf3a</i>
Encoding envelope protein	75	E	228	E
Encoding matrix protein	222	M	669	M
Encoding one accessory protein	61	orf6	186	<i>orf6</i>
Encoding one accessory protein	121	orf7a	366	<i>orf7a</i>
Encoding one accessory protein	43	orf7b	132	<i>orf7b</i>
Encoding one accessory protein	121	orf8	366	<i>orf8</i>
Encoding nucleocapsid protein	419	N	1260	N
Encoding one accessory protein	38	orf10	117	<i>orf10</i>
	-	Untranslated	229	3' UTR

(13.9%) and headache (13.6%) in 20-25% of patients who do not show upper respiratory symptoms such as sneezing or sore throat. In addition, a group of patients showed gastrointestinal symptoms with diarrhea (3.8%) and vomiting (5.0%) [4]. In severe cases, the disease is characterized by pneumonia, metabolic acidosis, septic shock, and bleeding [40].

4. Discussion and Conclusion

In December 2019, a group pneumonia cases caused by a new beta-coronavirus was identified, which led to the rapid spread of COVID-19 worldwide [78]. Although advances have been made in the prevention and detection of COVID-19, effective approaches to its treatment and epidemiological control are not yet available. While tests for SARS-CoV-2 genome-specific vaccines and therapeutic antibodies are currently being tested, but this process is long and requires complete safety testing. Reusing existing therapies previously designed for other infections and viral pathology is the only practical approach to this emerging disease, because most of these drugs have already been tested in terms of immune responses. The current pandemic is thought to be a stimulus for changing the approach to reuse current drugs, but for different therapeutic purposes. In this way, with any future outbreak of the virus, potential drugs will be reused.

SARS-CoV-2 has undoubtedly attracted worldwide attention by posing an important challenge to the public health system and existing antiviral solutions. COVID-19 belongs to the beta-coronavirus type based on studies of its evolutionary degree and genomic structure. Human beta-coronaviruses (SARS-CoV-2, SARS-CoV and MERS-CoV) have many similarities, but there are differences in their genomic and phenotypic structure that can affect their pathogenesis. Without full knowledge of the drug target, it is challenging to develop promising and cost-effective drugs for the effective treatment of human diseases.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

Ethical principles have been observed according to the instructions of the National Ethics Committee and the COPE regulations.

Funding

This research did not receive any grant from funding agencies in the public, commercial, or non-profit sectors.



Authors' contributions

All authors contributed equally in preparing this article.

Conflicts of interest

The authors declare no conflict of interest.

This Page Intentionally Left Blank

مقاله مروری

سارس کووید ۲: تاریخچه، ژنتیک و درمان

نیلوفر آقارزایی^۱، فلورا فروزش^{۱*}

۱. گروه ژنتیک، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: کروناویروس‌ها خانواده بزرگی از ویروس‌ها هستند که در انسان و حیوان منجر به بیماری می‌شوند. کووید ۱۹ بیماری عفونی تنفسی حاد است که توسط یک کروناویروس جدید ایجاد شده است. سازمان بهداشت جهانی این عفونت را یک بیماری پاندمیک (همه‌گیر جهانی) اعلام کرده است. هدف این مطالعه، بررسی آخرین پیشرفت‌های تحقیقاتی در زمینه ژنتیک، بیماری‌زایی، ویژگی‌های بالینی کووید ۱۹ و همچنین روش‌های درمانی فعلی و پیشرفت‌های علمی برای مقابله با این بیماری خطرناک همه‌گیر جهانی بود.

مواد و روش‌ها: مقاله حاضر یک مطالعه مروری است که با استفاده از منابع الکترونیک در بانک‌های اطلاعاتی معتبر مانند پابمد، ساینس دایرکت، گوگل اسکالر، اسکوپوس و از سال‌های ۲۰۱۰ تا ۲۰۲۰ تدوین شده است.

ملاحظات اخلاقی: تمامی اصول اخلاقی این مطالعه مقاله بر اساس رهنمودهای کمیته اخلاق ملی و مقررات COPE رعایت شده است.

یافته‌ها: با بررسی ژنوم و مطالعات ژنتیکی کووید ۱۹، شباهت زیادی با اعضای خانواده کروناویروس وجود دارد، اما در ساختار ژنومی و فنوتیپی آن‌ها تفاوت‌هایی مشاهده می‌شوند که می‌توانند بر بیماری‌زایی آن‌ها تأثیر بگذارند. استفاده مجدد از داروهای درمانی موجود که قبلاً برای سایر عفونت‌ها و آسیب‌شناسی ویروس‌ها طراحی شده‌اند، تنها رویکرد عملی به عنوان یک اقدام سریع جهت پاسخ‌گویی و مقابله با این بیماری همه‌گیر نوظهور است؛ چراکه در حال حاضر آزمایشات مربوط به واکسن‌های ویژه ژنوم SARS-CoV-2 و آنتی‌بادی‌های درمانی که مورد آزمایش قرار می‌گیرند مستلزم طی یک روند طولانی‌مدت هستند و نیاز به آزمایشات کامل ایمنی دارند.

نتیجه‌گیری: تشخیص سریع عفونت SARS-CoV-2 زیربنای کنترل بیماری است. تا کنون هیچ داروی ضدویروسی خاص تأییدشده‌ای برای عفونت SARS-CoV-2 وجود ندارد. بنابراین اقدامات پیشگیرانه و غیرفعال کردن ویروس با توجه به مطالعه ژنتیکی و دستیابی به مکانیسم‌های مولکولی عملکرد ویروس در بیماری‌زایی، جهت متوقف کردن و کنترل شیوع بیماری ضروری است.

اطلاعات مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۰ خرداد ۱۳۹۹

تاریخ پذیرش: ۰۷ مرداد ۱۳۹۹

تاریخ انتشار: ۱۱ آذر ۱۳۹۹

کلیدواژه‌ها:

کروناویروس ۲۰۱۹ (کووید ۱۹)، ژنتیک، تاریخچه کروناویروس، سلامت عمومی، درمان

مقدمه

آلوده کردن پستانداران هستند، در حالی که γ -CoV و δ -CoV تمایل دارند پرندگان را آلوده کنند [۴]. از دهه ۱۹۶۰ میلادی تا کنون شش گونه ویروس انسانی از این نوع گزارش شده است. چهار مورد آن‌ها (229E و NL63 از نوع α و HKU1 و OC43 از نوع β) باعث بیماری خفیفی مانند سرماخوردگی و عفونت دستگاه گوارش می‌شوند [۵]. با این حال، دو نوع β این ویروس یعنی SARS-CoV و MERS-CoV می‌توانند باعث بیماری شدید و در نهایت مرگ شوند [۶] (جدول شماره ۱).

بیماری حاد تنفسی ناشی از کروناویروس جدید (SARS-CoV-2) که قبلاً با نام 2019-nCoV شناخته می‌شد، به نام

کروناویروس‌ها^۱، ویروس‌های RNA تک‌رشته‌ای مثبت، پوشش‌دار با اندازه حدود ۲۶ تا ۳۲ کیلوبایت و پوشیده از ذرات متقارن بیست‌وجهی، با قطر تقریباً ۸۰ تا ۲۰۰ نانومتر هستند که می‌توانند طیف گسترده‌ای از میزبان‌ها از جمله پرندگان، حیوانات وحشی، پستانداران خانگی و انسان را آلوده کنند [۱، ۲]. بنابراین کروناویروس یک عامل مهم بیماری در انسان و حیوان است. معمولاً بیشتر کروناویروس‌های انسانی باعث بیماری‌های تنفسی نسبتاً خفیف می‌شوند [۳]. خانواده کروناویروس به چهار جنس δ -CoV / γ -CoV / β -CoV / α -CoV تقسیم می‌شود. α -CoV و β -CoV قادر به

1. Coronaviruses

* نویسنده مسئول:

دکتر فلورا فروزش

نشانی: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم پزشکی تهران، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، گروه ژنتیک.

تلفن: ۰۶۶۶۰۲۲۰ (۲۱) ۹۸+

پست الکترونیکی: f8forouzes@ gmail.com

جدول ۱. مقایسه انواع کروناویروس انسانی

منبع	علائم بالینی	دوره نهفتگی (روز)	انواع کروناویروس انسانی
[۹]	بی‌قراری، سردرد، ترشحات بینی، عطسه، گلودرد، تب و سرفه	۲-۵	229E (آلفا)
[۱۱، ۱۰]	سرفه، تنفس غیر طبیعی سریع، تب، کمبود اکسیژن در بافت‌های بدن، التهاب حنجره و نای در کودکان	۲-۴	NL63 (آلفا)
[۹]	بی‌قراری، سردرد، ترشحات بینی، عطسه، گلودرد، تب و سرفه	۲-۵	OC43 (بتا)
[۱۳، ۱۲]	تب، آبریزش بینی، سرفه، تنگی نفس	۲-۴	HKU1 (بتا)
[۱۶-۱۴]	تب، سرفه، لرز، گلودرد، درد عضلانی، ورم مفاصل، تنگی نفس، ذات‌الریه، اسهال و استفراغ، نقص حاد کلیوی	۲-۱۳	MERS-CoV (بتا)
[۱۸، ۱۷]	تب، درد عضلانی، سردرد، بی‌قراری، سرفه خشک، تنگی نفس، درد تنفسی، اسهال	۲-۱۱	SARS-CoV (بتا)
[۱۹]	تب، سرفه خشک، تنگی نفس، درد عضلانی، سردرد، اسهال	۳-۶	SARS-CoV-2 (بتا)



پوستی به مراکز درمانی مراجعه می‌کردند. افراد مسن و افراد مبتلا به بیماری‌های زمینه‌ای مستعد ابتلا به عفونت، در معرض پیامدهای جدی هستند که ممکن است با سندرم دیسترس تنفسی حاد^۵ و طوفان سایتوکاین (که یک واکنش شدید سیستم ایمنی بدن است) همراه باشند [۴]. از ویژگی ویروس‌های خانواده کروناویروس، جهش سریع، انتقال به بافت‌های مختلف، انتقال راحت بین گونه‌های مختلف و سازگاری با موقعیت‌های مختلف اپیدمیولوژیکی است [۱].

تا به امروز هیچ واکسنی علیه کووید ۱۹ در دسترس نیست و همچنین داروهای درمانی خاصی برای درمان ویروس وجود ندارد. لذا شکاف علمی زیادی در مورد SARS-CoV-2 نوظهور وجود دارد که این امر منجر به شکل‌گیری اطلاعات نادرست می‌شود [۸]. با توجه به توضیحات داده‌شده، هدف از این مطالعه مروری، ارائه آخرین پیشرفت‌های تحقیقاتی در زمینه ژنتیک، بیماری‌زایی و ویژگی‌های بالینی کووید ۱۹ و همچنین روش‌های درمانی فعلی و پیشرفت‌های علمی برای مقابله با این بیماری همه‌گیر بود.

مواد و روش‌ها

در این مقاله مروری نظام‌مند، واژه‌های کلیدی "Coronavirus disease 2019 (COVID-19)", "Genetics", "Therapy", "Control", "Public health" و "py" از منابع الکترونیک در پایگاه‌های اطلاعاتی پابمد، ساینس دایرکت و اسکوپوس در بازه زمانی سال‌های ۲۰۱۰ تا ۲۰۲۰ جست‌وجو شدند. همچنین از موتور جست‌وجوی گوگل اسکالر برای یافتن منابع مرتبط و تکمیل جست‌وجو استفاده شد. نتیجه این جست‌وجو دستیابی به ۵۵ مقاله بود. بر اساس هدف مطالعه، مرحله به مرحله به ترتیب با مطالعه چکیده و مقاله کامل، مطالعات پالایش شدند و

5. Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS)

بیماری کروناویروس ۲۰۱۹ (کووید ۱۹)^۲ ابتدا در سراسر چین رواج یافت و سپس مورد توجه جهانی قرار گرفت. به طوری که در ۳۰ ژانویه سال ۲۰۲۰، سازمان بهداشت جهانی (WHO) رسماً بیماری همه‌گیر کووید ۱۹ را به عنوان یک هشدار جدی بهداشت عمومی با نگرانی بین‌المللی اعلام کرد. SARS-CoV-2، پس از کروناویروس سندرم حاد تنفسی^۳ در سال ۲۰۰۲ و کروناویروس سندرم تنفسی خاورمیانه^۴ در سال ۲۰۱۲، سومین بیماری همه‌گیر بسیار بیماری‌زا در مقیاس بزرگ است [۴]. انواع کروناویروس انسانی از لحاظ دوره نهفتگی و علائم بالینی در جدول شماره ۱ مورد بررسی قرار گرفته‌اند.

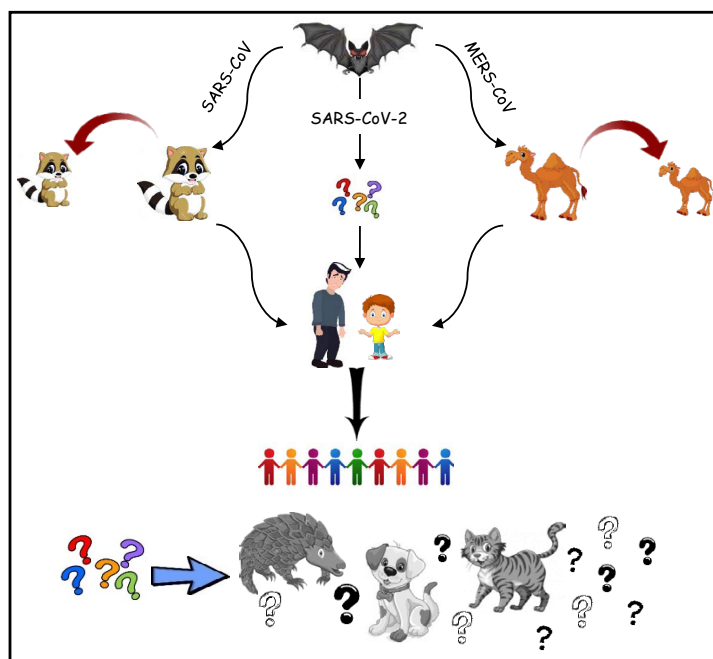
بررسی‌ها نشان داده‌اند توالی ژنوم SARS-CoV-2 با توالی ژنوم CoV RaTG13 خفاش ۹۶/۲ درصد مشابه است، در حالی که با ژنوم SARS-CoV فقط ۷۹/۵ درصد شباهت دارد. بر اساس نتایج تعیین توالی ژنوم ویروس و تجزیه و تحلیل درجه تکاملی (فیلوژنی)، خفاش به عنوان میزبان طبیعی منشأ ویروس است و ممکن است SARS-CoV-2 از خفاش‌ها از طریق میزبان واسطه ناشناخته به انسان منتقل شود و آن‌ها را آلوده کند. امروزه مشخص شده است SARS-CoV-2 می‌تواند از آنزیم تبدیل‌کننده آنژیوتانسین 2 (ACE2) که همان گیرنده SARS-CoV است برای آلوده کردن انسان‌ها استفاده کند [۷] (تصویر شماره ۱).

علائم بالینی بیماران مبتلا به کووید ۱۹ در ابتدای شیوع شامل تب، سرفه و خستگی بود و تعداد کمی از بیماران علائم عفونت دستگاه گوارش را داشتند. اما پس از گذشت حدود سه ماه، علی‌رغم اینکه شدت و سیر بیماری مشابه سایر موارد قبلی گزارش شد، اما علائم بیماری دچار تغییر شد و بیماران بیشتر با علائم گوارشی، سردرد، ضعف و همچنین راش‌های

2. Coronavirus Disease-2019

3. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus (SARS-CoV)

4. Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV)



تصویر ۱. چرخه انتقال کروناویروس از جمله MERS-CoV و SARS-CoV و SARS-CoV-2. انتقال ویروس به انسان از طریق تماس مستقیم با حیوانات آلوده صورت می‌گیرد. (خطوط بیانگر انتقال مستقیم‌اند.)

شدند (OC16 و OC43). تعداد کروناویروس‌های شناسایی شده همچنان به طور چشم‌گیری در حال افزایش هستند که گونه‌های جانوری متعددی را مانند گوساله‌ها، سگ‌ها، گربه‌ها، خفاش‌ها، گنجشک‌ها، خرگوش‌ها و بوقلمون‌ها آلوده می‌کنند [۸].

به نظر می‌رسد توالی ژنوم SARS-CoV، ارتباط نزدیکی با ژنوم ویروس دیگری از گربه‌های زیاد^۱ (Civets) نخل هیمالیا دارد. بنابراین ممکن است ویروس SARS-CoV از ویروس گربه زیاد منشأ گرفته باشد. بعدها، گربه‌های زیاد به عنوان میزبان واسطه و خفاش‌ها به عنوان میزبان طبیعی برای SARS-CoV در نظر گرفته شدند [۸، ۲۱].

هو و همکاران در یک مطالعه پنج‌ساله روی کروناویروس‌های مرتبط با SARS جداشده از خفاش‌های نعل اسب در استان یونان چین، جایی که یازده کروناویروس شبه SARS شناسایی شد، کار کردند [۱۱]. مقایسه ژنوم آن‌ها، تنوع ژنتیکی بالایی را در بین این ویروس‌ها در چندین ژن از جمله ژن‌های Gene S (Gene ID:43740568 و ORF3 (Gene ID:9714825) و ORF8 (43740577) نشان داد. با وجود تفاوت در توالی پروتئین S، همه یازده کروناویروس شبه SARS قادر به استفاده از همان گیرنده آنزیم تبدیل‌کننده آنژیوتانسین انسانی 2 (Hace2) هستند که نشان‌دهنده رابطه نزدیک آن‌ها با SARS-CoV است. بنابراین SARS-CoV احتمالاً از طریق نوترکیبی بین کروناویروس‌های شبه SARS خفاش قبل از آلوده شدن گربه‌های زیاد ایجاد شده

۹. زیاد یا گربه زیاد پستانداری گوشت‌خوار از خانواده زیادان است.

در نهایت ۳۰ مقاله از میان آن‌ها انتخاب شد و مورد بررسی قرار گرفت. همچنین از مراجع این مقالات نیز جهت تکمیل کردن اطلاعات استفاده شد.

در نگارش این مقاله مروری نظام‌مند، اصول اخلاقی طبق دستورالعمل کمیته اخلاق کشوری و آیین‌نامه COPE رعایت شد.

یافته‌ها

تاریخ شیوع کروناویروس

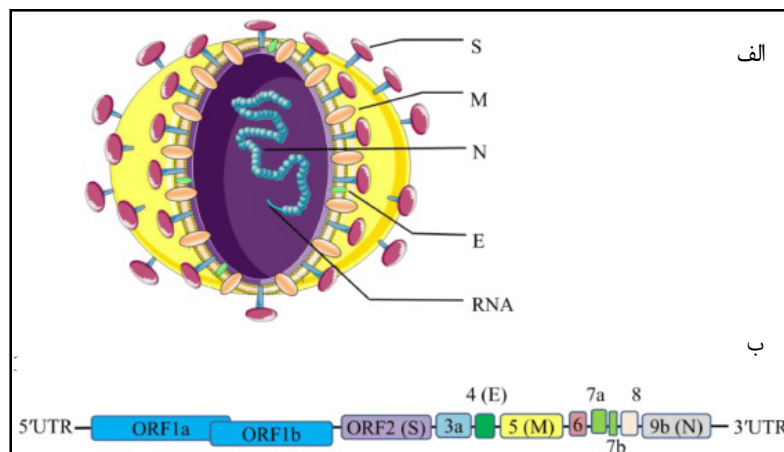
کروناویروس در طول هزار سال گذشته بارها و بارها تکامل یافته است [۲۰]. اولین درمان حاصل از کروناویروس‌ها شامل بیماری‌هایی بود که در حیوانات شناسایی شدند که می‌توان به ویروس برونشیت عفونی^۶ مرغ‌ها در سال ۱۹۳۷ میلادی و ویروس‌های هیپاتیت^۷ موش‌ها و جوندگان در سال ۱۹۴۹ میلادی اشاره کرد. در طی سال‌های ۱۹۴۶ میلادی در خوک‌ها ویروس دستگاه گوارش قابل انتقال^۸ در ایالات متحده مشاهده شد.

کروناویروس‌های انسانی برای اولین بار در دهه ۱۹۶۰ میلادی از عفونت‌های دستگاه تنفسی جدا شدند. اولین ویروس‌های جداشده، دو ویروس B814 و 229E بودند. پس از آن، چندین سویه دیگر کروناویروس با استفاده از روش کشت بافت از انسان جدا

6. Infectious Bronchitis Virus (IBV)

7. Murine Hepatitis Virus (MHV)

8. Transmissible Gastroenteritis Virus (TGEV)



تصویر ۲. ساختار و ژنوم سندرم تنفسی حاد شدید کروناویروس-۲ (SARS-CoV-2) [۳۳]

الف. چهار پروتئین ساختاری به شرح زیر است: اسپایک (S) گلیکوپروتئین سطح (بنفش)، پروتئین ماتریکس (M) (نارنجی)، پروتئین نوکلئوکپسید (N) (آبی)، کپسول پروتئینی (E) (سبز)، RNA ژنومی در پروتئین N پوشانده شده است؛ ب. ژنوم SARS-CoV-2 به نظم زیر از ۵ به ۳ مرتب شده است.

5'-replicase (ORF1a/b)-structural proteins [spike (S)-envelope (E)-membrane (M)-nucleocapsid (N)]-3'

قادرند به همان گیرنده MERS-CoV متصل شوند که این امر نشان می‌دهد احتمالاً خفاش منشأ MERS-CoV است [۳۱].

در دسامبر سال ۲۰۱۹، SARS-CoV-2 در شهر ووهان چین ظاهر شد و باعث بیماری شدید تنفسی و مرگومیر شد که مطالعات اولیه گزارش داده‌اند این ویروس ممکن است از خفاش‌ها منشأ گرفته و تکامل پیدا کرده باشد؛ زیرا تجزیه و تحلیل درجه تکاملی [۷]، تطابق بالای (۹۶/۳ درصد) ژنوم این ویروس را با ژنوم کروناویروس RaTG13 خفاش نشان داده است [۸].

ساختار ژنوم

کرونا در لاتین به معنای تاج است و این نام به دلیل وجود طرح‌های میخی پوشش ویروس به آن نسبت داده شده است که در زیر میکروسکوپ الکترونی به شکل تاج نمایان می‌شود. Nido به معنی لانه است و به توانایی ویروس‌ها برای ساخت مجموعه‌ای تو در تو از mRNA subgenomic اشاره دارد [۸].

SARS-CoV-2 یک ویروس RNA تک‌قطبی، تک‌رشته‌ای با قطبیت مثبت با اندازه ژنوم ۲۹۹۰۳ نوکلئوتید است. ژنوم ویروس از دو ناحیه ترجمه‌نشده (UTR) در انتهای ۵' و ۳' و یازده چارچوب خواندن باز (ORF) تشکیل شده است که ۲۷ پروتئین را به رمز در می‌آورند (تصویر شماره ۲) [۸، ۳۲].

اولین ORF (ORF1 / ab) حدود دوسوم ژنوم ویروس را تشکیل می‌دهد و شانزده پروتئین غیرساختاری (NSPs) را به رمز در می‌آورد، در حالی که یک سوم باقیمانده ژنوم، چهار پروتئین ساختاری و حداقل شش پروتئین جانبی را رمزگذاری می‌کند. پروتئین‌های ساختاری عبارت‌اند از: گلیکوپروتئین اسپایک (S)، پروتئین ماتریکس (M)، کپسول پروتئینی (E) و پروتئین

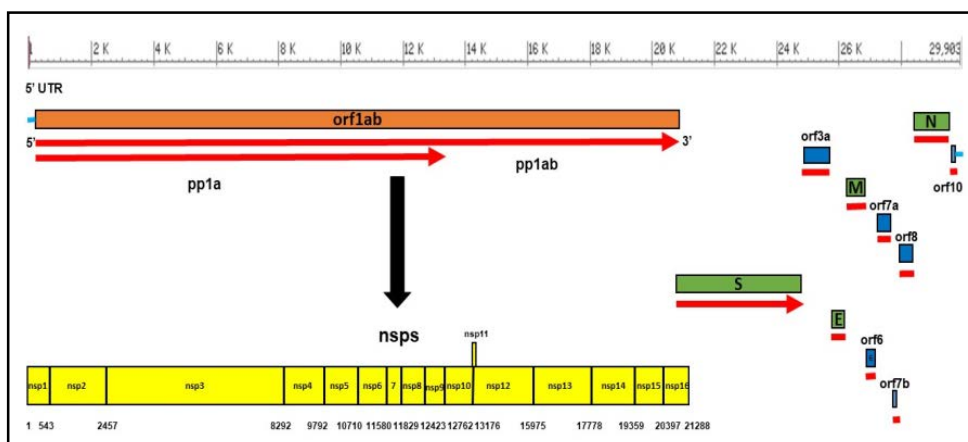
است که ویروس نوترکیب به انسان سرایت کرد و باعث همه‌گیری SARS شد [۲۱، ۲۲]. ده سال بعد، بیماری MERS-CoV در کشورهای خاورمیانه پدید آمد که ویروس آن از طریق شترهای جماز^۱ (شتر یک‌کوهانه) به انسان منتقل شد [۲۳].

در سال‌های ۲۰۰۲ تا ۲۰۰۳ میلادی، ویروس SARS-CoV در ۲۹ کشور منجر به بیماری و مرگومیر شد که بیشترین موارد در چین و هنگ‌کنگ بود. تعداد کل موارد گزارش شده ۸۰۹۶ نفر بود که از این تعداد ۷۷۴ نفر فوت کردند [۲۴].

از ژانویه سال ۲۰۲۰، ویروس MERS-CoV منجر به ابتلای ۲۵۱۹ مورد تأییدشده آزمایشگاهی و ۸۶۶ مورد مرگ (۳۴/۳ درصد میزان مرگومیر) شده است که بیش از ۸۰ درصد موارد گزارش شده از عربستان سعودی بوده است [۲۵]. بین سویه‌های MERS-CoV انسانی و شتر بیش از ۹۹ درصد تشابه در واریانت‌های موجود در ژن‌های (Gene ID:43740568) S و (Gene ID:9714825) ORF3 و (Gene ID:14254597) ORF4b وجود دارد [۲۶]. از نظر فیلوژنتیک، MERS-CoV بسیار نزدیک به کروناویروس‌های HKU4 و HKU5 خفاش است [۲۷]. تجزیه و تحلیل کامل درجه تکاملی نشان داد MERS-CoV ممکن است طی فرایند نوترکیبی در ژن‌های (Gene ID:43740568) S و (Gene ID:9714825) ORF3 و (Gene ID:43740578) ORF1ab برای MERS-CoV [۲۸، ۲۹] باشد. دسترسی به سلول، از گیرنده دیپتیدیل‌پپتیداز-۱۱۴ انسانی استفاده می‌کند [۳۰]. همچنین گلیکوپروتئین ساختاری اسپایک کروناویروس‌های مرتبط با MERS جداشده از خفاش‌ها در چین

10. Dromedary camels

11. Dipeptidyl Peptidase 4 (DPP4)



تصویر ۳. سازمان ژنوم SARS CoV-2 و پروتئین‌های رمزگذاری شده آن [۸]

ژن *orf1ab* (GeneID:43740578) دوسوم ژنوم را تشکیل می‌دهد، در کل شانزده پروتئین غیرساختاری (NSPs) را در ژن *pp1ab* (Gene ID:1489680) کدگذاری می‌کند (به رنگ زرد نشان داده شده است): *nsp1* (180aa)، *nsp2* (638aa)، *nsp3* (1945 aa)، *nsp4* (500aa)، *nsp5* (306aa)، *nsp6* (290aa)، *nsp7* (83aa)، *nsp8* (198aa)، *nsp9* (113aaa)، *nsp10* (139aaa)، *nsp11* (13aa)، *nsp12* (932aa)، *nsp13* (601aa)، *nsp14* (527aa)، *nsp15* (346aa) و *nsp16* (298aa).

یکسوم انتهایی SARS CoV-2 شامل چهار ژن (به رنگ سبز) است که چهار پروتئین ساختاری (S، E، M، N) و شش پروتئین جانبی (*orf7a*، *orf6*، *orf3a*، *orf8* و *orf10*) را رمزگذاری می‌کنند.

اختصارات: *pp1ab*: Orf1ab polyprotein و NSPs: Non-Structural Proteins

سازمان ژنوم SARS-CoV-2

از زمان ظهور SARS-CoV-2 در شهر ووهان چین در دسامبر سال ۲۰۱۹، بسیاری از آزمایشگاه‌ها در تلاش‌اند تا ترتیب ژنوم عامل ایجادکننده را سکانس کنند. از ۱۴ آوریل سال ۲۰۲۰، در مجموع ۷۶۵۵ ژنوم کامل از ۶۷ کشور جهان در طرح جهانی اشتراک همه داده‌های آنفلوآنزا^{۱۱} قرار داده شده‌اند. هم‌اکنون یک ژنوم مرجع در پایگاه اطلاعاتی داده ژنوم NCBI وجود دارد (۲۹۹۰۳ نوکلئوتید، توالی مرجع: NC_045512.3). تا به امروز، در مجموع ۸۷۵ توالی از جمله یک توالی مرجع (RefSeq) و ۷۶۸ ژنوم کامل در NCBI موجود است [۸، ۳۸، ۳۹].

انتقال ویروس و علائم بالینی بیماری

ویروس SARS-CoV-2 از طریق تماس مستقیم، قطرات ذرات معلق در هوا (آئروسول)، مسیر مدفوع دهان، اشیاء و مواد حد واسط (آلوده به ویروس)، از طرف بیمار علامت‌دار و بیمار بدون علامت در طی دوره نهفتگی منتقل می‌شود [۷، ۴۰]. این بیماری در ۲۰-۲۵ درصد از بیمارانی که علائم تنفسی فوقانی مانند عطسه یا گلودرد را نشان نمی‌دهند، با تب (۸۸/۷ درصد)، سرفه خشک (۶۷/۸ درصد)، خستگی (۳۸/۱ درصد)، خلط (۳۳/۴ درصد)، تنگی نفس (۱۸/۶

نوکلئوکپسید (N) و پروتئین‌های جانبی عبارت‌اند از: *orf3a*، *orf6*، *orf7b*، *orf7a*، *orf8* و *orf10* [۵، ۳۳-۳۵] (تصویر شماره ۳). 5'-UTR و 3'-UTR کووید ۱۹ به ترتیب از ۲۶۵ و ۲۲۹ نوکلئوتید تشکیل شده‌اند.

Orf1ab (GeneID:43740578) شامل ۲۱۲۹۰ نوکلئوتید است و پروتئین *pp1a* حاوی ۴۴۰۵ اسید آمینه (*nsp1-nsp11*) یا پروتئین *pp1ab* حاوی ۷۰۹۶ اسید آمینه (*nsp1-nsp16*) را با استفاده از فریم شیفت ریبوزومی به رمز درمی‌آورد. پروتئین *nsp1* پاسخ ضدویروسی میزبان را سرکوب می‌کند [۱]، *nsp3* یک پروتئاز پاپائین‌مانند است [۲]، *nsp5* یک 3CLpro (دومین پروتئاز شبه 3C) است [۳]، *nsp7* با *nsp8* کمپلکسی برای ساخت یک پریماز را ایجاد می‌کند [۴]، *nsp9* قادر به اتصال RNA / DNA است [۵]، *nsp12* پلیمرز وابسته به RNA (RdRp) است [۶]، *nsp13* یک هلیکاز است [۷]، *nsp14*، *nsp15* به Δ (Exon N) است [۸] و *nsp15* اندوریبونوکلئاز خاص پلی U (XendoU) است [۹]. *nsp*‌های باقیمانده در رونویسی و تکثیر ژنوم ویروسی نقش دارند [۳۷-۳۵].

در جدول شماره ۲ ژن‌های SARS CoV-2 و پلی‌پروتئین‌های رمزگذاری شده و همچنین عملکرد آن‌ها خلاصه شده است [۸].

12. Global Initiative on Sharing All Influenza Data (GISAIID)

جدول ۲. ژن‌های SARS CoV-2 و پلی‌پروتئین‌های رمزگذاری شده

ژن	طول ژن (نوکلئوتید)	پروتئین	طول پروتئین (اسید آمینه)	عملکرد
5' UTR	۲۶۵	بدون ترجمه	-	-
orf1ab	۲۱۲۹۰	pp1a / pp1ab	۴۴۰۵ / ۷۰۹۶	کدگذاری شانزده پروتئین غیر ساختاری
S	۴۸۲۲	S	۱۲۷۳	کدگذاری پروتئین‌های ساختاری گلیکوپروتئین S
orf3a	۸۲۸	orf3a	۲۷۵	یک پروتئین جانبی ویروس را رمزگذاری می‌کند.
E	۲۲۸	E	۷۵	کدگذاری کپسول پروتئینی
M	۶۶۹	M	۲۲۲	کدگذاری پروتئین ماتریکس
orf6	۱۸۶	orf6	۶۱	یک پروتئین جانبی ویروس را رمزگذاری می‌کند.
orf7a	۳۶۶	orf7a	۱۲۱	یک پروتئین جانبی ویروس را رمزگذاری می‌کند.
orf7b	۱۳۲	orf7b	۴۳	یک پروتئین جانبی ویروس را رمزگذاری می‌کند.
orf8	۳۶۶	orf8	۱۲۱	یک پروتئین جانبی ویروس را رمزگذاری می‌کند.
N	۱۲۶۰	N	۴۱۹	کدگذاری پروتئین نوکلئوکپسید
orf10	۱۱۷	orf10	۳۸	یک پروتئین جانبی ویروس را رمزگذاری می‌کند.
3' UTR	۲۲۹	بدون ترجمه	-	-



تشخیص عفونت SARS-CoV-2

آزمایش تشخیصی برای SARS-CoV-2 در درجه اول در آزمایشگاه‌های بهداشت عمومی انجام می‌شود. تأخیر در آزمایش می‌تواند ناشی از عدم نظارت اداری بر آزمایش در سطح ملی یا منطقه‌ای و همچنین کم بودن زمان لازم برای حمل نمونه‌ها و حجم بالای آزمایش در برخی مناطق باشد. در صورت بروز همه‌گیری باید آزمایش سریع به طور گسترده‌ای انجام شود. علاوه بر تست‌های موجود که تحت تأیید نظارتی قرار گرفته‌اند، به آزمایش‌های سطح بالا در بیمارستان‌های منطقه‌ای و آزمایشگاه‌های تجاری نیاز است. چندین آزمایش توسط مقامات بهداشت عمومی تأیید شده است [۴۲]. این آزمایشات تست‌های رونویسی معکوس (RT-PCR) هستند که از پرایمرها و پروب‌های طراحی شده برای تشخیص انواع اهداف در ژنوم SARS-CoV-2 استفاده می‌کنند. اگرچه این‌ها طراحی و تأیید شده‌اند، اما در حال حاضر اطلاعات بسیار محدودی در رابطه با عملکرد این آزمون‌ها در دسترس است. حساسیت و اختصاصی بودن این آزمایشات در سطح گسترده ناشناخته است. برخی از آن‌ها ممکن است کروناویروس‌های مرتبط دیگر مانند SARS-CoV را تشخیص دهند. از طرفی تست‌های سرولوژی در حال پیشرفت هستند. همچنین جمع‌آوری و ارسال سرم از بیماران آلوده که بهبود یافته‌اند به برخی آزمایشگاه‌های بهداشت عمومی

درصد، گلودرد (۱۳/۹ درصد) و سردرد (۱۳/۶ درصد) مشخص می‌شود [۴، ۲۰]. علاوه بر این، گروهی از بیماران، علائم دستگاه گوارش را همراه با اسهال (۳/۸ درصد) و استفراغ (۵/۰ درصد) نشان داده‌اند [۴]. در موارد شدید، این بیماری با ذات‌الریه، اسیدوز متابولیک، شوک سپتیک و خونریزی مشخص می‌شود [۴۰].

در نتایج معاینه آزمایشگاهی بیشتر بیماران، تعداد گلبول‌های سفید خون طبیعی بود یا کاهش یافته بود و تعداد لنفوسیت‌های گردش خون نیز دچار کاهش شده بود [۳، ۴۱]. اما در بیماران با وضع بیماری شدید، میزان نوتروفیل، D-dimer، اوره خون و میزان کراتینین به طور معنی‌داری بالا بود و تعداد لنفوسیت‌ها همچنان کاهش یافته بود، ولی فاکتورهای التهابی مانند اینترلوکین ۶ و ۱۰ و فاکتور نکروزدهنده تومور آلفا (TNF-α) افزایش یافته بودند. داده‌ها نشان دادند بیماران بستری در ICU از سطح پلاسمايي بالاتر اینترلوکین ۲، ۷ و ۱۰، همچنین عامل محرک کلونی گرانولوسیت^{۱۳}، اینترفرون گاما تولیدکننده پروتئین ۱۰-^{۱۴}، پروتئین جذب شیمیایی مونوسیت-^{۱۵} و پروتئین التهابی ماکروفاژ^{۱۶} و TNF-α برخوردار بودند [۱۹].

13. Granulocyte Colony-Stimulating Factor (GCSF)
14. Interferon-Gamma Inducible Protein-10 (IP-10)
15. Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1)
16. Macrophage Inflammatory Protein-1alpha (MIP-1α)

جدول ۳. خلاصه‌ای از داروها / درمان‌های ثبت‌شده برای کارآزمایی‌های بالینی علیه SARS-CoV-2 [۸]

منبع	فعالیت ضدویروسی در برابر ویروس‌های مرتبط با کووید ۱۹	عملکرد	دارو / درمان
[۵۲-۵۰]	- نتایج خوب در برابر SARS-CoV؛ بار ویروسی را به میزان قابل توجهی کاهش داده و نتایج خوبی را در بیماران کووید ۱۹ ارائه داده است.	مهارکننده پروتئاز	لوپیناویر / ریتوناویر
[۵۳، ۵۴]	- برای درمان ویروس‌های آنفولانزا در روسیه و چین استفاده می‌شود. - لوپیناویر / ریتوناویر به همراه آرییدول، به طور قابل توجهی باعث بهبودی بیماران مبتلا به پنومونی کووید ۱۹ شده است.	مهار ادغام (فیوژن) غشایی	آرییدول
[۵۵-۵۷]	- برای درمان عفونت HIV از لوپیناویر / ریتوناویر به همراه اینترفرون استفاده شد. - برای درمان بیماران آلوده به MERS-CoV از ترکیب ریباویرین و اینترفرون استفاده شد.	بسیاری از مراحل تکثیر ویروس را مهار می‌کنند و ویروس، رونویسی، تکثیر، ترجمه و مونتاژ.	درمان با اینترفرون
[۵۸-۶۰]	- اثر مهار روی همه زیرگروه‌های آنفولانزا از جمله نورامینیداز و سویه‌های مقاوم به مهارکننده M2 نشان داد. - اثرات مهار در برابر Bunyaviruses، Arenaviruses و Filoviruses نشان داده است.	فعالیت RNA پلیمرز ویروسی و کلاهک‌گذاری mRNA را مهار می‌کند.	فاویپیراویر
[۶۱]	- اثر ضدویروسی امیلوارکننده‌های در برابر SARS-CoV-2 در شرایط آزمایشگاهی داشته است. - باعث بهبودی بیماران مبتلا به پنومونی کووید ۱۹ و کوتاه شدن دوره بیماری شده است.	pH درون لیزوزوم‌های سلول میزبان را افزایش می‌دهد و بر اتصال گیرنده‌های ویروس تأثیر منفی می‌گذارد، همچنین با گلیکوزیلاسیون گیرنده‌های سلولی SARS-CoV تداخل می‌کند.	کلروکین
[۶۲]	- در برابر طیف گسترده‌ای از ویروس‌های RNA دار مانند Paramyxoviridae، Pneumoviridae و Coronaviridae استفاده می‌شود. در درمان کووید ۱۹ در ایالات متحده با موفقیت استفاده شد و هیچ عارضه جانبی را نشان نداد.	مونوفسفورامیدات (تولیدکننده آدنوزین) که در زنجیره‌های RNA ویروسی نوپا وجود دارد و باعث خاتمه قبل از بلوغ می‌شود.	ردمسیویر
[۶۳]	- برای معالجه MERS-CoV در حیوانات آزمایشگاهی استفاده می‌شود. - برای معالجه بیماران HIV-1 استفاده می‌شود. - داروی ضد آنفولانزا است.	مهارکننده 3 C-like protease (3CLpro)	داروناویر / کوپیسیتات
[۵۲، ۶۴]	- ترکیبی از نیتازوکسانید و اسلتامیویر در درمان موش‌های خرمای آلوده به ویروس آنفولانزا در مقایسه با مونوتراپی اسلتامیویر ویروس مؤثرتر است. - معمولاً برای معالجه بیماران SARS که از ذات‌الریه شدید رنج می‌برند، استفاده می‌شود.	مهارکننده نورامینیداز	اسلتامیویر
[۵۴، ۶۵]	- از آنجا که این داروها سرکوب‌کننده سیستم ایمنی هستند، اگر قبل از کنترل تکثیر ویروس تجویز شوند، ممکن است تکثیر ویروس را به تأخیر بیندازند.	ضدالتهاب	درمان استروئید (متیل پردنیزولون)
[۶۶، ۶۷]	- ایمنی‌درمانی همراه با داروهای ضدویروسی در برابر کووید ۱۹ مؤثر است.	آنتی بادی‌های خنثی‌کننده SARS-CoV-2	پلاسمادرمانی
[۶۸]	- بهبودی بیماران مبتلا به کووید ۱۹ را افزایش می‌دهد.	ضدالتهاب و تعدیل‌کننده سیستم ایمنی بدن	سلول‌های بنیادی مزانشیمی
[۶۹]	- در شرایط آزمایشگاهی، تکثیر SARS-CoV-2 را در سلول‌های Vero-hSLAM در طی ۴۸ ساعت مهار می‌کند که با کاهش ۵۰۰۰ برابری RNA ویروسی همراه است.	ضدانگلی و ضدویروسی	ایورمکتین



توصیه می‌شود. هستند ارائه کرده‌اند. در هر دو دستورالعمل توصیه می‌شود که هنگام آزمایش نمونه‌های عفونی، جهت ممانعت از تولید قطرات یا ذرات معلق در هوا، آزمایش در یک کابینت ایمنی زیستی انجام شود. همچنین جداسازی ویروس (کشت) فقط باید در آزمایشگاه‌های BL-3 صورت گیرد [۴۲].

WHO و CDC 17 هر دو توصیه‌هایی را برای ایمنی آزمایشگاه‌ها هنگام آزمایش نمونه از بیمارانی که مظنون به SARS-CoV-2

کروناویروس‌های انسانی با استفاده از پراکسید هیدروژن ۰/۵ درصد، اتانول ۶۲-۷۱ درصد، هیپوکلریت سدیم ۰/۱ درصد، فرمالدئید ۰/۷-۱ درصد، گلو تارآلدئید ۲ درصد یا ید پویدون ۰/۲۳ درصد در مدت یک دقیقه غیرفعال می‌شوند. سایر ضد عفونی کننده‌ها از جمله دیگلوکونات کلرگزیدین ۰/۰۲ درصد، اُرتوفتال آلدئید ۰/۵۵ درصد یا کلرید بنزالکونیوم ۰/۰۵-۰/۲ درصد کمتر مؤثر هستند [۴۸].

با توجه به فوریت تقاضای بالینی، بسیاری از داروها از جمله کلروکین فسفات، فاوی پیراویر (Favipiravir)، اینترفرون گاما، آریبدول (Arbidol)، اسلتامیویر (oseltamivir)، متیل پردنیزولون (methylprednisolone)، لوپیناویر / ریتوناویر (lopinavir/ritonavir) و داروناویر / کوپسیستات (darunavir/cobicicidostat) برای کارآزمایی‌های بالینی علیه عفونت SARS-CoV-2 تأیید شده‌اند [۴۹]. بیشترین داروهای ضد ویروسی در جدول شماره ۳ خلاصه شده‌اند [۷].

به طور کلی، کروناویروس‌ها به داروهای ضد ویروسی فعلی حساس نیستند و از طرفی دوز بالایی از داروهای مؤثر بر این ویروس‌ها را نیز نمی‌توان در بدن استفاده کرد. بنابراین ترکیبی از روش‌های درمانی مختلف برای درمان عفونت‌های کروناویروس استفاده می‌شود. برخی از داروهای ترکیبی که می‌توانند برای درمان بیماران SARS-CoV-2 موفق باشند عبارتند از: لوپیناویر و ریتوناویر [۵۲، ۵۱]، لوپیناویر / ریتوناویر به علاوه آریبدول [۵۵]، همچنین ریباویرین و اینترفرون [۵۷، ۵۶].

استفاده از داروهای ضد التهابی مانند گلوکوکورتیکوئیدها، آنتاگونیست اینترلوکین-۶، مهارکننده‌های جانوس کیناز و کلروکین / هیدروکلروکین در بیماران SARS-CoV-2 یک معضل است، خصوصاً در بیمارانی که از اختلال در سیستم ایمنی بدن رنج می‌برند. برقراری تعادل نسبت ضرر و سود، موضوعی مهم است. کورتیکواستروئیدها ممکن است باعث از بین رفتن ویروس شوند، ولی از طرفی ممکن است خطر عفونت ثانویه را افزایش دهند. علاوه بر این، داروهایی که سایتوکاین‌های ضد التهابی را هدف قرار می‌دهند فقط می‌توانند فاکتورهای التهابی خاص را مهار کنند و بنابراین ممکن است در مهار طوفان سایتوکاین (انتشار بیش از حد و کنترل نشده سایتوکاین‌های التهابی) خیلی مؤثر نباشند. برخی از داروهای ضد التهابی نیز مانند JAK تولید INF- α را مسدود می‌کنند که در مبارزه با ویروس حائز اهمیت است [۵۴]. در حالی که تشخیص مولکولی کووید ۱۹ مبتنی بر ژنوم ویروسی و توسط تکنیک Real-Time PCR با پروب‌های خاص است، ولی درمان فعلی افراد مبتلا محدود به ترکیبی از طیف گسترده‌ای از داروهای ضد ویروسی است [۷۰].

با توجه به استفاده گسترده از داروی هیدروکسی کلروکین یا کلروکین، اغلب در ترکیب با ماکرولید (نسل دوم درمان کووید ۱۹)، محققان در پژوهش اخیر در می ۲۰۲۰، ایمنی و فواید این

تشخیص سریع عفونت SARS-CoV-2 زیربنای کنترل بیماری است و بستگی به معیارهای مختلفی از جمله سابقه بیماری (پرونده فرد)، علائم بالینی، سرولوژی، تشخیص مولکولی و تصویربرداری توموگرافی کامپیوتری^{۱۸} [۴۲] دارد. در ۲ مارس سال ۲۰۲۰ میلادی، WHO راهنمایی‌هایی را برای تست و بررسی موارد مشکوک انسانی، با رعایت اقدامات احتیاطی جهت جمع‌آوری نمونه‌ها، بسته‌بندی و حمل اسیدنوکلئیک برای تشخیص ژن‌های ویروسی (Gene ID:43740568) و *S* (Gene ID:43740575) و *RdRp* (Gene ID:43740570) و *E* (Gene ID:43740570) در آزمایشگاه منتشر کرد [۴۴]. SARS-CoV-2 از همان گیرنده ورود به سلول یعنی hACE2، مانند SARS-CoV استفاده می‌کند. بنابراین، سوآب‌های دهانی، مایع لاواژ برونکوالوئولار معده^{۱۹}، خون و همچنین سوآب مقعد بهترین نمونه‌های مورد استفاده برای تشخیص ویروس هستند [۴۵]. تشخیص مناسب در درجه اول به عواملی از جمله ۱. تاریخچه اپیدمیولوژیک، ۲. تشخیص آزمایشگاهی، ۳. تشخیص ویروس، ۴. تشخیص سرولوژیک و مولکولی و ۵. تشخیص رادیولوژی بستگی دارد [۸].

حساس‌ترین و اولین نشانگر سرولوژیک، آنتی بادی‌های کل است، سطح آن‌ها از هفته دوم شروع علائم افزایش می‌یابد. در هفته‌های قبل از شروع علائم تنها تست‌های وابسته به PCR ممکن است امکان شناسایی بیماری را داشته باشند. به تدریج و با شروع علامت در هفته اول و دوم، آزمایشات وابسته به PCR از اواخر هفته دوم بعد از شروع علائم، تست‌های آنتی بادی IgG و IgM به تدریج قابل استفاده هستند. با گذشت زمان از شروع علائم بیماری در هفته سوم، تیتراژ آنتی بادی به اوج خواهد رسید و بعد از آن به تدریج IgM کاهش می‌یابد. از هفته پنجم و ششم به بعد، IgG با اطمینان بیشتری روند طی شده بیماری در فرد را نشان خواهد داد، هرچند ممکن است تا حدی همچنان سایر تست‌ها مثبت شوند [۴۶].

کنترل و درمان عفونت COVID-19

در ژانویه سال ۲۰۲۰ میلادی، WHO هنگامی که مشکوک به عفونت SARS-CoV-2 بود، برای مدیریت بالینی SARS دستورالعمل‌هایی صادر کرد. در این راهنما، آغاز درمان‌های اضطراری، اجرای فوری راهکارهای پیشگیری و کنترل، درمان حمایتی زودهنگام و پیشگیری از عوارض SARS-CoV-2 به تفصیل شرح داده شد. تا کنون هیچ داروی ضد ویروسی خاص تأیید شده‌ای برای عفونت SARS-CoV-2 وجود ندارد. بنابراین اقدامات پیشگیرانه و غیرفعال کردن ویروس برای متوقف کردن و کنترل شیوع بیماری ضروری است [۴۷].

18. Compute Tomography

19. Bronchoalveolar Lavage Fluid (BALF)

فعال سازی اتصال ویروس به غشاء و ادغام آن‌ها و در نتیجه ورود ویروس، باید در محل اتصال S1-S2 يك شكاف ایجاد شود. از این‌رو، آنتی‌بادی‌های مونوکلونال با هدف قرار دادن زیر واحد S1 و مهارکننده‌های فیوژن با هدف قرار دادن زیر واحد S2 می‌توانند عوامل درمانی مؤثری برای کروناویروس‌ها باشند. فورین (Furin) که يك سرین‌اندوپروتئاز است با ممانعت از ایجاد شكاف بین S1-S2 می‌تواند ماده ضدویروسی مناسبی باشد [۷۴].

علاوه بر این، نوکلئوکسپید ماریپیچی با پروتئین S، پروتئین‌های کپسول و پروتئین‌های غشایی ارتباط برقرار می‌کند و کمپلکس ویریون تشکیل می‌شود. بنابراین هدف قرار دادن ژن‌های ساختاری با استفاده از RNAهای مداخله‌گر کوچک می‌تواند یک راهکار درمانی مؤثر علیه کروناویروس‌ها باشد. گیرنده‌های میزبان نیز هم‌زمان با ورود ویروس به درون سلول‌های میزبان وارد سلول می‌شوند. بنابراین هدف قرار دادن این گیرنده‌ها نیز می‌تواند کروناویروس‌ها را مهار کند. مهارکننده‌های ویریون اندوزومال سیستئین و ترنس‌ممبرن پروتئاز سرین ۲ می‌توانند تا حدودی ورود ویروس به داخل سلول را مسدود کنند [۷۵].

با وجود سرعت بالای عفونت‌زایی، تصور می‌شود که کروناویروس‌ها توانایی سرکوب پاسخ اینترفرون‌های ذاتی میزبان علیه عفونت را دارند؛ بنابراین باید چاره‌ای اندیشید. پاسخ اینترفرون را می‌توان با استفاده از القاکننده‌های اینترفرون یا اینترفرون‌های نوترکیب افزایش داد. اینترفرون‌های نوترکیب مانند اینترفرون آلفا و اینترفرون بتا که علیه SARS-CoV آزمایش شده بودند ممکن است یا به‌تنهایی یا در ترکیب با سایر داروهای ضدویروسی بالقوه، از جمله داروی رمدسیویر مورد استفاده قرار گیرند. هر دوی اینترفرون آلفا و بتا همانندسازی ویروسی را مهار می‌کنند. استفاده از القاکننده‌های اینترفرون در ترکیب با داروهای ضدویروسی مؤثر، ارزش ارزیابی اثرات هم‌افزایی احتمالی علیه SARS-CoV-2 را دارد [۷۳، ۴۲].

مهار مسیر پیام‌رسان mTOR برای درمان آنفولانزا و کروناویروس

مسیر پیام‌رسان mTOR، جهت برقراری تعادل در سنتز پروتئین، به مواد مغذی کافی، انرژی کافی، استرس، هورمون‌ها و مایتوزن‌ها حساس است. راپامایسین محصول باکتریایی است که می‌تواند mTOR را از طریق مسیر PI3K / AKT / mTOR مهار کند. در یک مطالعه انسانی مشخص شد درمان پنومونی شدید ناشی از آنفولانزای H1N1 با راپامایسین و استروئیدها نتایج خوبی داشته است. ولی در مطالعات دیگر، سرکوب سیستم ایمنی با استروئیدهای سیستمیک و احتمالاً راپامایسین با افزایش عوارض جانبی و همچنین مرگ‌ومیر و تکثیر ویروس در مدت‌زمان طولانی همراه بود. برای جلوگیری از عوارض جانبی سیستمیک، برخی از محققان اعلام کرده‌اند که راپامایسین به صورت استنشاقی مصرف

روش‌های درمانی را در بیماران مبتلا به کووید ۱۹ ارزیابی کردند. در این مطالعه از داده‌های ۶۷۱ بیمارستان (چندملیتی) از شش قاره استفاده شد و ۹۶۰۳۲ بیمار مبتلا به کووید ۱۹ (میانگین سنی ۵۲/۸ سال، ۴۶/۳ درصد زنان) مورد بررسی قرار گرفتند. از این تعداد، ۱۴۸۸۸ بیمار که در طی ۴۸ ساعت تشخیص بیماری آن‌ها مشخص شد تحت درمان در چهار گروه درمانی مختلف قرار گرفتند (۱۸۶۸ نفر داروی کلروکین دریافت کردند، ۳۷۸۳ نفر داروی کلروکین با ماکرولید دریافت کردند، ۳۰۱۶ بیمار داروی هیدروکسی کلروکین و ۶۲۲۱ بیمار داروی هیدروکسی کلروکین همراه با ماکرولید دریافت کردند). همچنین ۸۱۱۴۴ بیمار به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند که تحت درمان با هیچ‌یک از این داروها نبودند. نتایج آن‌ها نشان داد هر یک از این رژیم‌های دارویی با کاهش بقا و افزایش آریتمی بطنی در بیماران مبتلا به کووید ۱۹ همراه هستند [۷۱]. این نتایج نشان می‌دهند با مطالعه بیشتر روی جنبه‌های مختلف این ویروس، اطلاعات جدیدی از درمان ارائه می‌شود که می‌تواند نتایج قبلی را رد یا تأیید نماید.

از داروهای دیگر مفلوکوئین (Mefloquine) است که درمانی تأییدشده برای مالاریاست و فعالیت ضدویروسی در برابر هر دو بیماری MERS-CoV و SARS-CoV را دارد [۷۲]. مکانیسم ضدویروسی داروی سلامکتین (Selamectin) هنوز ناشناخته است؛ زیرا معمولاً در حیوانات کوچک (مثل گربه‌ها و سگ‌ها) به عنوان ماده انگل‌کش موضعی با طیف گسترده‌ای استفاده می‌شود [۷۰]. همچنین داروی رمدسیویر (Remdesivir) و کلروکوئین در شرایط آزمایشگاهی برای کنترل عفونت nCoV-2019 بسیار مؤثر بودند. درمان با رمدسیویر به‌تنهایی یا همراه با کلروکوئین یا اینترفرون بتا علیه عفونت کووید ۱۹ مؤثر بوده است. این روش درمان هنوز هیچ عارضه جانبی واضحی ایجاد نکرده است. با این وجود، برای بررسی تأثیرات داروی رمدسیویر، تحقیقات بیشتری لازم است. با نگاهی به مطالعه انجام‌شده در ایالات متحده در مورد داروی رمدسیویر، استفاده فوری از این دارو توسط FDA در تاریخ یکم می ۲۰۲۰ اعلام شد. کارآزمایی بالینی NIH نشان داد داروی رمدسیویر بهبودی بیماران را تسریع می‌کند.

در برنامه درمانی، درمان‌هایی که عناصر کلیدی ژنوم ویروس را مورد هدف قرار می‌دهند از اهمیت بیشتری برخوردار هستند. عوامل درمانی که نوکلئوزیدها، نوکلئوتیدها، اسیدهای نوکلئیک ویروسی و آنزیم‌ها / پروتئین‌هایی را که در تکثیر و رونویسی کروناویروس‌ها درگیر هستند، مورد هدف قرار می‌دهند می‌توانند راهکارهای امیدوارکننده‌ای برای درمان بیماری کروناویروس باشند [۷۳، ۴۲] (جدول شماره ۱). گلیکوپروتئین سطحی اسپایک (S) ویروس به دلیل نقش حیاتی آن در تعامل بین ویروس و گیرنده سلولی، یک هدف بالقوه مهم برای تهیه داروی ضدویروسی است. گلیکوپروتئین S از دو زیر واحد تشکیل شده است؛ زیر واحد S1 که زیر واحد اتصال N-ترمینال گیرنده است و S2 که زیر واحد ادغام غشایی C-ترمینال گیرنده است. برای

شود، ولی مستنداتی دال بر سمیت ریه ناشی از مصرف استنشاقی راپاماسین وجود دارد که باعث منع مصرف آن می‌شود [۷۶].

گروه دیگری از داروها یعنی بیگوانیدها (Biguanides) نیز می‌توانند mTOR را مهار کنند، اما هیچ‌گونه سمیت ریه‌ای ندارند. بیگوانیدها طیف وسیعی از داروهای مولکولی کوچک هستند که به عنوان داروی ضد دیابتی (به صورت دهانی) استفاده می‌شوند. در طی شیوع آنفولانزا در سال ۱۹۷۱ میلادی، مشاهده شد میزان عفونت در بیماران دیابتی که تحت درمان با بیگوانیدها و داروهای فن‌فورمین و بوفورین قرار گرفتند، کمتر از افراد دیابتی بود که تحت درمان با سولفونیل اوره یا انسولین بودند. هر دو داروی بوفورین و فن‌فورمین میزان مرگ‌ومیر آنفولانزا را در موش‌ها کاهش می‌دهند و نتایج نشان داده‌اند فن‌فورمین نسبت به بوفورین مؤثرتر است. در درمان آنفولانزا، استنشاق بوفورین یا فن‌فورمین می‌تواند یک راهکار جدید درمانی مؤثر باشد که به دلیل دوز کم استنشاق، خطر اثر جانبی سیستمیک مانند بیگوانیدها را ندارد [۷۶].

پاسخ‌های مسیر پیام‌رسان PI3K / AKT / mTOR نقش مهمی در عفونت‌زایی MERS-CoV بازی می‌کنند و ممکن است یک هدف دارویی جدید برای راهکارهای مداخله‌ای درمانی باشند [۷۶].

واکسیناسیون

تا به امروز (می ۲۰۲۰) هیچ واکسنی برای جلوگیری از عفونت SARS-CoV-2 وجود ندارد و آزمایشات مربوط به پیشرفت واکسن در مراحل اولیه تحقیق هستند. چندین واکسن کاندید مانند وکتورهای آدنوویروس زنده ضعیف‌شده، پروتئین نوترکیب و واکسن‌های اسیدنوکلئیک (DNA و mRNA) در خط مقدم بررسی قرار دارند [۷۷].

بحث

در دسامبر سال ۲۰۱۹، دسته‌ای از موارد پنومونیا، ناشی از یک بتا-کروناویروس جدید شناسایی شد که در وهان چین گزارش شده بود. این کروناویروس، در ۱۲ ژانویه سال ۲۰۲۰ توسط سازمان بهداشت جهانی (WHO) به عنوان کروناویروس جدید ۲۰۱۹ (nCoV-2019) معرفی شد [۷۸] و انتقال انسان به انسان حتی از حاملان بدون علامت تأیید شد [۸]. شیوع ناگهانی این کروناویروس نه تنها بر سیستم مراقبت‌های بهداشتی بلکه بر اقتصاد جهانی نیز تأثیر گذاشت [۷۹].

اگرچه پیشرفت‌هایی در رابطه با پیشگیری و شناسایی کووید ۱۹ صورت گرفته است، اما هنوز رویکردهای مؤثری برای درمان و کنترل اپیدمیولوژیک وجود ندارد. در حالی که آزمایشات مربوط به واکسن‌های ویژه ژنوم SARS-CoV-2 و آنتی‌بادی‌های درمانی در حال حاضر مورد آزمایش قرار می‌گیرند، اما این روند، طولانی‌مدت است و نیاز به آزمایشات کامل ایمنی دارد. از طرف

دیگر، استفاده مجدد از داروهای درمانی موجود که قبلاً برای سایر عفونت‌ها و آسیب‌شناسی ویروس‌ها طراحی شده‌اند، تنها رویکرد عملی به عنوان یک اقدام سریع جهت پاسخ‌گویی و مقابله با این بیماری همه‌گیر نوظهور است؛ زیرا اکثر این داروها قبلاً از لحاظ پاسخ ایمنی آزمایش شده‌اند. این درمان‌ها می‌توانند به دو دسته گسترده تقسیم شوند؛ دسته‌ای که می‌توانند به طور مستقیم چرخه تکثیر ویروس را هدف قرار دهند و دسته‌ای که مبتنی بر روش‌های ایمونوترپی بوده یا با هدف تقویت پاسخ‌های ایمنی ذاتی ضد ویروسی یا کاهش آسیب ناشی از پاسخ‌های التهابی نامنظم هستند. مطالعات بالینی اولیه، پتانسیل درمانی امیدوارکننده‌ای را برای بسیاری از این داروها نشان داده‌اند.

گمان می‌رود که وضعیت اضطراری همه‌گیری فعلی، یک محرک برای تغییر رویکردهای استفاده مجدد از داروهای فعلی، اما برای اهداف درمانی متفاوت خواهد بود. در این صورت با بروز هرگونه شیوع ویروسی در آینده، داروهای احتمالی مجدداً مورد استفاده قرار می‌گیرند.

دانشمندان پیشرفت‌های زیادی در توصیف SARS-CoV-2 نوظهور داشته‌اند و به طور گسترده روی روش‌های درمانی و واکسن‌های ضد ویروس کار می‌کنند، با این وجود متأسفانه در حال حاضر، هنوز درمان خاصی برای کووید ۱۹ وجود ندارد. این ویروس پتانسیل انتشار سریع و گسترده بین مردم و کشورها را دارد. اطلاعات جدید و شکاف‌های علمی گمراه‌کننده‌ای در مورد SARS-CoV-2 وجود دارند. با توجه به قدرت بالای انتقال این ویروس بین انسان و همه‌گیری آن، شناسایی میزان تکثیر، ساختار و بیماری‌زایی آن برای کشف راهی برای درمان خاص یا پیشگیری از آن پراهمیت است.

با بررسی ژنوم و مطالعات ژنتیکی این ویروس، شباهت زیادی با اعضای خانواده کروناویروس وجود دارد و بر همین اساس تلاش شده است داروها و واکسن‌های کووید ۱۹ تهیه شوند. اختلاف طول گلیکوپروتئین ساختاری اسپایک در کووید ۱۹ (بلندتر بودن طول آن) احتمالاً نقش مهمی در بیماری‌زایی و درمان این ویروس دارد. با این حال، شناسایی جزئیات مولکولی ویروس در دست‌یابی به اهداف درمانی می‌تواند کمک‌کننده باشد. اعتقاد بر این است که این همه‌گیری می‌تواند یک محرک برای ایجاد رویکردهای منظم‌تر باشد تا برای هرگونه بیماری احتمالی در آینده، قبل از وقوع آن آماده باشیم.

نتیجه‌گیری

با ایجاد یک چالش مهم در مورد سیستم بهداشت عمومی و راهکارهای ضد ویروسی موجود، بدون شک SARS-CoV-2 توجه جهان را در ابتدای سال ۲۰۲۰ به خود جلب کرده است. کووید ۱۹ بر اساس مطالعات درجه تکاملی و ساختارهای ژنومی خود به جنس بتا-کروناویروس تعلق دارد. بتا-کروناویروس‌های انسانی

بسیاری دارند، اما در ساختار ژنومی و فنوتیپی آن‌ها تفاوت‌هایی مشاهده می‌شود که می‌تواند بر بیماری‌زایی آن‌ها تأثیر بگذارد.

یک کروناویروس تیپیکال حداقل شش ORF را در ژنوم خود دارد. تمام پروتئین‌های ساختاری و جانبی از sgRNAهای کروناویروس‌ها ترجمه می‌شوند. چهار پروتئین ساختاری اصلی توسط ORFهای ۱۰ و ۱۱ در یک‌سوم ژنوم نزدیک ۳ انتهای رمزگذاری می‌شوند. ساختار ژنتیکی و فنوتیپی کووید ۱۹ در بیماری‌زایی آن مهم است.

بدون آگاهی از اطلاعات کامل درباره هدف دارویی، تدوین رویکردهای امیدوارکننده و مقرون به صرفه برای درمان مؤثر بیماری‌های انسانی چالش‌برانگیز است. استفاده مجدد از داروهای موجود برای بیماری‌های مشابه، به عنوان یک راهکار مؤثر می‌تواند در مقایسه با کشف داروی جدید زمان را کوتاه کند و هزینه را کاهش دهد.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

در نگارش این مقاله اصول اخلاقی طبق دستورالعمل کمیته ملی اخلاق و آیین‌نامه COPE رعایت شد. مقاله حاضر از نوع مروری است و نیاز به کد اخلاق ندارد.

حامی مالی

این تحقیق هیچ‌گونه کمک مالی از سازمان‌های تأمین مالی در بخش‌های عمومی، تجاری یا غیرانتفاعی دریافت نکرد.

مشارکت‌نویسندگان

تمام نویسندگان در طراحی، اجرا و نگارش همه بخش‌های پژوهش حاضر مشارکت داشته‌اند.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

References

- [1] Decaro N, Mari V, Elia G, Addie DD, Camero M, Lucente MS, et al. Recombinant canine coronaviruses in dogs, Europe. *Emerg Infect Dis*. 2010; 16(1):41-7. [DOI:10.3201/eid1601.090726]
- [2] Weiss SR, Navas-Martin S. Coronavirus pathogenesis and the emerging pathogen severe acute respiratory syndrome coronavirus. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2005; 69(4):635-64. [DOI:10.1128/MMBR.69.4.635-664.2005]
- [3] Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med*. 2020; 382(18):1708-20. [DOI:10.1056/NEJMoa2002032]
- [4] 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. *Mil Med Res*. 2020; 7(1):11. [DOI:10.1186/s40779-020-00240-0]
- [5] Wu A, Peng Y, Huang B, Ding X, Wang X, Niu P, et al. Genome Composition and Divergence of the Novel Coronavirus (2019-nCoV) Originating in China. *Cell Host Microbe*. 2020; 27(3):325-8. [DOI:10.1016/j.chom.2020.02.001]
- [6] Yang D, Leibowitz JL. The structure and functions of coronavirus genomic 3' and 5' ends. *Virus Res*. 2015; 206:120-33. [DOI:10.1016/j.virusres.2015.02.025]
- [7] 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(7798):270-3. [DOI:10.1038/s41586-020-2012-7] [PMCID]
- [8] Helmy YA, Fawzy M, Elasad A, Sobieh A, Kenney SP, Shehata AA. The COVID-19 pandemic: A comprehensive review of taxonomy, genetics, epidemiology, diagnosis, treatment, and control. *J Clin Med*. 2020; 9(4):1225. [DOI:10.3390/jcm9041225]
- [9] Ye ZW, Yuan S, Yuen KS, Fung SY, Chan CP, Jin DY. Zoonotic origins of human coronaviruses. *Int J Biol Sci*. 2020; 16(10):1686-97. [DOI:10.7150/ijbs.45472]
- [10] van der Hoek L, Sure K, Ihorst G, Stang A, Pyrc K, Jebbink MF, et al. Croup is associated with the novel coronavirus NL63. *PLoS Med*. 2005; 2(8):e240. [DOI:10.1371/journal.pmed.0020240]
- [11] Abdul-Rasool S, Fielding BC. Understanding human coronavirus HCoV-NL63. *Open Virol J*. 2010; 4:76-84. [DOI:10.2174/1874357901004010076]
- [12] Lau SKP, Woo PCY, Yip CCY, Tse H, Tsoi HW, Cheng VCC, et al. Coronavirus HKU1 and other coronavirus infections in Hong Kong. *J Clin Microbiol*. 2006; 44(6):2063-71. [DOI:10.1128/JCM.02614-05] [PMCID]
- [13] Woo PCY, Lau SKP, Chu CM, Chan KH, Tsoi HW, Huang Y, et al. Characterization and complete genome sequence of a novel coronavirus, coronavirus HKU1, from patients with pneumonia. *J Virol*. 2005; 79(2):884-95. [DOI:10.1128/JVI.79.2.884-895.2005]
- [14] Coleman CM, Frieman MB. Emergence of the Middle East respiratory syndrome coronavirus. *PLoS Pathog*. 2013; 9(9):e1003595. [DOI:10.1371/journal.ppat.1003595]
- [15] Gao H, Yao H, Yang S, Li L. From SARS to MERS: Evidence and speculation. *Front Med*. 2016; 10(4):377-82. [DOI:10.1007/s11684-016-0466-7]
- [16] Hilgenfeld R, Peiris M. From SARS to MERS: 10 years of research on highly pathogenic human coronaviruses. *Antiviral Res*. 2013; 100(1):286-95. [DOI:10.1016/j.antiviral.2013.08.015] [PMCID]
- [17] Cheng VCC, Lau SKP, Woo PCY, Yuen KY. Severe acute respiratory syndrome coronavirus as an agent of emerging and reemerging infection. *Clin Microbiol Rev*. 2007; 20(4):660-94. [DOI:10.1128/CMR.00023-07]
- [18] To KKW, Hung IFN, Chan JFW, Yuen KY. From SARS coronavirus to novel animal and human coronaviruses. *J Thorac Dis*. 2013; 5 Suppl 2(Suppl 2):S103-8. [DOI:10.3978/j.issn.2072-1439.2013.06.02]
- [19] 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(10223):497-506. [DOI:10.1016/S0140-6736(20)30183-5]
- [20] Forni D, Cagliani R, Clerici M, Sironi M. Molecular evolution of human coronavirus genomes. *Trends Microbiol*. 2017; 25(1):35-48. [DOI:10.1016/j.tim.2016.09.001]
- [21] Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol*. 2019; 17(3):181-92. [DOI:10.1038/s41579-018-0118-9] [PMCID]
- [22] Hu B, Zeng LP, Yang XL, Ge XY, Zhang W, Li B, et al. Discovery of a rich gene pool of bat SARS-related coronaviruses provides new insights into the origin of SARS coronavirus. *PLoS Pathog*. 2017; 13(11):e1006698. [DOI:10.1371/journal.ppat.1006698]
- [23] Zaki AM, van Boheemen S, Bestebroer TM, Osterhaus ADME, Fouchier RAM. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *N Engl J Med*. 2012; 367(19):1814-20. [DOI:10.1056/NEJMoa1211721]
- [24] Jodar M, Kalko S, Castillo J, Balleca JL, Oliva R. Differential RNAs in the sperm cells of asthenozoospermic patients. *Hum Reprod*. 2012; 27(5):1431-8. [DOI:10.1093/humrep/des021]
- [25] Johnson GD, Sendler E, Lalancette C, Hauser R, Diamond MP, Krawetz SA. Cleavage of rRNA ensures translational cessation in sperm at fertilization. *Mol Hum Reprod*. 2011; 17(12):721-6. [DOI:10.1093/molehr/gar054]
- [26] Chu DKW, Hui KPY, Perera RAPM, Miguel E, Niemeyer D, Zhao J, et al. MERS coronaviruses from camels in Africa exhibit region-dependent genetic diversity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018; 115(12):3144-9. [DOI:10.1073/pnas.1718769115]
- [27] Lau SKP, Li KSM, Tsang AKL, Lam CSF, Ahmed S, Chen H, et al. Genetic characterization of Betacoronavirus lineage C viruses in bats reveals marked sequence divergence in the spike protein of pipistrellus bat coronavirus HKU5 in Japanese pipistrelle: Implications for the origin of the novel Middle East respiratory syndrome coronavirus. *J Virol*. 2013; 87(15):8638-50. [DOI:10.1128/JVI.01055-13] [PMCID]
- [28] Wang Y, Liu D, Shi W, Lu R, Wang W, Zhao Y, et al. Origin and possible genetic recombination of the Middle East Respiratory syndrome coronavirus from the first imported case in China: Phylogenetics and Coalescence Analysis. *mBio*. 2015; 6(5):e01280-15. [DOI:10.1128/mBio.01280-15]
- [29] Dudas G, Rambaut A. MERS-CoV recombination: Implications about the reservoir and potential for adaptation. *Virus Evol*. 2016; 2(1):vev023. [DOI:10.1093/ve/vev023]
- [30] Raj VS, Mou H, Smits SL, Dekkers DHW, Muller MA, Dijkman R, et al. Dipeptidyl peptidase 4 is a functional receptor for the emerging human coronavirus-EMC. *Nature*. 2013; 495(7440):251-4. [DOI:10.1038/nature12005]
- [31] Luo CM, Wang N, Yang XL, Liu HZ, Zhang W, Li B, et al. Discovery of novel bat coronaviruses in south China that use the same receptor as middle east respiratory syndrome coronavirus. *J Virol*. 2018; 92(13):e00116-18. [DOI:10.1128/JVI.00116-18]

- [32] Li H, Liu SM, Yu XH, Tang SL, Tang CK. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): Current status and future perspectives. *Int J Antimicrob Agents*. 2020; 55(5):105951. [DOI:10.1016/j.ijantimicag.2020.105951]
- [33] Ceraolo C, Giorgi FM. Genomic variance of the 2019-nCoV coronavirus. *J Med Virol*. 2020; 92(5):522-8. [DOI:10.1002/jmv.25700]
- [34] 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(10223):507-13. [DOI:10.1016/S0140-6736(20)30211-7]
- [35] Chan JFW, Kok KH, Zhu Z, Chu H, To KKW, Yuan S, et al. Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan. *Emerg Microbes Infect*. 2020; 9(1):221-36. [DOI:10.1080/22221751.2020.1719902]
- [36] Krichel B, Falke S, Hilgenfeld R, Redecke L, Uetrecht C. Processing of the SARS-CoV pp1a/ab nsp7-10 region. *Biochem J*. 2020; 477(5):1009-19. [DOI:10.1042/BCJ20200029]
- [37] Angeletti S, Benvenuto D, Bianchi M, Giovanetti M, Pascarella S, Ciccozzi M. COVID-19: The role of the nsp2 and nsp3 in its pathogenesis. *J Med Virol*. 2020; 92(6):584-588. [DOI:10.1002/jmv.25719]
- [38] Wu F, Zhao S, Yu B, Chen YM, Wang W, Song ZG, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*. 2020; 579(7798):265-9. [DOI:10.1038/s41586-020-2008-3]
- [39] GISAID. Official hCoV-19 Reference Sequence [Internet]. 2020 [Updated 2020]. Available from: <https://www.gisaid.org/epiflu-applications/hcov-19-reference-sequence/>
- [40] Li JY, You Z, Wang Q, Zhou ZJ, Qiu Y, Luo R, et al. The epidemic of 2019-novel-coronavirus (2019-nCoV) pneumonia and insights for emerging infectious diseases in the future. *Microbes Infect*. 2020; 22(2):80-5. [DOI:10.1016/j.micinf.2020.02.002]
- [41] Liu K, Fang YY, Deng Y, Liu W, Wang MF, Ma JP, et al. Clinical characteristics of novel coronavirus cases in tertiary hospitals in Hubei Province. *Chin Med J (Engl)*. 2020; 133(9):1025-31. [DOI:10.1097/CM9.0000000000000744]
- [42] Khan S, Siddique R, Shereen MA, Ali A, Liu J, Bai Q, et al. Emergence of a novel coronavirus, severe acute respiratory syndrome coronavirus 2: Biology and therapeutic options. *J Clin Microbiol*. 2020; 58(5):e00187-20. [DOI:10.1128/JCM.00187-20]
- [43] Showell MG, Mackenzie-Proctor R, Brown J, Yazdani A, Stankiewicz MT, Hart RJ. Antioxidants for male subfertility. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014; (12):CD007411. [DOI:10.1002/14651858.CD007411.pub3]
- [44] WHO. Coronavirus Disease (COVID-19) Technical guidance: Laboratory testing for 2019-nCoV in humans [Internet]. 2020 [Updated 2020]. Available from: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/laboratory-guidance/>
- [45] Zhang W, Du RH, Li B, Zheng XS, Yang XL, Hu B, et al. Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: Implication of multiple shedding routes. *Emerg Microbes Infect*. 2020; 9(1):386-9. [DOI:10.1080/22221751.2020.1729071]
- [46] Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting diagnostic tests for SARS-CoV-2. *JAMA*. 2020; 323(22):2249-51. [DOI:10.1001/jama.2020.8259]
- [47] WHO. Clinical management of severe acute respiratory infection when novel coronavirus (nCoV) infection is suspected [Internet]. 2020 [Updated 2020 January 12]. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/10665-332299>
- [48] Kampf G, Todt D, Pfaender S, Steinmann E. Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents. *J Hosp Infect*. 2020; 104(3):246-51. [DOI:10.1016/j.jhin.2020.01.022]
- [49] Li H, Wang YM, Xu JY, Cao B. [Potential antiviral therapeutics for 2019 Novel Coronavirus]. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi*. 2020; 43(3):170-2. [DOI:10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2020.03.004]
- [50] Chu CM, Cheng VCC, Hung IFN, Wong MML, Chan KH, Chan KS, et al. Role of lopinavir/ritonavir in the treatment of SARS: Initial virological and clinical findings. *Thorax*. 2004; 59(3):252-6. [DOI:10.1136/thorax.2003.012658]
- [51] Lim J, Jeon S, Shin HY, Kim MJ, Seong YM, Lee WJ, et al. Case of the index patient who caused tertiary transmission of COVID-19 infection in Korea: The application of lopinavir/ritonavir for the treatment of COVID-19 infected pneumonia monitored by quantitative RT-PCR. *J Korean Med Sci*. 2020; 35(6):e79. [DOI:10.3346/jkms.2020.35.e79]
- [52] Han W, Quan B, Guo Y, Zhang J, Lu Y, Feng G, et al. The course of clinical diagnosis and treatment of a case infected with coronavirus disease 2019. *J Med Virol*. 2020; 92(5):461-3. [DOI:10.1002/jmv.25711]
- [53] Wang Y, Ding Y, Yang C, Li R, Du Q, Hao Y, et al. Inhibition of the infectivity and inflammatory response of influenza virus by Arbidol hydrochloride in vitro and in vivo (mice and ferret). *Biomed Pharmacother*. 2017; 91:393-401. [DOI:10.1016/j.biopha.2017.04.091]
- [54] Zhang W, Zhao Y, Zhang F, Wang Q, Li T, Liu Z, et al. The use of anti-inflammatory drugs in the treatment of people with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): The perspectives of clinical immunologists from China. *Clin Immunol*. 2020; 214:108393. [DOI:10.1016/j.clim.2020.108393]
- [55] Huang X, Xu Y, Yang Q, Chen J, Zhang T, Li Z, et al. Efficacy and biological safety of lopinavir/ritonavir based anti-retroviral therapy in HIV-1-infected patients: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Sci Rep*. 2015; 5:8528. [DOI:10.1038/srep08528]
- [56] Arabi YM, Shalhoub S, Mandourah Y, Al-Hameedi F, Al-Omari A, Al-Qasim E, et al. Ribavirin and interferon therapy for critically ill patients with Middle East respiratory syndrome: A multicenter observational study. *Clin Infect Dis*. 2020; 70(9):1837-44. [DOI:10.1093/cid/ciz544]
- [57] Al-Tawfiq JA, Momattin H, Dib J, Memish ZA. Ribavirin and interferon therapy in patients infected with the Middle East respiratory syndrome coronavirus: An observational study. *Int J Infect Dis*. 2014; 20:42-6. [DOI:10.1016/j.ijid.2013.12.003]
- [58] Janowski AB, Dudley H, Wang D. Antiviral activity of ribavirin and favipiravir against human astroviruses. *J Clin Virol*. 2020; 123:104247. [DOI:10.1016/j.jcv.2019.104247]
- [59] Furuta Y, Komeno T, Nakamura T. Favipiravir (T-705), a broad spectrum inhibitor of viral RNA polymerase. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*. 2017; 93(7):449-63. [DOI:10.2183/pjab.93.027]
- [60] Furuta Y, Gowen BB, Takahashi K, Shiraki K, Smeed DF, Barnard DL. Favipiravir (T-705), a novel viral RNA polymerase inhibitor. *Antiviral Res*. 2013; 100(2):446-54. [DOI:10.1016/j.antiviral.2013.09.015]
- [61] Gao J, Li J, Shao X, Jin Y, Lu XW, Ge JF, et al. Anti-inflammatory and immunoregulatory effects of total glucosides of Yupingfeng powder. *Chin Med J (Engl)*. 2009; 122(14):1636-41. [PMID]
- [62] Sheahan TP, Sims AC, Leist SR, Schafer A, Won J, Brown AJ, et al. Comparative therapeutic efficacy of remdesivir and combination lopinavir, ritonavir, and interferon beta against MERS-CoV. *Nat Commun*. 2020; 11(1):222. [DOI:10.1038/s41467-019-13940-6]

- [63] Lathouwers E, Wong EY, Luo D, Seyedkazemi S, De Meyer S, Brown K. HIV-1 resistance rarely observed in patients using darunavir once-daily regimens across clinical studies. *HIV Clin Trials*. 2017; 18(5-6):196-204. [DOI:10.1080/15284336.2017.1387690]
- [64] Mifsud EJ, Tilmanis D, Oh DY, Ming-Kay Tai C, Rossignol JF, Hurt AC. Prophylaxis of ferrets with nitazoxanide and oseltamivir combinations is more effective at reducing the impact of influenza a virus infection compared to oseltamivir monotherapy. *Antiviral Res*. 2020; 176:104751. [DOI:10.1016/j.antiviral.2020.104751]
- [65] Lee N, Allen Chan KC, Hui DS, Ng EKO, Wu A, Chiu RWK, et al. Effects of early corticosteroid treatment on plasma SARS-associated Coronavirus RNA concentrations in adult patients. *J Clin Virol*. 2004; 31(4):304-9. [DOI:10.1016/j.jcv.2004.07.006]
- [66] Jawhara S. Could intravenous immunoglobulin collected from recovered coronavirus patients protect against COVID-19 and strengthen the immune system of new patients? *Int J Mol Sci*. 2020; 21(7):2272. [DOI:10.3390/ijms21072272]
- [67] Shen C, Wang Z, Zhao F, Yang Y, Li J, Yuan J, et al. Treatment of 5 critically ill patients with covid-19 with convalescent plasma. *JAMA*. 2020; 323(16):1582-9. [DOI:10.1001/jama.2020.4783]
- [68] Atluri S, Manchikanti L, Hirsch JA. Expanded umbilical cord mesenchymal stem cells (UC-MSCs) as a therapeutic strategy in managing critically ill COVID-19 patients: The case for compassionate use. *Pain physician*. 2020; 23(2):E71-83. [PMID]
- [69] Caly L, Druce JD, Catton MG, Jans DA, Wagstaff KM. The FDA-approved drug ivermectin inhibits the replication of SARS-CoV-2 in vitro. *Antiviral Research*. 2020; 178:104787. [DOI:10.1016/j.antiviral.2020.104787]
- [70] Cava C, Bertoli G, Castiglioni I. In silico discovery of candidate drugs against Covid-19. *Viruses*. 2020; 12(4):404. [DOI:10.3390/v12040404]
- [71] Mehra MR, Desai SS, Ruschitzka F, Patel AN. Hydroxychloroquine or chloroquine with or without a macrolide for treatment of COVID-19: A multinational registry analysis. *Lancet*. 2020. [DOI:10.1016/S0140-6736(20)31180-6]
- [72] Dyall J, Coleman CM, Hart BJ, Venkataraman T, Holbrook MR, Kindrachuk J, et al. Repurposing of clinically developed drugs for treatment of Middle East respiratory syndrome coronavirus infection. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014; 58(8):4885-93. [DOI:10.1128/AAC.03036-14] [PMCID]
- [73] Zumla A, Chan JFW, Azhar EI, Hui DSC, Yuen K-Y. Coronaviruses - drug discovery and therapeutic options. *Nat Rev Drug Discov*. 2016; 15(5):327-47. [DOI:10.1038/nrd.2015.37]
- [74] Millet JK, Whittaker GR. Host cell entry of Middle East respiratory syndrome coronavirus after two-step, furin-mediated activation of the spike protein. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014; 111(42):15214-9. [DOI:10.1073/pnas.1407087111]
- [75] Shirato K, Kawase M, Matsuyama S. Middle East respiratory syndrome coronavirus infection mediated by the transmembrane serine protease TMPRSS2. *J Virol*. 2013; 87(23):12552-61. [DOI:10.1128/JVI.01890-13]
- [76] Lehrer S. Inhaled biguanides and mTOR inhibition for influenza and coronavirus (Review). *World Acad Sci J*. 2020; 2(3):1. [DOI:10.3892/wasj.2020.42]
- [77] Chen WH, Strych U, Hotez PJ, Bottazzi ME. The SARS-CoV-2 vaccine pipeline: An overview. *Curr Trop Med Rep*. 2020:1-4. [DOI:10.1007/s40475-020-00201-6]
- [78] Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: Implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*. 2020; 395(10224):565-74. [DOI:10.1016/S0140-6736(20)30251-8] [PMCID]
- [79] Tu YF, Chien CS, Yarmishyn AA, Lin YY, Luo YH, Lin YT, et al. A review of SARS-CoV-2 and the ongoing clinical trials. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(7):2657. [DOI:10.3390/ijms21072657]

This Page Intentionally Left Blank
