

مروری بر کاربردهای فوتو - نانوتکنولوژی در ویروس‌شناسی

چکیده

اهداف: ویروس‌ها عوامل عفونی زیر میکروسکوپی هستند که باعث بسیاری از بیماری‌ها در انسان می‌شوند. از جمله چندین عفونت کشنده که در گذشته اخیر ظهور کرده‌اند. تشخیص سریع و دقیق عفونت‌های ویروسی در مراحل اولیه در جلوگیری از ظهور پاتوژن بسیار حیاتی است. با این حال، اکثر روش‌های تشخیصی موجود در حال حاضر پرزحمت، زمان‌بر و با حساسیت کمتری هستند. از سوی دیگر، دسترسی محدود درمان‌های ضدویروسی و اثرات نامطلوب مرتبط با داروهای ضدویروسی سنتی ضرورت توسعه استراتژی‌های درمانی جدید را برای مبارزه با عفونت‌های ویروسی مطرح می‌کند. در سال‌های اخیر، انواع مختلفی از نانومواد برای تشخیص و درمان عفونت‌های ویروسی مورد بررسی قرار گرفته است. در این مقاله مروری، برخی از رویکردهای مبتنی بر فناوری نانو که برای تشخیص سریع و با کیفیت بالای عفونت‌های ویروسی ایجاد شده‌اند، و نیز استراتژی‌های درمانی ضدویروسی مرتبط با نانومواد نیز با مثال‌هایی مورد بحث قرار می‌گیرند.

عفونت‌های ویروسی به‌ویژه در سال‌های اخیر به‌عنوان یک خطر بزرگ برای سلامت جهانی ظاهر شده‌اند. با این حال، تنها تعداد محدودی از ابزارهای تشخیصی و درمان‌های ضدویروسی برای مبارزه با این عفونت‌های ویروسی در دسترس هستند. رویکردهای جدید مبتنی بر فناوری نانو در مقایسه با روش‌های تشخیص ویروسی موجود می‌توانند بستر بهتری را برای تشخیص عفونت‌های ویروسی در مدت کوتاهی با حساسیت بالا فراهم کنند. همچنین، نانومواد ممکن است به غلبه بر مسائلی مانند حلالیت و فراهمی زیستی کم، رهایش سریع، ایجاد مقاومت و اثرات نامطلوب که اغلب با درمان‌های ضدویروسی مرسوم مرتبط هستند، کمک کند. بنابراین، فناوری نانو به‌عنوان ابزاری جدید و امیدوارکننده در مدیریت مؤثر عفونت‌های ویروسی در پزشکی آینده ظاهر می‌شود.

مژده بابادی¹

افشان شیرکوند^{2*}

مریم سادات قرشی³

1. پژوهشگر دکتری تخصصی فیزیک ماده چگال، دپارتمان فیزیک، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید چمران اهواز

2. دکتری تخصصی، فیزیک پزشکی، عضو هیئت علمی گروه پژوهشی فتودینامیک، پژوهشکده یارا، سازمان جهاد دانشگاهی علوم پزشکی تهران

3. دکتری تخصصی فناوری نانو، پژوهشگر گروه پژوهشی فتودینامیک، پژوهشکده یارا، سازمان جهاد دانشگاهی علوم پزشکی تهران

نویسنده مسئول: افشان شیرکوند

پست الکترونیکی:

shirkavand@accr.ac.ir

شماره تماس:

02166462915

کلیدواژه: ضدویروسی، تشخیص، نانومواد، فوتو، عفونت‌های ویروسی

مقدمه

از زیرگروه H1N1 است. ویروالانس که توسط ژن هم‌گلویتینین تعیین می‌شود، یک ژن نو ترکیب بود که در اصل از آنفولانزای انسانی و آنفولانزای خوکی ناشی می‌شد و ویروس را بدخیم‌تر می‌کرد [6]. آبله (وارویلا) قرن‌ها بشر را ویران کرد تا این‌که در سال 1980 ریشه کن شد. همه طبقات اجتماعی را تحت تأثیر قرار داد [7][8]. در قرن هجدهم در اروپا، سالانه حدود 400000 نفر بر اثر آبله جان خود را از دست می‌دادند و یک سوم از بازماندگان نابینا شدند [8]. در انگلستان، این بیماری به دلیل علانم (ضایعات پوستی برجسته) که به‌طور ناگهانی ظاهر می‌شود، "هیولا خالدار" نامیده شد. میزان مرگ و میر 20-60% بود و بازماندگان با اسکارهای مخوف باقی ماندند. میزان مرگ و میر در نوزادان 80-98% بیشتر بود [8]. مجاری تنفسی درگاه معمول ورود ویروس آبله است. عفونت‌های پوست، ملتحمه و ترانس جفتی در موارد نادری رخ می‌دهد [9].

سارس (سندرم حاد تنفسی شدید) اولین بیماری همه‌گیر جهانی در قرن بیست و یکم بود که منجر به 8098 مورد ابتلا و 9/6% مرگ و میر در 29 کشور شد [10][11]. نتایج آزمایش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز⁵ به‌دست‌آمده با نمونه‌های خون و خلط نشان داد که سارس ناشی از یک سویه جدید کروناویروس است. گزارش شده است که ویروس عامل این بیماری دارای یک دوره نهفتگی 2 تا 7 روزه است و علانم آن عبارتند از پروکسی پرودرا که می‌تواند با لرز، ضعف، تشنج، میالژی، تنگی نفس، سرفه خشک و سردرد همراه باشد [12].

ویروس کرونا سندرم تنفسی خاورمیانه⁶ که یک بتاکرونا ویروس نوظهور از ماهیت C بود که عامل ایجاد بیماری حاد تنفسی در انسان است. موارد بیماری مرس در هفت کشور شبه جزیره عربستان در سال 2012 گزارش شد و اکثر موارد از عربستان سعودی گزارش شده بود. میزان مرگ و میر افراد مبتلا تقریباً 30-40% بود [13]. ویروس زیکا⁷ یک آربوویروس (ویروس منتقله از بندپایان) است که از طریق ناقلان پشه منتقل می‌شود. این ویروس اولین بار در سال 1947 از یک پستاندار و بعداً در سال 1948 در آفریقا از پشه‌ها جدا شد. ویروس

کشف ویروس موزاییکی تنباکو¹ یک نقطه عطف تاریخی در علم است. ایوانوفسکی، که پدر کشف ویروس بود، روی بیماری موزاییک تنباکو که قبلاً اثبات شده بود که یک علت میکروبی دارد، کار کرد. این بیماری توسط دانشمندان قبلی به‌عنوان "میکروب زنده محلول در سیالات سرایتی" شناخته می‌شد. در نهایت، گزارش شد که عامل ایجاد کننده قادر به رشد مستقل نیست و برای تکثیر نیاز به حضور سلول‌های میزبان زنده و تقسیم‌کننده دارد [1]. کشف تاریخی ویروس موزاییک تنباکو در سال 1892 با کشف ویروس تب برفکی در سال 1898 دنبال شد. اولین ویروسی که در انسان کشف شد، ویروس تب زرد در سال 1901 بود [2]. گونه‌های ویروسی جدید که انسان‌ها را مبتلا می‌کنند از آن زمان با فراوانی سه یا چهار مورد در سال شناسایی شده‌اند [3]. ویروس‌ها مسئول بیش از دو سوم عفونت‌های انسانی هستند [4].

فقدان درمان و ایمن‌سازی برای بیماری‌های عفونی به دلیل ظهور انواع جدیدی ویروس‌های بیماری‌زا انسانی به یک چالش حیاتی تبدیل شده است. ازلحاظ تاریخی، برخی از شیوع عفونت‌های ویروسی، جمعیت انسانی را تحت تأثیر قرار داده است. در میان آنها، آنفولانزای اسپانیایی، آبله، زیکا، ابولا، سارس (سندرم تنفسی حاد شدید)، مرس² (سندرم تنفسی خاورمیانه)، ویروس نقص ایمنی انسانی نوع 1³، و همه‌گیری کنونی؛ کووید 19 مهم هستند. "آنفولانزای اسپانیایی" یک بیماری همه‌گیر آنفولانزا بود که طی سال‌های 1918-1919 در سراسر جهان گسترش یافت و بیش از 50 میلیون نفر را کشت (Trilla et al. 2008) [5]. بخش‌های RNA ژنومی ویروس آنفولانزای اسپانیایی از بافت‌های حفظ‌شده قربانیان آنفولانزا جدا شده و سه ژن از جمله ژن هم‌گ - گلویتینین⁴ به‌طور کامل توالی‌یابی شدند. این توالی‌های ژنی تأیید کردند که عامل ایجادکننده این آنفولانزای اسپانیایی یک ویروس آنفولانزای A

¹ Tobacco mosaic virus TMV

² MERS

³ HIV-1

⁴ (HA)

⁵ PCR

⁶ (MERS-CoV)

⁷ (ZIKV)

ایمنی انسانی نوع 1 ایجاد می‌شوند. ایدز، ناشی از عفونت ویروس نقص ایمنی انسانی نوع 1، برای اولین بار در سال 1981 پس از گزارش مجموعه‌ای از علائم مشترک در بین گروهی از مردان همجنس‌گرا در ایالات متحده آمریکا شناسایی شد [18]. راه اصلی انتقال از طریق تماس جنسی و انتقال خون است [19]. علائم عفونت حاد ویروس نقص ایمنی انسانی نوع 1 معمولاً در عرض چند روز تا چند هفته پس از مواجهه اولیه ظاهر می‌شود و علائمی مانند تب، خستگی، بثورات ماکولوپاپولار، سردرد، فارنژیت، لنفادنوپاتی، میالژی، آرترالژی، مننژیت آسپتیک، درد رترو - اوربیتال، کاهش وزن، ناراحتی گوارشی، تعریق شبانه، افسردگی، و زخم‌های دهان و تناسلی در بین بیماران شایع است [20].

جدیدترین تهدید برای سلامت جهانی، شیوع مداوم بیماری‌های تنفسی است که اخیراً "بیماری کرونا ویروس 2019 (کووید-19)" نام‌گذاری شده است. این بیماری در دسامبر 2019 شناسایی شد و توسط سویه جدیدی از ویروس کرونا ایجاد می‌شود که از نظر ساختاری شبیه به ویروس ایجاد کننده سندرم حاد تنفسی (سارس) است [21]. ایست تنفسی به دلیل سندرم دیسترس تنفسی حاد علت اصلی مرگ و میر ناشی از کووید-19 می‌باشد [22].

1- ساختار و طبقه‌بندی ویروس

توسعه فناوری‌های توالی‌یابی ژن، توالی‌یابی سریع ژنوم‌های ویروسی را ممکن می‌سازد و در نتیجه جنبه‌های اساسی مربوط به تکامل ویروس‌ها را توضیح می‌دهد. همچنین اجازه می‌دهد تا تعیین کننده‌های آنتی‌ژنی و اپیدمیولوژی مولکولی ویروسی را بیان کند [23]. بنابراین، تعیین توالی ژنتیکی و تعیین منشأ ویروسی همیشه از موضوعات مهم در ویروس‌شناسی بوده است [24]. در همین حال، کشف سیستماتیک ویروس‌های جدید در سال‌های اخیر دستخوش نوزایی شده است [25]. با شروع استراتژی‌های بهبودیافته برای شبیه‌سازی و غربال‌سازی کتابخانه‌های cDNA، در دسترس بودن تکنیک‌های مبتنی بر توالی‌یابی و تقویت محور جدید، شناسایی نه تنها ویروس‌های جداشده، بلکه ویروس‌های کشت‌نشده را تسهیل کرده‌اند [26].

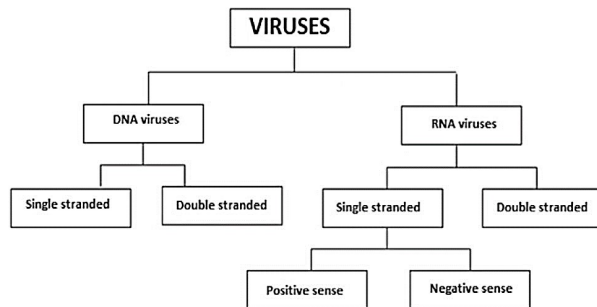
زیکا از طریق نیش پشه‌های آلوده، به انسان منتقل می‌شود. علائم بالینی عفونت زیکا اختصاصی نیستند و بنابراین می‌تواند به اشتباه به‌عنوان آربوویروس‌های دیگر مانند دنگی یا چیکونگونیا تشخیص داده شود. عفونت ویروس زیکا تنها با علائم خفیف قبل از شیوع گسترده در فرانسه - پلی‌نزی در سال‌های 2013-2014 همراه بود. جدای از عوارض شدید عصبی، ناهنجاری‌های مادرزادی شدید از جمله میکروسفالی مرتبط با عفونت ویروس زیکا نیز گزارش شد [14].

شیوع ویروس ابولا یکی از کشنده‌ترین عفونت‌هایی بود که میزان مرگ و میر آن 90-30% گزارش شد [15]. ویروس ابولا برای اولین بار در سال 1976 پس از گزارش دو شیوع غیرمرتبط در جمهوری دموکراتیک کنگو (که قبلاً جمهوری زئیر نامیده می‌شد) و جنوب سودان شناسایی شد. نام "ابولا" پس از بسته‌شدن یک رودخانه کوچک در مرکز شیوع کنگو آمده است. علائم بالینی عفونت شامل تب، استفراغ، اسهال شدید و خونریزی بود [15]. جدیدترین شیوع ویروس ابولا اخیراً، در مارس 2014 آغاز شد و با سویه جدیدی از گونه زئیر مرتبط بود، که خطرناک‌ترین گونه از 5 گونه ابولا است. ویروس ابولا (ویروس ابولا زئیر سابق)، ویروس ابولای سودان، ویروس ابولا بوندیوگیو، ویروس ابولا رستون و ویروس ابولا جنگل تایی [16]. همه‌گیری ابولا در پنج کشور گینه، نیجریه، سنگال، لیبیا و سیرالئون گزارش شده است [15]. انتقال ویروس ابولا از طریق تماس مستقیم با پوست آسیب‌دیده، غشاهای مخاطی یا توسط اشیایی مانند سوزن اتفاق می‌افتد. مایعات بدن افراد آلوده از جمله خون، بزاق، استفراغ و مایع منی عفونی است. ابولا همچنین از طریق تماس مستقیم با حیوانات آلوده مانند دست‌زدن به لاشه حیوانات آلوده و مصرف گوشت بوته منتقل شده بود.

ویروس نقص ایمنی انسانی نوع 1 ویروس دیگری است که تأثیر مخربی بر سلامتی انسان دارد. این عامل سندرم نقص ایمنی اکتسابی (ایدز) است [17]. همه‌گیری ایدز همچنان در بسیاری از نقاط جهان گسترش می‌یابد. گزارش شده است که بیش از 34 میلیون نفر در حال حاضر به ویروس نقص ایمنی انسانی آلوده شده‌اند در حالی که بیشتر عفونت‌ها توسط گونه‌های ویروس نقص

شیمیایی و پیکربندی اسید نوکلئیک، استفاده شود. علاوه بر این، حس مثبت یا منفی ژنومی تک رشته‌ای RNA در طبقه‌بندی ویروس در نظر گرفته می‌شود [33]. ویروس‌ها به گروه‌هایی در سطوح مختلف سلسله مراتبی مانند ترتیب، خانواده، زیرخانواده، جنس و گونه‌ها تقسیم می‌شوند. تخمین زده می‌شود که امروزه بیش از 30000 ویروس مجزا شناسایی شده که در بیش از 3600 گونه، 164 جنس و 71 خانواده، گروه‌بندی شده است [31].

دو طرح طبقه‌بندی بر نحوه تجسم ویروس تأثیر گذاشته است: طرح بالتیمور [34] ویروس‌ها را بر اساس ماهیت ژنوم (نوع، تعداد رشته‌ها و برای ژنوم تک رشته‌ای، حس) به هفت گروه طبقه‌بندی می‌کند. گروه‌ها (شکل 1) ویروس‌های DNA دو رشته‌ای، DNA تک رشته‌ای، RNA دو رشته‌ای، RNA تک رشته‌ای مثبت (حس)، و RNA تک رشته‌ای منفی (ضدحس) هستند. علاوه بر این، دو دسته ویروس دیگر وجود دارد. ویروس‌های RNA تک رشته‌ای با ترانس کریپتاز معکوس و ویروس‌های DNA دو رشته‌ای با ترانس کریپتاز معکوس [33].



شکل 1- طبقه‌بندی ویروس‌ها براساس ژنوم [31]

طبقه‌بندی دوم توسط کمیته بین‌المللی رده‌بندی ویروس‌ها² ایجاد یک معیار شناخته شده بین‌المللی برای رده‌بندی ویروس‌ها را مدنظر قرار می‌دهد و نام‌هایی را برای گونه‌های ویروس به منظور برقراری ارتباط با جامعه ویروس‌شناسی تعریف می‌کند. سطوح طبقه‌بندی توافق شده شامل ترتیب، خانواده، جنس و گونه است.

تنوع ژنتیکی و اندازه جمعیت متراکم ویروس‌ها (بیش از 10^{31} ویروئید در بیوسفر) فشار گزینشی عظیمی بر ارگانیسم‌های سلولی ایجاد می‌کند [14][28][27]. ویروس‌ها عامل تعیین‌کننده انقلاب در ژنتیک مولکولی باکتری‌ها و زیست‌شناسی فاژ به سمت درک فرآیندهای بیولوژیکی مرکزی مانند همانندسازی، ترانس کریپتاز، و ترجمه هستند [26][30][29][27]. ویروس‌ها، انگل‌های کوچک، اجباری و درون سلولی هستند که حاوی ژنوم RNA یا DNA هستند که توسط پوشش پروتئینی محافظ کدگذاری شده با ویروس پوشانده شده‌اند [31]. تولیدمثل ویروس‌ها به مسیرهای پیچیده متابولیک و بیوسنتزی سلول‌های میزبان یوکاریوتی یا پروکاریوتی خاصی بستگی دارد. وظیفه اصلی ویروئید (ذره ویروس) وارد کردن ژنوم خود (DNA یا RNA) به سلول میزبان خاص و بیان ژنوم ویروسی توسط سلول میزبان است (رونویسی و ترجمه). ژنوم ویروئید، اغلب با پروتئین‌های مرتبط، درون یک کپسید پروتئینی متقارن بسته‌بندی شده است. نوکلئوپروتئین‌ها همراه با ژنوم ویروسی، نوکلئوکپسید را تشکیل می‌دهند. برخی از ویروس‌ها دارای پوشش هستند درحالی‌که برخی دیگر به صورت ویروس‌های بدون پوشش¹ باقی می‌مانند [32].

ویروس‌ها براساس شکل و اندازه، ترکیب شیمیایی، نحوه تکثیر و ساختار ژنومی به گروه‌هایی تقسیم می‌شوند. نوکلئوکپسیدهای حلزونی در بسیاری از ویروس‌های رشته‌ای و پلئومورفیک فراوان هستند. آنها از پروتومرها (آرایه مارپیچ از پروتئین‌های کپسید) تشکیل شده‌اند که در اطراف یک رشته مارپیچ ساخته شده از اسیدنوکلئیک قرار گرفته‌اند. نوکلئوکپسیدهای ایکوسادرال مشخصه بسیاری از ویروس‌های "گروی" هستند. تعداد کپسومرها و آرایش آنها در شناسایی و طبقه‌بندی ویروس مفید است. ژنوم ویروسی می‌تواند DNA یا RNA باشد و آرایش ژنومی می‌تواند دایره‌ای یا خطی باشد، به صورت: تک رشته‌ای یا دو رشته‌ای [31].

جدای از خصوصیات فیزیکی، ساختار ژنومی و نحوه تکثیر می‌تواند به عنوان معیاری برای طبقه‌بندی ویروس‌ها، یعنی ترکیب

2. ICTV

1. Naked Virus

آنتی ژن هیپاتیت A و B استفاده گسترده‌ای دارد. مزایای رادیوایمونواسی، عینیت و وضوح بالا است و می‌توان از آن برای آزمایش تعداد زیادی نمونه در یک زمان استفاده کرد. از سوی دیگر، رادیوایمونواسی‌ها که به انتشار تشعشعات گاما توسط یک واکنش‌دهنده ایمنی متصل به ایزوتوپ وابسته هستند، دارای معایب متعددی مانند ایزوتوپ‌های رادیواکتیو که دارای نرخ واپاشی ذاتی هستند و به این معنی است که معرف‌های برچسب‌دار رادیویی در طول زمان فعالیت خود را از دست می‌دهند. بنابراین، تکرار برچسب‌گذاری مجدد، آزمایش مجدد و استانداردسازی مجدد ضروری است. علاوه بر این، رادیوایمونواسی‌ها کاربر را در معرض خطر تابش بسیار قرار می‌دهند و تجهیزات گران‌قیمت برای اندازه‌گیری رادیوایمونواسی‌های محدودکننده تشعشع، به آزمایشگاه‌های اساسی نیاز دارد [44].

بنابراین، علاقه زیادی به توسعه سیستم‌های سنجشی وجود دارد که مزایای رادیوایمونواسی را حفظ کرده و از مشکلات ذاتی آن اجتناب می‌کند. ایمونواسی آنزیم / سنجش ایمونوسوربنت مرتبط با آنزیم (الایزا) نزدیک‌ترین روش برای دستیابی به این هدف است. در الایزا از آنزیمی به‌عنوان نشانگر ایمونوگلوبولین استفاده می‌شود که جایگزین ایزوتوپ رادیواکتیو در رادیوایمونواسی می‌شود. مقدار بسیار کمی از ایمونوگلوبولین نشاندار شده با آنزیم می‌تواند با یک زیرلایه واکنش نشان دهد و یک واکنش رنگی آشکار ایجاد کند. بنابراین، تجهیزات تشخیصی گران‌قیمت مورد نیاز نیست. ترکیب آنزیم - آنتی‌بادی را می‌توان از قبل آماده کرد و آن ترکیب‌ها با زمان ذخیره‌سازی طولانی، از دست‌دادن فعالیت ناچیز دارند که نیاز به برچسب‌زدن مجدد ثابت و آزمایش مجدد معرف‌ها را برطرف می‌کند [46][45][38].

الایزا آنتی‌ژن یا آنتی‌بادی را اندازه‌گیری می‌کند. برای تشخیص یک عامل عفونی، برچسب‌گذاری آنتی‌بادی معمولاً راحت‌تر از برچسب‌گذاری آنتی‌ژن است، زیرا دومی ممکن است به شکل خالص در دسترس نباشد. ساندریج الایزا معمولاً برای تشخیص آنتی‌ژن در مایعات بدنی استفاده می‌شود. به‌منظور شناسایی آنتی‌ژن مورد نظر، از یک آنتی‌بادی خاص برای جذب آن استفاده می‌شود. آنتی‌بادی تسخیر شده به یک فاز جامد پوشاننده می‌شود بعد از یک دوره نهنفتگی

2- تکنیک‌های مورد استفاده در تشخیص بیماری‌های ویروسی

در دهه‌های گذشته، تشخیص بیماری‌های عفونی عمدتاً توسط کشت نمونه‌های بیولوژیکی به‌دست‌آمده از افراد مبتلا به‌دست می‌آمد. اگرچه روش‌های کشت مؤثر، تشخیص قابل اعتماد پاتوژن‌های مختلف باکتریایی، ویروسی و قارچی را تسهیل کرده‌اند، اما برای برخی بیماری‌های عفونی، تکنیک‌های کشت مرسوم در تشخیص عامل ایجاد، ناکام مانده‌اند. به‌عنوان مثال، درحالی‌که با روش‌های اپیدمیولوژیک مشخص شد که هیپاتیت از راه‌های مختلف منتقل می‌شود، کشت نمونه‌های افراد مبتلا نتوانست عامل ایجادکننده آن را کشف کند [37][36][35]. به‌طور مشابه، استفاده از تکنیک‌های مبتنی بر کشت برای گاستروانتریت ناشی از عوامل عفونی غیرباکتریایی در نوزادان و کودکان خردسال بی‌ثمر بود [39][38]. علاوه بر این، روش‌های کشت معمولاً قبل از تشخیص، به یک دوره زمانی قابل توجهی از انکوباسیون نیاز دارند. در مورد بسیاری از عوامل ویروسی، تشخیص براساس کشت عامل ایجادکننده است، با این حال، نمی‌توان آن را به سرعت در درمان یک بیماری حاد مورد استفاده قرار داد [40].

به‌دلیل این معایب، توسعه روش‌های تشخیص عوامل عفونی بدون کشت ضروری است. در برخی شرایط، میکروسکوپ الکترونی ایمنی روشی برای تشخیص عوامل ویروسی است [41]. دو عامل ایجادکننده هیپاتیت در انسان یعنی هیپاتیت A و B و عوامل ایجادکننده اسهال، به‌عنوان مثال، روتاویروس و نوراک ویروس بودند که برای اولین بار با استفاده از میکروسکوپ الکترونی شناسایی و برای توصیف اپیدمیولوژی اصلی این عوامل ایجادکننده استفاده شد [43][38][42]. اگرچه میکروسکوپ الکترونی نقش مهمی در درک ویروس‌ها ایفا می‌کند، نیاز به فناوری پیچیده به‌عاملی محدودکننده برای کاربرد عمومی این تکنیک تبدیل شده است. بنابراین، نیاز فوری برای توسعه روش‌های بهتر برای تشخیص آنتی‌ژن‌های غیرقابل کشت وجود دارد. هرچند تکنیک‌های متعددی توسعه یافته‌اند، رادیوایمونواسی¹ روشی است که برای تشخیص

1. RIA

مناسب، آنتی‌بادی‌های غیرمتصل شسته شده و نمونه آزمایش اضافه می‌شود. پس از انکوباسیون، نمونه اضافی شستشو داده می‌شود و مقدار کمی از آنتی‌بادی نشاندار شده با آنزیم به آن اضافه می‌شود. این به آنتی‌ژن‌هایی متصل می‌شود که به آنتی‌بادی جذب واقع در فاز جامد متصل هستند. به دنبال مرحله شستشو، زیرلایه خاص به آنزیم اضافه می‌شود. آنزیم، زیرلایه را به شکل قابل مشاهده تبدیل می‌کند یا می‌توان به روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شود. این رویکرد دارای مزیت استفاده از تنها یک آنتی‌بادی است [47][45]. اشکال سیستم الایزا این است که برای افزایش حساسیت، به دوره‌های نهفتگی طولانی‌تری نیاز دارد [40].

معمولاً از آزمایش‌های مرسوم برای تشخیص ویروس مانند سنجش ایمنوسوربنت متصل به آنزیم جذب آنتی‌ژن (الایزا)، سنجش تک‌لایه‌های پراکسیداز ایمنی¹ و سنجش فلورسنت ایمنی² استفاده می‌شود، اما این روش‌ها اغلب پرزحمت، وقت‌گیر و حساسیت کمتری دارند [50][49][48]. اخیراً واکنش زنجیره‌ای پلیمرز به‌عنوان واکنش حساس‌تر، سریع‌تر و خاص‌تر برای تشخیص ویروس شناسایی شده است [52][51]. هنگامی که علائم بالینی مشابهی وجود دارد، تمایز مناسب عوامل بیماری‌زا برای تشخیص دقیق بیماری ضروری است. تقویت جداگانه هر هدف برای سنجش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز به‌طور اختصاصی مورد نیاز است و بنابراین منع فشرده و پرهزینه است. سنجش‌های مولتی‌پلکس واکنش زنجیره‌ای پلیمرز به‌کار گرفته شده در تشخیص بالینی به‌طور قابل توجهی سودمند هستند، زیرا چندین ویروس را می‌توان در یک مخلوط واکنش به‌طور همزمان تقویت کرد و تشخیص را مقرون به‌صرفه می‌سازد [53]. معمولاً سنجش‌های مولتی‌پلکس واکنش زنجیره‌ای پلیمرز هیبریداسیون پروب را پس از اتمام واکنش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز متمایز می‌کند. استفاده از سنجش‌های واکنش زنجیره‌ای پلیمرز زمان حقیقی برای شناسایی اختصاصی توالی هدف با استفاده از پروب‌های فلورسانس، ویژگی سنجش را بهبود

در مطالعه دیگری، نوتامی و همکاران روشی را برای تکثیر اسیدهای نوکلئیک به نام تقویت هم‌دمایی به واسطه حلقه³ معرفی کردند. چهار پرایمر شامل دو پرایمر بیرونی، دو پرایمر داخلی و دو پرایمر حلقه دیگر، حدود شش تا هشت ناحیه را در DNA هدف تشخیص می‌دهند که آزمایش را بسیار حساس می‌کند [57][56]. در دو دهه اخیر، روش تقویت هم‌دمایی به واسطه حلقه به‌عنوان یک رویکرد کارآمد، سریع و مقرون به صرفه رایج شده است که می‌تواند برای شناسایی عفونت‌های ویروسی مختلف و تشخیص عوامل ایجاد کننده استفاده شود [55].

یافته‌های را تکلیف و همکاران نشان داد که تنوع سویه ناشناخته در واکنش زنجیره‌ای پلیمرز شناسایی نشده باقی‌مانده است. برای ویروس‌هایی که دارای تنوع توالی بالایی در بین سویه‌ها هستند، طراحی پرایمر و پروب نیاز به بررسی مداوم در توالی‌های جدید منتشر شده دارد. عدم تطابق بسیار کمی به‌عنوان یک یا دو عانل در یک پرایمر، راندمان تقویت را کاهش می‌دهد، درحالی‌که یک پروب فلورسنت، قدرت سیگنال فلورسانس را کاهش می‌دهد یا حذف می‌کند. برخی از پروب‌ها در برابر عدم تطابق در تنوع توالی سویه ویروسی بسیار آسیب‌پذیر هستند. بنابراین، همیشه امکان دارد یک نتیجه منفی کاذب تنوع سویه را تحت فشار قرار دهد.

1 IPMA

2. IFA

3. LAMP

واکسن‌های مبتنی بر ویروس معمولاً به ویروس‌های نشأت‌گرفته از بیمار نیاز دارند، درحالی‌که سایر دسته‌ها می‌توانند از توالی‌های ژنومی ویروسی برای تسریع توسعه واکسن ضدویروسی استفاده کنند [61].

اگرچه ایمن‌سازی افراد در برابر پاتوژن‌های ویروسی با واکسن‌های پیشگیرانه مؤثرترین روش است، اما برای اکثر ویروس‌ها چنین واکسن‌هایی در دسترس نیستند. بنابراین، داروهای ضدویروسی که می‌توانند از تکثیر ویروس درون میزبان مبتلا جلوگیری کنند، در مبارزه با عفونت‌های ویروسی مهم هستند. این داروها باید بدون تداخل با فرآیندهای سلولی، اثر مهارتی قوی و خاصی را بر روی تکثیر ویروس القا کنند [62]. زامینیک و استفسون مهارت خاص توالی از تکثیر ویروس توسط الیگونوکلوئوتیدهای DNA آنتی‌سنس را بیان کردند [63]. با این حال، درمان‌های ضدویروسی مبتنی بر آنتی‌سنس به دلیل مشکلات مرتبط با سمیت الیگونوکلوئوتیدها، ناپایداری آنها در سرم و تحویل مشکل‌ساز به سلول‌های هدف مناسب، تقریباً منحل شده‌اند. بنابراین، نسل جدیدی از ترکیبات ضدویروسی مبتنی بر اسیدنوکلیک مانند ریپوزیم‌ها، DNA و RNAs گسترش یافته‌اند اما نتوانستند بر مشکلات قبلی غلبه کنند. این اشکالات را می‌توان با استفاده از اسیدهای نوکلئیک اصلاح‌شده شیمیایی به‌جای استفاده از الیگونوکلوئوتیدهای طبیعی DNA/RNA برطرف کرد [62].

تعداد 37 داروی ضدویروسی دارای مجوز براساس آرمنتاریوم فعلی، برای شیمی‌درمانی عفونت‌های ویروسی وجود دارد [64]. 19 ترکیب به‌طور رسمی برای درمان عفونت‌های ویروس نقص ایمنی انسانی تأیید شده است. آنها عبارتند از (i) مهارکننده‌های ترانس کریپتاز معکوس نوکلئوزیدی¹، (ب) مهارکننده‌های ترانس کریپتاز معکوس نوکلئوتیدی²، (iii) مهارکننده‌های ترانس کریپتاز معکوس غیرنوکلئوزیدی³، (iv) مهارکننده‌های پروتاز، و (v) مهارکننده‌های ورود ویروسی. برای مدیریت عفونت‌های مزمن هپاتیت B، لامیوودین، آدفوویر و دیپوکسیل تأیید شده‌اند. آسیکلوویر، والاسیکلوویر، پنسیکلوویر، فامسیکلوویر، ایدوکسوریدین، تری‌فلوریدین، و بریودین

علاوه‌براین، پروتکل‌های ذخیره‌سازی معرف ضعیف که در آن معرف‌های مربوطه در معرض انجماد - ذوب مکرر قرار می‌گیرند، به سرعت قدرت آنزیم و حساسیت سنجش را کاهش می‌دهند و منجر به نتیجه منفی کاذب می‌شوند. علاوه‌براین، RNA به دلیل حضور همه‌جانبه RNase‌ها شکننده است و به سرعت تجزیه می‌شود. در نتیجه، نمونه‌های بالینی مهم باید با روش‌های جایگزین تجزیه و تحلیل شوند [58].

ویژگی‌هایی مانند اندازه کوچک، بیولوژی ساده و انگل‌های درون سلولی اجباری به‌عنوان چالش‌هایی در تشخیص ویروس ظاهر می‌شوند. با توجه به محدودیت در دسترس بودن گزینه‌های درمانی، تشخیص سریع و به موقع عفونت‌های ویروسی ضروری است، با این حال، اکثر روش‌های موجود درحال حاضر زمان‌بر، نیازمند کاریدی و اغلب گران هستند. در این راستا می‌توان از مواد در مقیاس نانو برای افزایش سرعت، محدودیت تشخیص، دقت، و همچنین به حداقل رساندن هزینه‌های موجود، از روش‌های تشخیص ویروس استفاده کرد [59].

3- استراتژی‌های درمان ضدویروسی

توسعه واکسن‌های ضدویروسی، دو نقطه عطف تاریخی را نشان می‌دهد. بزرگترین پیشرفت، کشف واکسن آبله با استفاده از ویروس آبله گاوی توسط ادوارد جنر بود، و دیگری تضعیف ویروس عفونی با عبور سریال به میزبان جدید که منجر به کشف واکسن هاری لویی پاستور شد [60].

موفقیت واکسیناسیون یا ایمن‌سازی در برابر بیماری‌های ویروسی بستگی به القای یک پاسخ ایمنی کافی و مناسب نسبت به آنتی‌ژن‌های ویروسی محافظ دارد. کارایی واکسن برحسب مقدار آنتی‌بادی‌های القا شده و قدرت آنها، زمان مورد نیاز برای تولید آنتی‌بادی، پتانسیل یادآوری، و ظرفیت آنتی‌بادی‌ها برای تأثیرگذاری بر مراحل کلیدی در پاتوژن ویروس، ارزیابی می‌شود [60].

پس از شناسایی یک ویروس بیماری‌زا، انواع مختلفی از واکسن‌ها را می‌توان ایجاد کرد که شامل ویروس، ناقل ویروسی، اسید نوکلئیک، پروتئین / پپتید یا واکسن‌های مبتنی بر سلول است.

1 NRTIs

2 NtRTI

3 NNRTIs

سیستم‌های حامل جدیدی که قادر به عبور از این غشاها هستند، ابزارهای امیدوارکننده‌ای در درمان ضدویروسی خواهند بود [68].

لویس و همکاران بیان کردند که درمان ترکیبی ضدرتروویروسی بسیار فعال که مبتنی بر مهارکننده‌های نوکلئوزیدی ترانس کریپتاز معکوس است، درمان‌های ایدز را در سال‌های اخیر تغییر شکل داده است. درمان ترکیبی ضدرتروویروسی بسیار فعال می‌تواند با موفقیت تکثیر ویروس را در دراز مدت سرکوب کند، اما سمیت قابل توجهی دارد که می‌تواند به‌طور جدی بر اثربخشی درمان تأثیر بگذارد. سمیت میتوکندریایی مرتبط با مهارکننده‌های ترانس کریپتاز معکوس نوکلئوزیدی سمیت عمده‌ای دارند که باعث عوارض جانبی جدی مانند اسیدوز لاکتیک و نارسایی کبدی می‌شود. با این حال، درک ناکافی از مکانیسم‌های زیربنایی سمیت میتوکندری، تلاش‌ها برای کشف داروهای ضد ویروسی جدید با نمایه‌های عوارض جانبی بهتر را مختل کرده است [69].

عفونت ویروس هرپس سیمپلکس با استفاده از داروهای ضدویروسی مانند آسیکلوویر⁵ درمان می‌شود. مورفین و تاونوت مقاومت در برابر آسیکلوویر را در بین بیماران دچار نقص ایمنی و بیماران پیوند مغز استخوان آلونژیک گزارش کردند. براساس این یافته‌ها، جهش‌های خاصی مرتبط با ژنوم ویروسی مسئول مقاومت ویروس آسیکلوویر هستند و بنابراین برخی از سویه‌های ویروس هرپس سیمپلکس به ویروس آسیکلوویر مقاوم هستند. در نتیجه، این به‌عنوان یک اشکال داروهای ضدویروسی در مدیریت عفونت‌های ویروسی ظاهر می‌شود [70].

با توجه به اشکالات فوق‌الذکر ناشی از استراتژی‌های درمان فعلی، ضرورت کشف رویکردهای درمانی جدید برای مبارزه با عفونت‌های ویروسی وجود دارد. بنابراین، استفاده از فناوری نانو در درمان ضدویروسی می‌تواند جایگزینی نوآورانه برای رفع شکست‌های تکنیک‌های مرسوم باشد.

برای درمان ویروس هرپس سیمپلکس¹ و عفونت‌های ویروس واریسلا - زوستر استفاده می‌شود. ثابت شده است که گانسیکلوویر، فوسکارنت، والگانسیکلوویر، فومی ورسن و سیدوفوویر در درمان عفونت‌های سیتومگالوویروس در بیماران دچار نقص ایمنی (بیماران ایدز مبتلا به تینیت CMV) مؤثر هستند. آمانتادین و ریمانتادین، مهارکننده‌های نورآمینید مانند زانامیویر و اوسلتامیویر برای درمان و پیشگیری از عفونت‌های آنفلوآنزا در دسترس هستند. ریباویرین در مدیریت عفونت‌های ویروس سنسیشیال تنفسی² استفاده می‌شود در حالی که ترکیب ریباویرین با اینترفرون α پگیله‌شده به‌عنوان درمان عفونت‌های ویروس هپاتیت C³ پذیرفته شده است [64].

درمان ترکیبی ضدرتروویروسی بسیار فعال⁴ مسئول کاهش تدریجی موارد مرگ و میر ناشی از ایدز از سال 1996 بوده است و به‌طور قابل توجهی نمایه بالینی ویروس نقص ایمنی انسانی را از یک بیماری کشنده حاد به یک بیماری مزمن سرپایی تغییر داده است. درمان ترکیبی ضدرتروویروسی بسیار فعال شامل استحکام دوگانه نوکلئوزیدی و یک مهارکننده ترانس کریپتاز معکوس غیرنوکلئوزیدی یا PI/r (ریتوناویر؛ مهارکننده پروتئاز افزایش یافته دارویی) است. ترکیبات سه‌گانه مهارکننده ترانس کریپتاز معکوس نوکلئوزیدی کم‌تر از ترکیبات 2NRTIs/PI/r و 2NRTIs/NNRTI مؤثر هستند [65].

کاربرد بالینی استراتژی‌های درمانی امروزی با چندین اشکال همراه است. به‌عنوان مثال، ایجاد مخازن ویروسی (جایی که تکثیر مدام ویروسی انجام می‌شود و برای روش‌های دارورسانی در دسترسی نیست) را می‌توان در سیستم عصبی مرکزی با وجود درمان سرکوب‌کننده بر علیه رتروویروسی مشاهده کرد [66]. به‌طور مشابه، مسائل مربوط به استفاده از تداخل RNA (RNAi) مانند عدم توانایی RNA در عبور از غشای سلولی به دلیل اندازه و بار آنیونی آن و همچنین سمیت وجود دارد [67]. با توجه به این موارد،

1. HSV

2. RSV

3. HCV

4. HAART

5. ACV

به‌ویژه زمانی که غلظت آنالیت عفونی در سطح پایینی باشد [71]. برخی از مواردی که از نانومواد در تشخیص ویروس‌ها استفاده می‌شود در زیر خلاصه شده‌اند.

1. نانوذرات طلا (AuNPs)

در حال حاضر کیت‌های الایزای جذب ایمونوگلوبولین M^2 بسیار حساس برای تشخیص سریع ژنوم RNA تک‌رشته‌ای با سوی مثبت حاوی ویروس آنسفالیت ژاپنی³ در دسترس هستند. با این حال، توانایی کم در تمایز بین آنسفالیت ژاپنی و دنگی یکی از نگرانی‌های اصلی با توجه به سنجش‌های مبتنی بر کیت الایزا با جذب ایمونوگلوبولین M است. در نتیجه، تکنیک‌هایی مانند واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ترانس کرایپتاز معکوس مرسوم⁴ و سنجش‌های مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ترانس کرایپتاز معکوس زمان حقیقی برای تشخیص ژنوم ویروس آنسفالیت ژاپنی استفاده شده‌اند. هوانگ و همکاران اثر نانوذرات طلا بر روی واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ترانس کرایپتاز معکوس و سنجش کمی واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ترانس کرایپتاز معکوس زمان حقیقی در تشخیص ویروس آنسفالیت ژاپنی را ارزیابی کردند. جالب توجه است که بازده تقویت محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در حضور نانوذرات طلا افزایش می‌یابد در حالی که زمان واکنش زنجیره‌ای پلیمرز را کوتاه می‌کند. محصول مورد انتظار (قطعه تقویت شده bp 306) پس از 35 چرخه تقویت در غیاب نانوذرات طلا تولید می‌شود در حالی که این قطعه پس از 25 چرخه در حضور نانوذرات طلا در غلظت 1/6 نانومولار و 3/2 نانومولار شناسایی شد. با این حال، برهم‌کنش هم‌گلوبین با نانوذره طلا و حضور مهارکننده‌های واکنش زنجیره‌ای پلیمرز مانند لاکتوفیرین و ایمونوگلوبولین G⁵ منجر به کاهش عملکرد واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ترانس کرایپتاز زمان حقیقی در سنجش‌های مبتنی بر خون در مقایسه با سنجش‌های تشخیص مبتنی بر محیط کشت می‌شود. بنابراین 1/6 نانومولار نانوذره طلا به‌عنوان غلظت بهینه در یک سنجش تشخیصی مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ترانس کرایپتاز معکوس خون زمان حقیقی شناسایی شد

2. IgM

3. JEV

4. RT-PCR

5. IgG

- تشخیص ویروس‌ها با استفاده از نانومواد

اگرچه چندین روش سنتی با حساسیت بالا و تکرارپذیری بالا در شناسایی پاتوژن‌ها استفاده می‌شود، برخی از معایب مانند نیاز به ابزار پیچیده و بسیار گران‌قیمت، افراد آموزش‌دیده، هزینه بالا و زمان طولانی‌تر، توسعه تکنیک‌های جدید را در تشخیص عوامل بیماری‌زا ضروری می‌کند. در نتیجه، تکنیک‌های آشکارسازی مدرن حساس، سریع و اقتصادی با استفاده از نانومواد توسعه یافته‌اند. از نانومواد به دلیل ویژگی‌های منحصربه‌فردشان مانند خواص مغناطیسی، الکتریکی و کاتالیزوری، در آن تکنیک‌ها استفاده می‌شود [71]. معمولاً تشخیص شامل گیرنده‌های زیستی و مبدل‌ها می‌شود. گیرنده زیستی یک مولکول بیولوژیکی مانند یک آنزیم، پروتئین، آنتی‌بادی یا یک سیستم بیولوژیکی مانند بافت، سلول یا یک ارگانیسم کامل است که می‌تواند به‌طور خاص به پاتوژن متصل شود. از این‌رو معمولاً روی یک محیط پشتیبان مناسب تثبیت می‌شود و برهم‌کنش خاص بین گیرنده زیستی و پاتوژن منجر به تغییر در خواص فیزیکی - شیمیایی می‌شود. این تغییر توسط مبدل شناسایی و اندازه‌گیری می‌شود. دندریمرها، لیپوزوم‌ها، نانولوله‌های کربنی و نانوذرات نمونه‌هایی از گیرنده‌های زیستی هستند. انتقال را می‌توان با حالت‌هایی مانند (i) نوری (به‌عنوان مثال تشخیص مبتنی بر فلورسانس، نور مولکولی¹، تشخیص ضریب شکست، حسگر زیستی مبتنی بر تشدید پلاسمون سطحی)، (ii) مغناطیسی (مانند تکنیک μ NMR، حسگرهای میدان مغناطیسی مبتنی بر دستگاه تداخل سنج کوانتومی ابررسانایی، حسگرهای زیستی مبتنی بر مقاومت مغناطیسی)، (iii) الکتروشیمیایی (به‌عنوان مثال ولتامتری نواری آندی، حسگرهای آمپرومتریک، حسگرهای پتانسیومتریکی، حسگرهای هدایت‌سنجی، طیف‌سنجی امپدانس الکتروشیمیایی)، یا (iv) میکروگراویمتری (موج توده‌ای یا کوارتز کریستال سطحی، دستگاه‌های موجی آکوستیک سطحی، حسگرهای مگنتوالاستیک). با توجه به حساسیت ویژه، این تشخیص‌های مبتنی بر نانو ممکن است نقش مهمی را ایفا کنند،

1. Beacons

قرمز شدیدی را نشان می‌دهند. پس از تجمع نانوذرات طلا، رنگ آبی ظاهر می‌شود. در این آزمایش، RNA استخراج شده از نمونه‌های سرم داوطلبان سالم و بیماران ویروس هپاتیت C مزمن با بافر هیپریداسیون و یک پرایمر خاص که RNA ویروس هپاتیت C را هدف قرار می‌دهد، مخلوط شد. مخلوط واکنش دناتوره شد، آنیل شد و پس از آن به مدت 10 دقیقه قبل از افزودن نانوذرات طلا تا دمای اتاق خنک شد. یک تغییر رنگ از قرمز به آبی در نمونه‌های ویروس هپاتیت C مثبت در عرض یک دقیقه مشاهده شد در حالی که نمونه‌های ویروس هپاتیت C منفی رنگ قرمز اصلی را حفظ کردند (شکل 2). در غیاب ویروس هپاتیت C، پرایمرها آزادند تا نانوذرات طلا را تثبیت کنند، از این رو، بر روی نانوذرات طلا جذب می‌شوند و از تجمع جلوگیری می‌کنند. در نتیجه رنگ قرمز اصلی، باقی می‌ماند. مشخص شد که این سنجش با زمان چرخش کوتاه و مقرون به صرفه بسیار حساس است [73].

ویروس نقص ایمنی انسانی نوع 1 یک ویروس تک‌رشته‌ای، با سوبه مثبت و ویروس RNA پوششی است که مسئول گسترش سندرم نقص ایمنی اکتسابی (ایدز) است. تشخیص ایدز با تشخیص ویروس نقص ایمنی انسانی نوع 1 RNA، آنتی‌ژن کپسید (p24) و آنتی بادی ضد ویروس نقص ایمنی انسانی به دست می‌آید. تانگ و هیولت امکان استفاده از سنجش تقویت بارکد زیستی² مبتنی بر نانوذرات طلا را برای افزایش حساسیت تشخیص آنتی‌ژن ویروس نقص ایمنی انسانی نوع 1 p24 بررسی کردند. جالب توجه است، سنجش ویروس نقص ایمنی انسانی نوع p241 تقویت بارکد زیستی حد تشخیص رنگ‌سنجی سنتی الایزا را 100 تا 150 برابر افزایش داده است. مزیت دیگر این سنجش تقویت بارکد زیستی، مدت زمان نسبتاً کوتاه‌تر مورد نیاز برای به دست آوردن نتایج در مقایسه با سنجش الایزا معمولی بود. با انگیزه این مشاهدات، محققان روش سنجش تقویت بارکد زیستی را با روش ایمونواسی مبتنی بر نانوذره یوروپیم³ (Eu⁺) اصلاح کردند که در آن نانوذرات Eu⁺ جایگزین نانوذرات طلا در سنجش تقویت بارکد زیستی شده بودند. این منجر به افزایش بیشتر حساسیت و کاهش زمان انکوباسیون شده است [74].

(Huang et al. 2008)[72]. افزایش راندمان واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ترانس کرایپتاز معکوس و واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ترانس کرایپتاز معکوس زمان حقیقی در حضور نانوذره طلا را می‌توان به راندمان حرارتی و هدایت حرارتی بالای نانوذرات طلا مرتبط دانست. پس از معلق شدن در آب، نانوذرات طلا توانایی ایجاد تعادل حرارتی با محیط مایع را در مدت زمان بسیار کوتاهی مانند 200-10 پیکوثانیه دارند. علاوه بر این، برهم‌کنش انتخابی نانوذره طلا با DNA تک رشته‌ای ممکن است جفت‌شدگی نادرست¹ بین الگو و پرایمرها را کاهش دهد و ویژگی و مقدار محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمرز را افزایش دهد. بنابراین، هوانگ و همکاران به این نتیجه رسیدند که واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ترانس کرایپتاز معکوس مبتنی بر نانو طلا و سنجش کمی واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ترانس کرایپتاز معکوس زمان حقیقی به عنوان ابزارهای تشخیصی اولیه ساده، حساس و سریع برای تشخیص و کمی‌سازی ویروس آنسفالیات ژاپنی در نمونه‌های کشت بافت و نمونه‌های بالینی هستند [72].

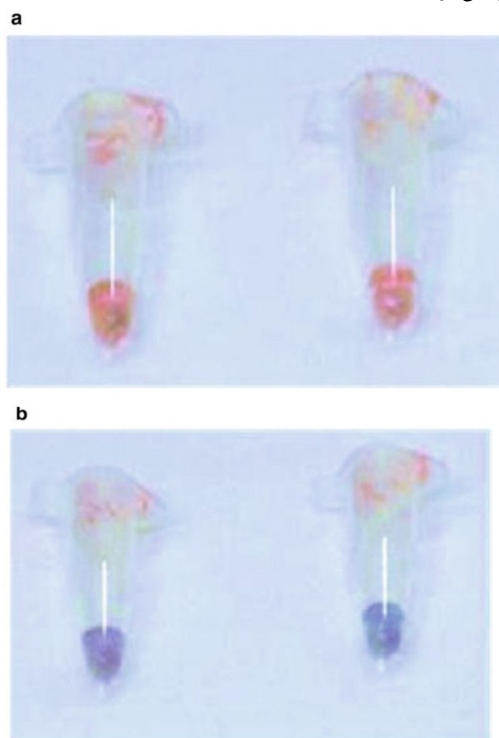
شاوکی و همکاران از نانوذره طلا اصلاح‌نشده برای تشخیص ویروس هپاتیت C که یک ویروس RNA تک‌رشته‌ای با سوبه مثبت است، استفاده کرد. به طور معمول از روش‌های ایمنی مرتبط با آنزیم و سنجش بلات ایمنی نو ترکیب برای شناسایی آنتی‌بادی‌های ضد ویروس هپاتیت C استفاده می‌شود در حالی که واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ترانس کرایپتاز معکوس مرسوم در تشخیص کیفی RNA ویروس هپاتیت C استفاده می‌شود. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ترانس کرایپتاز معکوس زمان حقیقی و / یا سنجش مبتنی بر DNA شاخه‌دار در تشخیص کمی استفاده می‌شود. اگرچه ویژگی و حساسیت بالا را می‌توان با این روش‌ها مشاهده کرد، ویژگی‌هایی مانند زمان و شدت کار، هزینه بالا و نیاز به تجهیزات تخصصی، روش‌های تشخیص مرسوم فوق را محدود می‌کند. روش توسعه‌یافته توسط شاوکی و همکاران، یک روش رنگ‌سنجی مبتنی بر نانوذرات طلا بود که تشخیص مستقیم RNA ویروس هپاتیت C تکثیر نشده استخراج شده از نمونه‌های بالینی را امکان‌پذیر کرد. معمولاً نانوذرات طلا به دلیل پدیده خاصی به نام رزونانس پلاسمون، رنگ

2. BCA

3 ENIA

1. Mispairing

ویروس SARS-CoV-2 جدید یک ویروس RNA تک رشته‌ای با سویه مثبت است که مسنول شیوع بیماری کروناویروس جدید (کووید 19) است. حسگر زیستی با ترکیب اثر فتوترمال پلاسمونیک³ و انتقال حسگر رزونانس پلاسمون سطحی موضعی ایجاد شد. تراشه پلاسمونیک با توزیع دوبعدی نانوجزیره⁴ طلای عامل‌دار شده (AuNIs) با گیرنده‌های DNA مکمل برای تشخیص توالی SARS-CoV-2 کاربردی شد. تراشه AuNIs قادر به تولید گرمای محلی فتوترمال پلاسمونیک پس از روشن شدن در فرکانس تشدید پلاسمونیک و انتقال هیبریداسیون درجا برای تشخیص بسیار حساس و دقیق ویروس بود [78].



شکل 2- روش سنجش رنگ‌سنجی RNA ویروس هپاتیت C با استفاده از نانوذرات طلا اصلاح نشده (عکس‌ها 1 دقیقه پس از افزودن نانوذره طلا گرفته شده‌اند). (a) نمونه‌های منفی RNA ویروس هپاتیت C، (b) نمونه‌های مثبت RNA ویروس هپاتیت C [73]

لی و همکاران از نانوذرات طلا تثبیت شده با اسید سیالیک¹ برای تشخیص ویروس آنفولانزا که یک ویروس RNA با سویه منفی است، استفاده کرد. پروتئین هم‌گلویتینین ویروسی معمولاً به گروه‌های اسیدسیالیک موجود در سطح سلول‌های اپیتلیال ریه متصل می‌شود. در این روش، مولکول‌های اسید سیالیک روی سطح نانوذرات طلا تثبیت شده با اسیدسیالیک با هم‌گلویتینین برهم‌کنش دارند که منجر به تغییر رنگ‌سنجی در محلول نانوذرات طلا تثبیت شده با اسیدسیالیک می‌شود. تجمع نانوذرات طلا تثبیت شده با اسیدسیالیک روی سطح ویروس منجر به افزایش جذب در طول موج 600-610 نانومتر در طیف جذبی شد که در شکل 3 نشان داده شده است [75].

به‌طور مشابه، لیو و همکاران، از نانوذرات طلا عامل‌دار برای تشخیص سریع و انتخابی ویروس آنفولانزای A استفاده کردند. در این رویکرد، آنتی‌بادی‌های مونوکلونال ضد هم‌گلویتینین خاص آنفولانزا (mAb) با نانوذرات طلا ترکیب شدند تا پروب‌های mAb-AuNP تولید کنند. این ویروس دارای مکان‌های شناسایی متعددی برای پروب‌های mAb-AuNP بر روی سطح خود است که باعث تجمع پروب‌های mAb-AuNP می‌شود. این منجر به یک شیفت قرمز در طیف جذب می‌شود که به جفت شدن پلاسمون بین نانوذرات طلا مجاور نسبت داده می‌شود. تغییر رنگ از قرمز به بنفش با چشم غیر مسلح مشاهده شد [76].

باسو و همکاران از شیفت رزونانس پلاسمون سطحی موضعی² که برای تشخیص سریع ویروس دنگی که یک ویروس RNA تک رشته‌ای مثبت است، استفاده کردند. در اینجا، اصلاح سطح نانوذرات طلا در ابتدا برای تولید ترکیب‌هایی از آنتی‌بادی نانوذره طلا انجام شد. این امر تشخیص هر چهار سروتیپ دنگی (DENV-1، -2، -3، -4) را با ویژگی و گزینش‌پذیری بالا امکان‌پذیر کرد (شکل 4). علاوه بر این، این رویکرد جدید به‌طور قابل توجهی مدت زمان آزمایش را در حدود 3 تا 1 روز برای تشخیص معمولی به کمتر از 5 دقیقه کاهش داده است [77].

اخیراً، کیو و همکاران، یک حسگر زیستی پلاسمونیک دوکاره برای تشخیص ویروس جدید SARS-CoV-2 معرفی کردند.

³ PPT

⁴ Nanoisland

¹ SA-AuNP

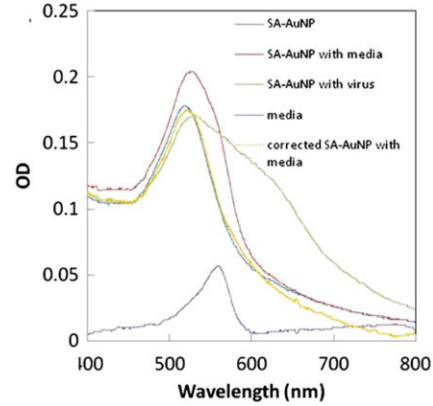
² LSPR

2. نانوذرات نقره (AgNPs)

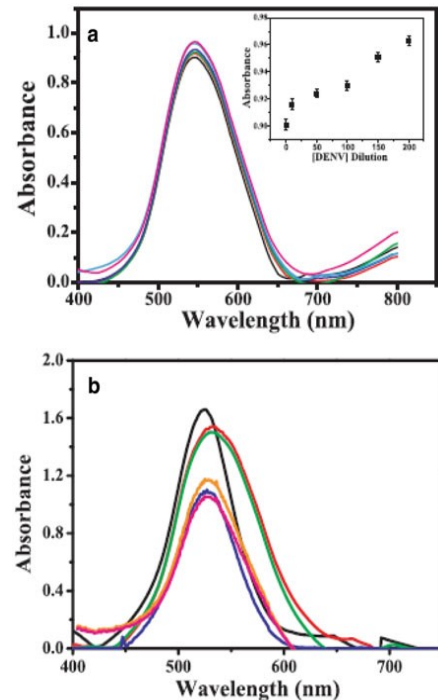
از نانوذرات نقره در تشخیص ویروس نیز استفاده می‌شود. به‌عنوان مثال، نقاط کوانتومی گرافن نانوذرات نقره - تیول (GQD-SH) به‌عنوان یک زیرلایه برای بارگذاری آنتی‌بادی برای شناسایی آنتی‌ژن هسته ویروس هپاتیت C مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این رویکرد، نانوذرات نقره روی گروه‌های SH از نقاط کوانتومی گرافن از طریق تشکیل پیوند Ag-S بی‌حرکت شدند. ضدویروس هپاتیت C (آنتی‌بادی) بر روی سطح الکتروکترود کربن شیشه‌ای از طریق برهم‌کنش بین گروه عاملی $-NH_2$ ضد ویروس هپاتیت C و نانوذرات نقره بارگذاری شد. ریبوفلاوین به‌عنوان یک پروب برای تشخیص ولتامتری پالس افتراقی آنتی‌ژن هسته ویروس هپاتیت C استفاده شد. تشخیص خاص بین آنتی‌بادی‌ها و آنتی‌ژن‌ها منجر به کاهش سیگنال الکتروشیمیایی شد. این روش ابزاری مؤثر برای تشخیص آنتی‌ژن‌های هسته ویروس هپاتیت C با کارایی و حساسیت بالا بود [79].

یک نانو برچسب رسانای بسیار حساس برای ایمونواسی الکتروشیمیایی نوع ساندویچ توسط هویانگ و همکاران با استفاده از نانوذرات نقره - گرافن (AgNPs-G) برای تشخیص ویروس آنفولانزای پرندگان H7 (AIV H7) توسعه داده شد. سنسجش با آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال H7 (PAb) که به سطح AgNPs-G متصل شده بودند، انجام شد. این حسگر زیستی الکتروشیمیایی نسبت به AIV H7 بسیار اختصاصی و حساس بود و امکان تشخیص سریع ویروس را فراهم می‌کرد [80].

تینگام و همکاران از نانوذرات نقره به‌عنوان یک معرف رنگ‌سنجی برای تشخیص DNA براساس تجمع نانوذرات ناشی از اسیدنوکلئیک پیرولیدینیل پپتید (acpcPNA) استفاده کردند. لیزین با بار مثبت در پایانه C پروب acpcPNA باعث تجمع آنیون سیترات نانوذرات نقره تثبیت شده در غیاب DNA مکمل شد. با این حال، در حضور DNA مکمل، یک DNA آنیونی-acpcPNA دوبلکس تشکیل شده است. در نتیجه، پراکندگی نانوذرات نقره باعث تغییر رنگ قابل مشاهده شده است. این روش برای تشخیص کروناویروس سندرم تنفسی خاورمیانه (MERS-CoV) که یک ویروس RNA با سویه مثبت و تک رشته‌ای



شکل 3- طیف جذبی محلول نانوذره طلا تحت شرایط مختلف [75]



شکل 4- تغییرات غلظت تجمعی DENV

(a) نمونه تجمعی DENV با تیتراژ 107 TCID₅₀/mL رقیق شده به 0.0 میکرولیتر PBS (خط سیاه)، 1/10 میکرولیتر PBS (خط قرمز)، 1/50 میکرولیتر PBS (خط سبز)، 1/100 میکرولیتر PBS (خط آبی)، 1/150 میکرولیتر PBS (خط صورتی) و 1/200 میکرولیتر PBS (خط بنفش). درج شکل منحنی کالیبراسیون شکل برای تجمعی DENV (b) طیف جذب فرابنفش-مرئی کنترل منفی است. نانوذرات طلا (خط سیاه)، MUA (خط قرمز)، EDC-NHS (خط سبز)، آنتی‌بادی (خط آبی)، ZIKV (خط نارنجی) و YFV (خط صورتی) [77].

آنتی‌بادی) بر روی سطح الکتروود کربن شیشه‌ای از طریق برهم‌کنش بین گروه عاملی -NH_2 ضد ویروس هپاتیت C و نانوذرات نقره بارگذاری شد. ریوفلاوین به‌عنوان یک پروب برای تشخیص ولتامتری پالس افتراقی آنتی‌ژن هسته ویروس هپاتیت C استفاده شد. تشخیص خاص بین آنتی‌بادی‌ها و آنتی‌ژن‌ها منجر به کاهش سیگنال الکتروشیمیایی شد. این روش ابزاری مؤثر برای تشخیص آنتی‌ژن‌های هسته ویروس هپاتیت C با کارایی و حساسیت بالا بود [79].

یک نانو برچسب رسانای بسیار حساس برای ایمونواسی الکتروشیمیایی نوع ساندویچ توسط هویانگ و همکاران با استفاده از نانوذرات نقره - گرافن (AgNPs-G) برای تشخیص ویروس آنفولانزای پرندگان H7 (AIV H7) توسعه داده شد. سنجش با آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال H7 (PABs) که به سطح AgNPs-G (PAB-AgNPs-G) متصل شده بودند، انجام شد. این حسگر زیستی الکتروشیمیایی نسبت به AIV H7 بسیار اختصاصی و حساس بود و امکان تشخیص سریع ویروس را فراهم می‌کرد [80].

تینگام و همکاران از نانوذرات نقره به‌عنوان یک معرف رنگ‌سنجی برای تشخیص DNA بر اساس تجمع نانوذرات ناشی از اسیدنوکلیک پیرولیدینیل پپتید (acpcPNA) استفاده کردند. لیزین با بار مثبت در پایانه C پروب acpcPNA باعث تجمع آنیون سیترات نانوذرات نقره تثبیت‌شده در غیاب DNA مکمل شد. با این‌حال، در حضور DNA مکمل، یک DNA آنیونی-acpcPNA دوبلکس تشکیل شده است. در نتیجه، پراکندگی نانوذرات نقره باعث تغییر رنگ قابل مشاهده شده است. این روش برای تشخیص کروناویروس سندرم تنفسی خاورمیانه (MERS-CoV) که یک ویروس RNA با سویه مثبت و تک‌رشته‌ای است و همچنین ویروس پاپیلوما‌ی انسانی³ که یک ویروس DNA دایره‌ای دو رشته‌ای است، استفاده شد. نتایج این مطالعه کاربرد آن را به‌عنوان یک ابزار تشخیصی جایگزین برای تشخیص ساده، سریع، حساس و انتخابی عوامل عفونی پیشنهاد کرد [81].

خواص الکتریکی نانولوله‌های کربنی تک‌جداره (SWCNTs) توسط لی و همکاران برای ایجاد یک روش ایمنی الکتریکی برای

است و همچنین ویروس پاپیلوما‌ی انسانی¹ که یک ویروس DNA دایره‌ای دو رشته‌ای است، استفاده شد. نتایج این مطالعه کاربرد آن را به‌عنوان یک ابزار تشخیصی جایگزین برای تشخیص ساده، سریع، حساس و انتخابی عوامل عفونی پیشنهاد کرد [81].

3. نانوذرات مس (CuNPs)

نانوذرات مس نیز نقش مهمی در تشخیص ویروس دارند. مائو و همکاران یک روش رنگ‌سنجی با استفاده از نانوخوشه‌های مس برای شناسایی ویروس هپاتیت B² که یک ویروس DNA دو رشته‌ای است، معرفی کردند [82].

ویروس سنسیشیال تنفسی یک ویروس RNA تک‌رشته‌ای با سویه منفی است که علائم سرماخوردگی را در بزرگسالان و کودکان ایجاد می‌کند. والدز و همکاران شیفت رزونانس پلاسمون سطحی موضعی را به‌عنوان یک روش تشخیص ویروس سنسیشیال تنفسی با استفاده از آنتی‌بادی پلی‌کلونال ضد ویروس سنسیشیال تنفسی که به نانوذرات فلزی ترکیب شده است، ارزیابی کردند. مس، نقره و طلا (شکل 4-5). نتایج نشان داد که نانوذرات مس عامل‌دار برای تشخیص ویروس سنسیشیال تنفسی در مقایسه با نانوذرات نقره و طلا کارآمدتر و اختصاصی‌تر هستند. علاوه‌براین، این مطالعه نشان داد که رزونانس پلاسمون سطحی موضعی یک روش جایگزین ساده، ارزان و سریع برای توسعه دستگاه‌های تشخیص جدید برای ویروس سنسیشیال تنفسی است [83].

4. نانولوله‌های کربنی (CNT)

از نانوذرات نقره در تشخیص ویروس نیز استفاده می‌شود. به‌عنوان مثال، نقاط کوانتومی گرافن نانوذرات نقره - تیول (GQD-SH) به‌عنوان یک زیرلایه برای بارگذاری آنتی‌بادی برای شناسایی آنتی‌ژن هسته ویروس هپاتیت C مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این رویکرد، نانوذرات نقره روی گروه‌های SH از نقاط کوانتومی گرافن از طریق تشکیل پیوند Ag-S بی‌حرکت شدند. ضد ویروس هپاتیت C

1. HPV

2. HBV

3. HPV

ایمنی انسانی p-24 را شناسایی می‌کند و محدوده تشخیص خطی گسترده‌تر، تکرارپذیرتر، تولیدپذیرتر و پایدارتر را نشان می‌دهد [86].

5. نانوذرات مس (CuNPs)

نانوذرات مس نیز نقش مهمی در تشخیص ویروس دارند. مانو و همکاران یک روش رنگ‌سنجی با استفاده از نانوخوشه‌های مس برای شناسایی ویروس هپاتیت B¹ که یک ویروس DNA دو رشته‌ای است، معرفی کردند [82].

ویروس سنسایشیال تنفسی یک ویروس RNA تک‌رشته‌ای با سوبه منفی است که علائم سرماخوردگی را در بزرگسالان و کودکان ایجاد می‌کند. والدز و همکاران شیفت رزونانس پلاسمون سطحی موضعی را به‌عنوان یک روش تشخیص ویروس سنسایشیال تنفسی با استفاده از آنتی‌بادی پلی‌کلونال ضدویروس سنسایشیال تنفسی که به نانوذرات فلزی ترکیب شده است، ارزیابی کردند. مس، نقره و طلا (شکل 5). نتایج نشان داد که نانوذرات مس عامل‌دار برای تشخیص ویروس سنسایشیال تنفسی در مقایسه با نانوذرات نقره و طلا کارآمدتر و اختصاصی‌تر هستند. علاوه‌براین، این مطالعه نشان داد که رزونانس پلاسمون سطحی موضعی یک روش جایگزین ساده، ارزان و سریع برای توسعه دستگاه‌های تشخیص جدید برای ویروس سنسایشیال تنفسی است [83].

تشخیص ویروس آنفولانزای خوکی H1N1 (SIV) مورد استفاده قرار گرفت. آنتی‌بادی ضدویروس آنفولانزای خوکی بر روی سطح نانولوله‌های کربنی تک‌جداره با استفاده از پلی‌ال - لیزین بی‌حرکت شد. ایمونوبیدینگ ویروس آنفولانزای خوکی بر روی سطح حسگر منجر به تغییر در مقاومت لایه نازک نانولوله‌های کربنی تک‌جداره شد. با افزایش غلظت ویروس آنفولانزای خوکی، مقدار بیشتری از ویروس آنفولانزای خوکی آن روی سطح جذب شد و مقاومت فیلم نانولوله‌های کربنی تک‌جداره افزایش یافت. این تکنیک به‌عنوان یک استراتژی ارزان و فوق‌حساس برای تشخیص نقطه مراقبت شناسایی شد [84].

دیاس و همکاران نشان دادند که الکترودهای چاپ‌شده با صفحه نانولوله کربنی (CNTSPE) را می‌توان برای غربالگری اولیه بیماران مبتلا به ویروس دنگی استفاده کرد. یک الکتروده برای تشخیص انتخابی غیرساختاری نوع 1 در این مطالعه توسعه داده شد. ابتدا، نانولوله‌های کربنی کربوکسیله شدند و در جوهر کربنی پراکنده شدند تا یک الکتروده کار چاپ‌شده روی صفحه ایجاد شود. یک فیلم نازک از اتیلن دی‌آمین بر روی الکتروده قرار داده شد تا تثبیت آنتی‌بادی‌های ضدغیرساختاری نوع 1 را تسهیل کند. پاسخ‌های الکتروشیمیایی به‌دلیل عمل H_2O_2 با پراکسیداز ترکیب با ضدغیرساختاری نوع 1 ایجاد شد. این روش ارزان‌تر و عملی‌تر از RT-PCR و الایزا بود، بنابراین برای استفاده در یک وضعیت اپیدمی نویدبخش است [85].

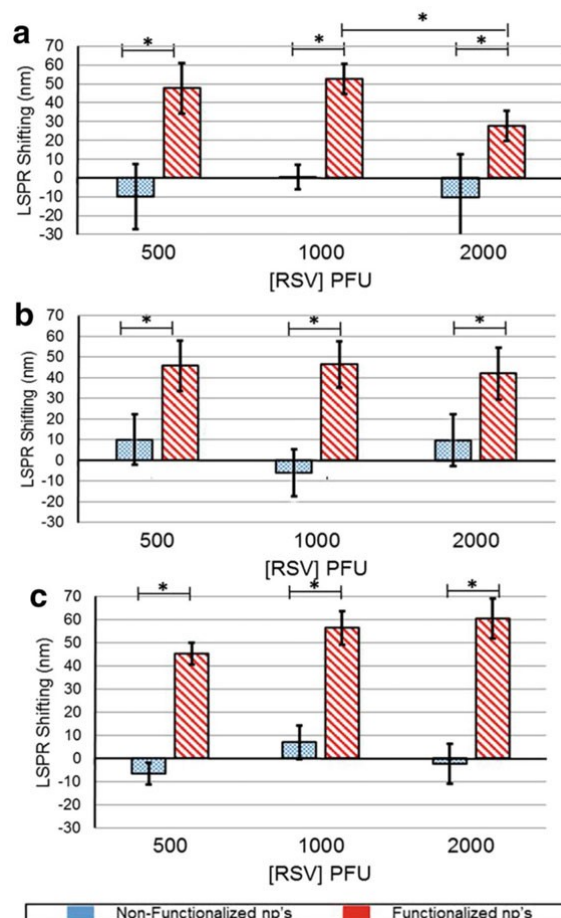
در مطالعه دیگری، یک حسگر الکتروشیمیایی بر روی سطح الکتروده کربن شیشه‌ای اصلاح‌شده نانولوله‌های کربنی چندجداره (MWCNTs) برای تشخیص ویروس نقص ایمنی انسانی ساخته شد. این روش یک روش سریع، حساس و بسیار ساده برای شناسایی مستقیم آنتی‌ژن p-24 است. این حسگر بر روی نانولوله‌های کربنی چندجداره بر روی سطح یک الکتروده کربن شیشه‌ای ساخته شده است. یک الکتروده کربن شیشه‌ای به ترتیب با استفاده از آکریل آمید، N-methylebisacrylamide، N'، آمونیوم پرسولفات به‌عنوان مونومر عمل‌کردی، عامل اتصال عرضی و آغازگر اصلاح شد. نتایج نشان داده است که حسگر زیستی به‌طور خاص، ویروس نقص

¹ HBV

تهیه کردند. CdTe QD های سبز و نارنجی به عنوان پروب های فلورسنت حساس به pH مؤثر شناسایی شده اند که قادر به نظارت بر شار پروتون ناشی از سنتز ATP هستند. پس از بارگذاری ویروس H9، افزایش سریع شدت فلورسنت در طول موج 535 نانومتر در حسگرهای زیستی سبز رنگ نقاط کوانتومی که با آنتی بادی ویروس H9 برچسب گذاری شده اند، مشاهده شد. این به افزایش فعالیت سنتتاز ATP توسط واکنش آنتی بادی - آنتی ژن نسبت داده شد. به طور مشابه، شدت فلورسنت به طور قابل توجهی در طول موج 585 نانومتر زمانی که MHV 68 بارگذاری شد، افزایش یافته است. این به دلیل افزایش فعالیت سنتتاز ATP در حسگرهای زیستی نارنجی نقاط کوانتومی رخ داده است. علاوه بر این، با بارگذاری هر دوی این ویروس ها با هم، یک تغییر سریع در هر دو شدت فلورسنت در طول موج های 535 و 585 نانومتر مشاهده شد. جالب توجه است که هر بخش از حسگرهای زیستی نقاط کوانتومی به طور مستقل بدون تداخل با یکدیگر در سنجش فلورسانس کار می کردند [87].

در یک مطالعه بسیار جدید، یک حسگر ایمنی با استفاده از نقاط کوانتومی ترکیب شده استرپتاویدین (QDs/SA) برای تشخیص پروتئین غیرساختاری نوع 1¹ ویروس دنگی معرفی شد. این پروتئین های غیرساختاری، مسئول تکثیر ویروس های جدید در سلول میزبان هستند و حسگر ایمنی تازه توسعه یافته قادر بود حتی مقدار کمی از آنتی ژن پروتئین غیرساختاری نوع 1 را تشخیص دهد. نقاط کوانتومی ترکیب شده استرپتاویدین ابتدا به آنتی بادی پروتئین غیرساختاری نوع 1 بیوتینیل شده و سپس برای شناسایی آنتی ژن پروتئین غیرساختاری نوع 1 مورد استفاده قرار گرفت. به نظر می رسد که این روشی بسیار حساس، سریع، ساده و راحت برای تشخیص ویروس در مراحل اولیه عفونت باشد (Tran and Park (2021)[88].

رو و همکاران یک پروب آپتامر با پشتیبانی از نانوذرات برای تشخیص ویروس هپاتیت C معرفی کردند. به کمک پروب تصویربرداری NS3 ویروس هپاتیت C متشکل از نانوذرات نقاط



شکل 5- نمودار شیفترزونانس پلاسمون سطحی موضعی را در تیرهای مختلف ویروس سنسیشیال تنفسی در 30 دقیقه (a)، 60 دقیقه (b) و 120 دقیقه (c) برای نانوذرات نقره دارای آنتی بادی عملکردی (قرمز) و غیر عملکردی (آبی) نشان می دهد. نماد ستاره نشان دهنده معنی داری $p < 0.05$ است [83].

6. نقاط کوانتومی (QD)

توانایی فلورسنت قابل تنظیم اندازه و تحریک همزمان تک طول موج، نقاط کوانتومی را به بستری امیدوارکننده در تشخیص رمزگذاری نوری تبدیل کرده است. دنگ و همکاران یک سیستم حسگر زیستی نقاط کوانتومی (CdTe QD) با ترکیب حسگرهای زیستی نقاط کوانتومی سبز و حسگرهای زیستی نقاط کوانتومی نارنجی برای تشخیص همزمان و مستقل ویروس آنفولانزای پرندگان H9 و ویروس MHV 68 براساس برهم کنش آنتی بادی - آنتی ژن

¹. NS1

تشخیص پرایمر اجماع دنگی را در محدوده زیتومولار فراهم می‌کرد[93].

- فعالیت ضدویروسی نانوذرات

برهم‌کنش بین نانومواد مختلف و ویروس‌ها موضوع تلاش‌های تحقیقاتی زیادی برای یافتن استراتژی‌های درمانی برای بیماری‌های عفونی ناشی از ویروس‌ها است. به‌عنوان مثال، گایکواد و همکاران، فعالیت ضدویروسی نانوذرات نقره بیوزنیک را در برابر ویروس هرپس سیمپلکس نوع 1 و 2 و ویروس پارائنفولانزای انسانی نوع 3 ارزیابی کردند. این مطالعه نشان داد که برهم‌کنش بین نانوذرات نقره و ویروس‌های آزمایش شده به اندازه و پتانسیل زتا نانوذرات نقره بستگی دارد. علاوه‌براین، فعالیت نانوذرات نقره به منبعی که برای تهیه نانوذرات نقره استفاده می‌شود، نیز بستگی دارد. فعالیت ضدویروسی در نانوذرات نقره تولیدشده توسط گونه‌های فوزاریوم اکسی اسپرووم و کرولاریا در مقایسه با نانوذرات نقره سنتز شده از سایر منابع قارچی به‌طور قابل توجهی، از نظر اندازه کوچک‌تر بودند. حدس زده می‌شد که نانوذرات با اندازه کوچک‌تر قادر به اتصال به ویروس هستند و در نتیجه برهم‌کنش ویروس و سلول میزبان را مسدود کنند و باعث تضعیف تکثیر ویروس شوند[94]. در مطالعه دیگری، نانوذرات نقره فعالیت ضدویروس نقص ایمنی انسانی نوع 1 را در مراحل اولیه تکثیر ویروس با مسدود کردن ورود ویروس، به‌ویژه برهم‌کنش gp120-CD4 نشان داد. معمولاً gp120 (گلیکوپروتئین در معرض سطح پوشش ویروس نقص ایمنی انسانی قرار گرفت) به گیرنده سلولی اولیه CD4 در سطح سلول میزبان متصل می‌شود تا عفونت را آغاز کند. این مطالعه نشان داد که نانوذره نقره می‌تواند به gp120 متصل شود بنابراین از اتصال ویریون وابسته به CD4، همجوشی و عفونت‌زایی جلوگیری می‌کند [95]. به‌طور مشابه، شیانگ و همکاران برهم‌کنش نانوذرات نقره با ویروس آنفولانزای H1 N1 A را ارزیابی کردند که در آن سلول‌های MDCK به‌عنوان مدل عفونت استفاده شد. نتایج آنها نشان داد که نانوذرات نقره می‌توانند آپوپتوز ناشی از ویروس آنفولانزای H1 N1 A را در سلول‌های MDCK کاهش دهند [96].

کوانتومی با یک گروه کربوکسیل و یک اولیگونوکلوئید RNA اصلاح شده با 5'-end-amine به‌عنوان یک پروب کشف شد. این آپتامر RNA مبتنی بر نقاط کوانتومی گزینش و ویژگی بالاتری را نشان داد و به‌عنوان یک بستر امیدوارکننده در تشخیص ظاهر شد [89].

7. سایر نانومواد

پانگ و همکاران یک روش فلورئورواپتونوماسی برای تشخیص آنتی‌ژن سطحی هپاتیت B (HBsAg) با حد تشخیص 0/1 نانوگرم بر میلی‌لیتر معرفی کردند. این روش از یک سیستم برچسب‌گذاری مبتنی بر نانوذرات سیلیس هیبریدی فلوروفور¹ استفاده کرد و خواص نوری عالی را نشان داد. حساسیت این سیستم جدید برچسب‌گذاری مبتنی بر نانوذرات سیلیس هیبریدی فلوروفور در مقایسه با روش ایمنی مربوطه که با برچسب‌گذاری مستقیم فلوروفور انجام شد، به‌طور قابل توجهی افزایش یافت (Yang et al. 2004)[90].

یک سیستم آپتاسنسور فلورسنت توسط پانگ و همکاران برای تشخیص پروتئین هم‌اگلوتینین ویروس H5N1 توسعه داده شد. در این روش، آپتامرهای ضد rHA بر روی سطح نانوذرات Ag@SiO₂ تثبیت شدند و از مولکول‌های نارنجی تیازول به‌عنوان برچسب فلورسنت استفاده شد. عدم نیاز به برچسب‌گذاری کووالانسی با فلوروفورها به آپتامر و نویز بسیار کم پس‌زمینه بعضی از مزایای این روش بود [91]. به همین ترتیب، یک حسگر زیستی الکتروشیمیایی تقویت‌شده مبتنی بر 1- نفتول به‌عنوان یک ماده الکترواکتیو و کامپوزیت‌های اکسیدگرافن/ Pt/CeO₂ به‌عنوان تقویت‌کننده کاتالیزوری برای تشخیص حساس آنفولانزا ساخته شد [92]. در مطالعه دیگری، حسگر زیستی مبتنی بر نانوالیاف Mn₂O₃ نیمه‌رسانا الکترورسی‌سی شده برای شناسایی ویروس دنگی ساخته شد. این بستر مزایای ذاتی نانوالیاف اکسید فلزی و تکنیک‌های انتقال الکتروشیمیایی را با هم ترکیب کرده بود که امکان

1. FHS

نانوذرات طلا با اتصال به gp120 از ورود ویروس جلوگیری می‌کنند و در نتیجه از اتصال CD4 جلوگیری می‌کنند [100]. به‌طور مشابه، فعالیت ضدویروسی نانوذررات طلا غیرعملکردی در برابر ویروس هرپس سیمپلکس نوع 1 نیز گزارش شده است. پارادوسکا و همکاران نشان دادند که نانوذررات طلا قادر به کاهش اثر سیتوپاتیک (تغییرات ساختاری در سلول‌های میزبان ناشی از تهاجم ویروسی) ویروس هرپس سیمپلکس نوع 1 در سلول‌های Vero به روشی وابسته به دوز و زمان هستند [101].

ملندز - ویلانوا و همکاران، فعالیت ضدویروسی نانوذررات طلا بیوژنیک تهیه‌شده از عصاره سیر را گزارش کردند. این نانوذررات طلا تکثیر ویروس سرخک را در سلول‌های Vero با 8.829 میکروگرم بر میلی‌لیتر از EC50 مهار کردند. فرض بر این بود که بار سطحی مثبت نانوذررات طلا و بار منفی غشاهای ویروسی اتصال نانوذررات طلا و پوشش ویروسی را تسهیل می‌کند، بنابراین از جذب سلولی و شروع عفونت در سلول میزبان جلوگیری می‌کند [102].

هماگلوتینین یک پروتئین سطحی بسیار حفاظت‌شده در سوبه‌های مختلف ویروس آنفولانزا است که واسطه اتصال ویروس با گیرنده‌های سلول میزبان است. در نتیجه، یک هدف ضدویروسی مؤثر در نظر گرفته می‌شود. کیم و همکاران نانوذررات متخلخل طلا (PoGNPs) را برای شکافتن پیوندهای دی‌سولفید موجود در هماگلوتینین ساختند. فعالیت ضد ویروسی نانوذررات متخلخل طلا به مسدود کردن پیوست ویروسی مرتبط با همجوشی غشاء، در نتیجه شکست پیوندهای دی‌سولفید در هماگلوتینین نسبت داده شد. کاربرد بالقوه نانوذررات متخلخل طلا در برابر سایر ویروس‌های پوششی با پروتئین‌های قابل توجهی روی سطح (به‌عنوان مثال ویروس نقص ایمنی انسانی، ویروس کرونا) نیز در این مطالعه برجسته شد [103].

نانوذرات اکسیدمس (CO-NPs) نیز فعالیت ضدویروسی را نشان دادند. هانگ و همکاران کارایی نانوذررات اکسید مس در برابر ویروس هپاتیت C را در سیستم کشت سلولی HCVcc/Huh7.5.1 نشان دادند. نانوذررات اکسید مس قادر به مهار عفونت ویروس هپاتیت C کشت سلولی (HCVcc) و همچنین ورود شبه ذرات ویروس هپاتیت C (HCVpp) بودند. بنابراین نتیجه‌گیری شد که توانایی نانوذررات اکسیدمس برای عمل به‌عنوان یک عامل ضدویروس

فعالیت ضدویروسی نانوذررات نقره در برابر ویروس هپاتیت B نیز تعیین شد. لو و همکاران از رده سلولی HepAD38 به‌عنوان یک مدل عفونت برای مطالعه فعالیت ضدویروس هپاتیت B در شرایط *in vitro* نانوذررات نقره استفاده کردند. کاهش در تشکیل ویروس هپاتیت DNAB خارج سلولی، سلول‌های HepAD38 در حضور نانوذررات نقره با میانگین قطر ذرات تقریباً 10 نانومتر و 50 نانومتر مشاهده شد. اگرچه این نانوذررات تأثیر کمی بر روی مقدار DNA دایره‌ای بسته کووالانسی ویروس هپاتیت B داشتند، تشکیل ویروس هپاتیت B RNA داخل سلولی توسط نانوذررات نقره مهار شد (Lu et al. 2008) [97]. در مطالعه دیگری، بارام پینتو و همکاران دریافتند که نانوذررات نقره که با مرکاپتواتان سولفونات پوشانده شده‌اند، می‌توانند ورود ویروس هرپس سیمپلکس نوع 1 به سلول را با اتصال به سولفات هپارین سطح سلول مسدود کنند [98]. علاوه‌براین، هو و همکاران نشان دادند که نانوذررات نقره در غلظت 100 میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌توانند به‌طور کامل از تکثیر ویروس هرپس سیمپلکس نوع 2 جلوگیری کنند. شکل‌گیری پیوند بین نانوذررات نقره و غشای گلیکوپروتئین ویروس هرپس سیمپلکس نوع 2 مکانیسم اساسی برای فعالیت ضدویروسی است. این منجر به مهار برهم‌کنش بین گلیکوپروتئین ویروس و گیرنده شد، بنابراین از درونی شدن ویروس جلوگیری کرد (Hu et al. 2014).

اخیراً ارمیا و همکاران اثر ضدویروسی نانوذررات نقره در برابر SARS-CoV-2 را بررسی کردند. در میان نانوذررات نقره با اندازه‌های مختلف، نانوذررات با قطر حدود 10 نانومتر در محدوده غلظت 1-10 ppm در مهار SARS-CoV-2 خارج سلولی مؤثر بودند. با این حال، نانوذررات نقره در غلظت‌های 20 ppm و بالاتر، اثرات سیتوتوکسیک از خود نشان دادند. از مشاهدات سنجش ورود شبه ویروس مبتنی بر لوسیفراز، این فرضیه وجود داشت که نانوذررات نقره قادر به مهار مرحله ورود ویروس با برهم‌زدن یکپارچگی ویروس هستند [99].

مطالعات تحقیقاتی متعددی در مورد فعالیت ضدویروسی نانوذررات طلا وجود دارد. ویچایاکومار و گانسان فعالیت ضدویروسی نانوذررات طلا تثبیت شده با پلی‌اتیلن گلیکول در برابر ویروس نقص ایمنی نوع 1 را گزارش کردند. مشخص شد که این

نانوذرات طلا به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان حامل مواد بیودارویی مختلف مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. لی و همکاران یک سیستم رهایش طولانی اثر خاص از اینترفرون α ($IFN\alpha$) با استفاده از مواد ترکیبی نانوذره طلا و اسیدهیالورونیک (HA) معرفی کردند. این کمپلکس اسید هیالورونیک - نانوذره طلا / اینترفرون α در درمان سیستمیک عفونت ویروس هپاتیت C به‌کار گرفته شد [108]. به‌طور مشابه، چو و همکاران نانومیله‌های طلای مهندسی‌شده سطح را به‌عنوان کمکی واکسن DNA برای درمان ویروس نقص ایمنی انسانی معرفی کردند. این نانومیله‌های طلا، ایمنی سلولی و هومورال را همراه با افزایش سلول‌های T از طریق فعال کردن سلول‌های ارائه‌دهنده آنتی‌ژن، تقویت کرد [49][50].

فناوری نانو همچنین در فرآیند توسعه واکسن برای بهبود تحویل آنتی‌ژن و القای کارآمد ایمنی به‌کار گرفته شده است. سیستم‌های نانوذرات مختلفی مانند نانوذرات پلیمری، ذرات ویروس مانند (VLPs)، لیپوزوم‌ها و کیتوزان برای این اهداف استفاده شده‌اند [109]. نانوذرات به‌دلیل توانایی خود در ارائه آنتی‌ژن و بسیاری از مولکول‌های تحریک‌کننده ایمنی به‌عنوان یک بستر واکسن بسیار امیدوارکننده برای چندین بیماری عفونی در حال ظهور هستند. آنتی‌ژن را می‌توان کپسوله، جذب و روی ماتریس نانوذرات پخش کرد. آنتی‌ژن‌های رهایش آهسته واکسن و به‌کارگیری سلول‌های ارائه‌دهنده آنتی‌ژن معمولاً مسئول فعالیت ایمنی تحریک‌کننده نانو واکسن‌ها هستند (شکل 6). در نتیجه در سال‌های اخیر، گروه‌های تحقیقاتی بسیاری برای توسعه نانوواکسن‌ها در برابر ویروس چیکونگونیا، ویروس دنگی، ویروس زیکا، ویروس آنسفالیت ژاپنی و ویروس نیل غربی تلاش کردند [111][110].

داکل و همکاران از نانوذرات PLGA برای کپسوله‌سازی آنتی‌ژن‌های H1N2 ویروس آنفلوآنزای خوکی (SwIV) غیرفعال‌شده (KAg) و بلوغ القایی سلول‌های ارائه‌دهنده آنتی‌ژن در شرایط *in vitro* استفاده کردند. خوک‌هایی که دو بار با این آماده‌سازی واکسینه شدند، در مقایسه با حیوانات غیرواکسینه‌شده که یک بار با یک سویه ویروس آنفلوآنزای هترولوگ بدخیم به چالش کشیده شدند، تا حد قابل توجهی به بیماری خفیف‌تری دچار شدند. در مطالعه دیگری با استفاده از پروتئین فیوژن تریمریک از ویروس سنسیشیال

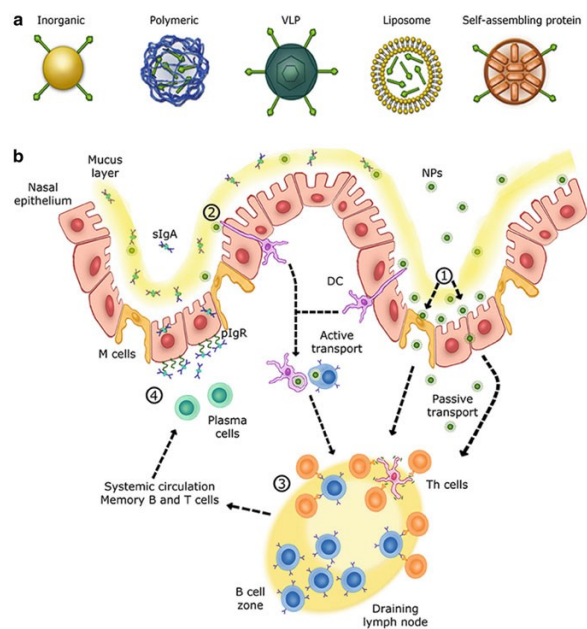
هپاتیت C به‌دلیل برهم‌کنش نانوذرات اکسید مس با سطح ویریون است. این برهم‌کنش می‌تواند مکان‌های اتصال‌کننده روی گلیکوپروتئین پوششی ویروس هپاتیت C را مسدود کند و هم اتصال و هم ورود ویروس را مهار کند [104]. اخیراً تاکدا و همکاران اثربخشی نانوذرات مس یدید (CuI) در غیرفعال کردن ویروس SARS-CoV-2 را فاش کردند. فیلم و فابریک¹ دوپ شده با مس یدید غیرفعال‌شدن سریع ویروس را نشان داد. فعالیت ویروس‌کشی به تخریب پروتئین‌های ویروسی و ژنوم به‌ویژه به‌دلیل عملکرد گونه‌های اکسیژن فعال نشأت گرفته از مس یدید اختصاص داده شد. این یافته‌ها کاربرد بالقوه فیلم و فابریک دوپ‌شده با مس یدید را به‌عنوان مواد ضد SARS-CoV-2 برای ماسک‌های جراحی / لباس‌های محافظ و همچنین برای محافظت از سطوح محیطی با لمس بالا نشان داد [105].

-درمان / پیشگیری از عفونت‌های ویروسی با استفاده از نانومواد

رویکردهای فناوری نانو را می‌توان ابزاری قدرتمند برای بهبود فعالیت داروهای ضدویروسی در نظر گرفت. محصور کردن داروهای ضدویروسی با نانوذرات معمولاً با ویژگی‌هایی مانند سینتیک رهایش کنترل‌شده، فراهمی زیستی بهبودیافته، فارماکوکینتیک اصلاح‌شده و کاهش اثرات جانبی مرتبط است. علاوه‌براین، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نانوحامل‌ها ممکن است امکان هدف‌گیری مکان‌های خاص و برهم‌کنش با ساختارهای ویروسی را فراهم کند [106]. به‌عنوان مثال، داروی ضدویروسی آسیکلوویر که برای درمان عفونت‌های ویروس هرپس سیمپلکس، آبله‌مرغان و زونا استفاده می‌شود، نیمه‌عمر کوتاه و جذب ناقص دارد. بنابراین، کامل و همکاران، نانوذرات مخفی آسیکلوویر را با استفاده از پلی‌لاکتیک اسید، پلی‌لاکتیک-کو-گلیکولیک 85/15 (PLGA) برای افزایش نیمه‌عمر پلاسمایی دارو پس از تجویز داخل وریدی توسعه دادند. این رویکرد میانگین زمان ماندگاری دارو را 29 برابر افزایش داد. به‌همین ترتیب، نانوذرات PLGA ترکیب‌شده با گالاتوز بارگذاری‌شده با آسیکلوویر نیز معرفی شدند [107].

¹. fabric

مبارزه با این عفونت‌های ویروسی در دسترس هستند. رویکردهای جدید مبتنی بر فناوری نانو در مقایسه با روش‌های تشخیص ویروسی موجود می‌تواند بستر بهتری را برای تشخیص عفونت‌های ویروسی در مدت کوتاهی با حساسیت بالا فراهم کنند. همچنین، نانومواد ممکن است به غلبه بر مسائلی مانند حلالیت و فراهمی زیستی کم، رهایش سریع، ایجاد مقاومت و اثرات نامطلوب که اغلب با درمان‌های ضد ویروسی مرسوم مرتبط هستند، کمک کند. بنابراین، فناوری نانو به‌عنوان ابزاری جدید و امیدوارکننده در مدیریت مؤثر عفونت‌های ویروسی در پزشکی آینده ظاهر می‌شود.



شکل 6- بررسی اجمالی پاسخ ایمنی در دستگاه تنفسی فوقانی (a) نمای شماتیک از نانوذرات مختلف مورد استفاده برای واکسیناسیون داخل بینی. (b) مکانیسم‌های بافت‌های لنفوئیدی مرتبط با بینی (NALTs) پاسخ‌های ایمنی در دستگاه تنفسی فوقانی. (1) نانوذرات از لایه مخاطی به بافت‌های اپیتلیال بینی توسط سلول‌های ریز چین (سلول‌های M) ترانسیتور می‌شوند یا به‌طور غیرفعال از طریق اتصالات سلول‌های اپیتلیال منتشر می‌شوند. (2) سایر نانوذرات توسط DCها (سلول‌های دندریتیک) از گسترش آنها از طریق اتصالات اپیتلیال و توسط سایر APCها مانند سلول‌های B جذب و درونی می‌شوند. (3) سلول‌هایی که با نانوذرات مواجه شده‌اند به نزدیک‌ترین غدد لنفاوی مهاجرت می‌کنند تا سلول‌های کمکی T ساده را فعال کنند. پس از فعال‌شدن، سلول‌های کمکی T سلول‌های B را فعال می‌کنند که با همان آنتی‌ژن ارائه‌شده توسط نانوذرات مواجه شده‌اند. سلول‌های B فعال‌شده در غدد لنفاوی (ناحیه

تنفسی به‌عنوان یک مدل ایمنی، فرانسیکا و همکاران نشان دادند که پلیمرهای پاسخگو به حرارت نانوذرات (TRP) امکان تحویل همزمان آگونیست‌های گیرنده مانند Toll (TLRa) را برای افزایش ایمنی محافظتی فراهم می‌کنند [112].

برخی از واکسن‌های تولیدشده علیه کووید-19 مبتنی بر فناوری نانو هستند. برای مثال، واکسن‌های (BNT162b2) Pfizer/BioNTech مبتنی بر mRNA و مدرنا (mRNA-1273) در فرمول‌های نانوذرات لیپیدی تحویل داده می‌شوند [113]. این نانوذرات به محافظت از mRNA کپسوله‌شده در برابر ریبونوکلیازها و در نتیجه بهبود پایداری کمک می‌کنند. علاوه‌براین، نانوذرات، تحویل mRNA دست‌نخورده را به مکان هدف تسهیل می‌کنند [114]. همچنین، گنگ و همکاران واکسن‌های مبتنی شبه‌ویروس (VLP) را معرفی کردند که اثربخشی واکسن‌های مبتنی بر ویروس و ایمنی واکسن‌های مبتنی بر پروتئین را ترکیب می‌کند. معمولاً واکسن‌های شبه‌ویروس مجموعه‌های کروی فوق مولکولی از پروتئین کپسید ویروسی اما عاری از مواد ژنتیکی هستند. در اینجا، ساختار پروتئین نانوذره سنتاز لومازین داربستی بود در حالی که 120 نسخه از دامنه اتصال گیرنده SARS-CoV-2 ایمونوژن سطحی بود. جالب توجه است که این واکسن‌های شبه‌ویروس مهار قوی SARS-CoV-2، SARS-CoV 1 و انواع آن‌ها را نشان داد [115].

اگرچه نانومواد در درمان عفونت‌های ویروسی امیدوارکننده است، اما بسیاری از مطالعات فقط زیست‌سازگاری را با استفاده از آزمایش‌های *in vitro* بررسی کردند. با توجه به برهم‌کنش‌های پیچیده بین نانومواد و سیستم‌های بیولوژیکی، به‌ویژه با مولکول‌های کوچک، آنزیم‌ها و سایر پروتئین‌ها و سلول‌ها، برای ارزیابی رفتار این مواد در شرایط فیزیولوژیکی، آزمایش‌های *in vivo* به‌درستی طراحی شده‌اند.

- نتیجه‌گیری

عفونت‌های ویروسی به‌ویژه در سال‌های اخیر به‌عنوان یک خطر بزرگ برای سلامت جهانی ظاهر شده‌اند. با این حال، تنها تعداد محدودی از ابزارهای تشخیصی و درمان‌های ضدویروسی برای

گیرنده پلیمری Ig (pIgR) در سطح مخاط ترشح می‌شوند. پاسخ ایمنی NALT باعث ایجاد سلول‌های B و T حافظه طولانی‌مدت می‌شود که می‌توانند پاسخ یادآوری سریع را تحریک کنند [111].

سلول B تکثیر می‌شوند و پس از بالغ‌شدن، وارد گردش خون سیستمیک می‌شوند تا به محل التهاب برسند. سلول‌های B + IgA به صورت موضعی به سلول‌های پلاسمایی ترشح کننده آنتی‌بادی برای تولید دایمرهای IgA تمایز می‌یابند. (4) دایمرهای IgA از طریق

References:

- [1] A. W. Arntstein, "The discovery of viruses: advancing science and medicine by challenging dogma," *Int. J. Infect. Dis.*, vol. 16, no. 7, pp. e470-e473, Jul. 2012, doi: 10.1016/j.ijid.2012.03.005.
- [2] L. Liu, "Fields Virology, 6th Edition," *Clin. Infect. Dis.*, vol. 59, no. 4, pp. 613-613, Aug. 2014, doi: 10.1093/cid/ciu346.
- [3] M. Woolhouse, F. Scott, Z. Hudson, R. Howey, and M. Chase-Topping, "Human viruses: discovery and emergence," *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.*, vol. 367, no. 1604, pp. 2864-2871, 2012.
- [4] M. Woolhouse and E. Gaunt, "Ecological origins of novel human pathogens," *Crit. Rev. Microbiol.*, vol. 33, no. 4, pp. 231-242, 2007.
- [5] A. Trilla, G. Trilla, and C. Daer, "The 1918 'spanish flu' in spain," *Clin. Infect. Dis.*, vol. 47, no. 5, pp. 668-673, 2008.
- [6] M. J. Gibbs, J. S. Armstrong, and A. J. Gibbs, "Recombination in the hemagglutinin gene of the 1918 'Spanish flu' .," *Science*, vol. 293, no. 5536, pp. 1842-5, Sep. 2001, doi: 10.1126/science.1061662.
- [7] J. G. Breman and I. Arita, "The Confirmation and Maintenance of Smallpox Eradication," *N. Engl. J. Med.*, vol. 303, no. 22, pp. 1263-1273, Nov. 1980, doi: 10.1056/NEJM198011273032204.
- [8] S. Riedel, "Edward Jenner and the history of smallpox and vaccination," in *Baylor University medical center proceedings*, 2005, vol. 18, no. 1, pp. 21-25.
- [9] Z. S. Moore, J. F. Seward, and J. M. Lane, "Smallpox," *Lancet*, vol. 367, no. 9508, pp. 425-435, 2006.
- [10] Q. Syed, W. Sopwith, M. Regan, and M. A. Bellis, "Behind the mask. Journey through an epidemic: some observations of contrasting public health responses to SARS," *J. Epidemiol. Community Heal.*, vol. 57, no. 11, pp. 855-856, 2003.
- [11] A. L. D. Lau, I. Chi, R. A. Cummins, T. M. C. Lee, K.-L. Chou, and L. W. M. Chung, "The SARS (Severe Acute Respiratory Syndrome) pandemic in Hong Kong: Effects on the subjective wellbeing of elderly and younger people," *Aging Ment. Heal.*, vol. 12, no. 6, pp. 746-760, 2008.
- [12] S. C. Loon et al., "The severe acute respiratory syndrome coronavirus in tears," *Br. J. Ophthalmol.*, vol. 88, no. 7, pp. 861-863, 2004.
- [13] I. K. Oboho et al., "2014 MERS-CoV outbreak in Jeddah—a link to health care facilities," *N. Engl. J. Med.*, vol. 372, no. 9, pp. 846-854, 2015.
- [14] D. Musso and D. J. Gubler, "Zika virus," *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 29, no. 3, pp. 487-524, 2016.
- [15] S. Baize et al., "Emergence of Zaire Ebola Virus Disease in Guinea," *N. Engl. J. Med.*, vol. 371, no. 15, pp. 1418-1425, Oct. 2014, doi: 10.1056/NEJMoa1404505.
- [16] L. Meyers, T. Frawley, S. Goss, and C. Kang, "Ebola virus outbreak 2014: clinical review for emergency physicians," *Ann. Emerg. Med.*, vol. 65, no. 1, pp. 101-108, 2015.
- [17] J. D. Reeves and R. W. Doms, "Human immunodeficiency virus type 2," *J. Gen. Virol.*, vol. 83, no. 6, pp. 1253-1265, 2002.
- [18] R. Brennan and D. Durack, "GAY COMPROMISE SYNDROME," *Lancet*, vol. 318, no. 8259, pp. 1338-1339, Dec. 1981, doi: 10.1016/S0140-6736(81)91352-0.
- [19] N. J. Deacon et al., "Genomic Structure of an Attenuated Quasi Species of HIV-1 from a Blood Transfusion Donor and Recipients," *Science (80-.)*, vol. 270, no. 5238, pp. 988-991, Nov. 1995, doi: 10.1126/science.270.5238.988.
- [20] W. H. O. UNAIDS, "Report on the global HIV/AIDS epidemic, June 1998," Geneva, Switz. UNAIDS, WHO, *Glob. HIV/AIDS STD Surveill.*, 1998.

- [21] H. Harapan et al., "Coronavirus disease 2019 (COVID-19): A literature review," *J. Infect. Public Health*, vol. 13, no. 5, pp. 667-673, May 2020, doi: 10.1016/j.jiph.2020.03.019.
- [22] P. Mehta, D. F. McAuley, M. Brown, E. Sanchez, R. S. Tattersall, and J. J. Manson, "COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression," *Lancet*, vol. 395, no. 10229, pp. 1033-1034, 2020.
- [23] E. M. Cottam, J. Wadsworth, N. J. Knowles, and D. P. King, "Full Sequencing of Viral Genomes: Practical Strategies Used for the Amplification and Characterization of Foot-and-Mouth Disease Virus," 2009, pp. 217-230. doi: 10.1007/978-1-60327-999-4_17.
- [24] R. Sanjuán and K. Bradwell, "The Evolution and Emergence of RNA Viruses," *Syst. Biol.*, vol. 59, no. 5, pp. 610-612, Oct. 2010, doi: 10.1093/sysbio/syq049.
- [25] E. Delwart, "Animal virus discovery: improving animal health, understanding zoonoses, and opportunities for vaccine development," *Curr. Opin. Virol.*, vol. 2, no. 3, pp. 344-352, Jun. 2012, doi: 10.1016/j.coviro.2012.02.012.
- [26] S. Junglen and C. Drosten, "Virus discovery and recent insights into virus diversity in arthropods," *Curr. Opin. Microbiol.*, vol. 16, no. 4, pp. 507-513, Aug. 2013, doi: 10.1016/j.mib.2013.06.005.
- [27] A. Lwoff and P. Tournier, "The classification of viruses," *Annu. Rev. Microbiol.*, vol. 20, no. 1, pp. 45-74, 1966.
- [28] A. J. D. Bellett, "Preliminary Classification of Viruses Based on Quantitative Comparisons of Viral Nucleic Acids," *J. Virol.*, vol. 1, no. 2, pp. 245-259, Apr. 1967, doi: 10.1128/jvi.1.2.245-259.1967.
- [29] A. LWOFF and P. TOURNIER, "Remarks on the classification of viruses," in *Comparative Virology*, Elsevier, 1971, pp. 1-42.
- [30] C. R. Pringle, "The universal system of virus taxonomy of the International Committee on Virus Taxonomy (ICTV), including new proposals ratified since publication of the Sixth ICTV Report in 1995," *Arch. Virol.*, vol. 143, no. 1, p. 203, 1998.
- [31] H. R. Gelderblom, *Structure and Classification of Viruses*. 1996. [Online]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/142303>.
- [32] R. W. HORNE and P. WILDY, "VIRUS STRUCTURE REVEALED BY NEGATIVE STAINING.," *Adv. Virus Res.*, vol. 10, pp. 101-70, 1963, doi: 10.1016/s0065-3527(08)60698-3.
- [33] N. G. A. Abrescia, D. H. Bamford, J. M. Grimes, and D. I. Stuart, "Structure Unifies the Viral Universe," *Annu. Rev. Biochem.*, vol. 81, no. 1, pp. 795-822, Jul. 2012, doi: 10.1146/annurev-biochem-060910-095130.
- [34] D. Baltimore, "Expression of animal virus genomes.," *Bacteriol. Rev.*, vol. 35, no. 3, pp. 235-41, Sep. 1971, doi: 10.1128/br.35.3.235-241.1971.
- [35] A. M. Prince, "An antigen detected in the blood during the incubation period of serum hepatitis.," *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 60, no. 3, pp. 814-821, 1968.
- [36] R. H. Purcell, J. L. Gerin, J. B. Almeida, and P. V. Holland, "Radioimmunoassay for the detection of the core of the Dane particle and antibody to it," *Intervirology*, vol. 2, no. 4, pp. 231-243, 1973.
- [37] R. S. Koff, "Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH. Hepatitis A: detection by immune electron microscopy of a virus like antigen associated with acute illness [Science 1973;182:1026-1028]," *J. Hepatol.*, vol. 37, no. 1, pp. 2-6, Jul. 2002, doi: 10.1016/S0168-8278(02)00169-1.
- [38] A. Z. Kapikian, R. G. Wyatt, R. Dolin, T. S. Thornhill, A. R. Kalica, and R. M. Chanock, "Visualization by immune electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis," *J. Virol.*, vol. 10, no. 5, pp. 1075-1081, 1972.

- [39] J. D. Connor and E. Barrett-Connor, "Infectious Diarrheas," *Pediatr. Clin. North Am.*, vol. 14, no. 1, pp. 197-221, Feb. 1967, doi: 10.1016/S0031-3955(16)31951-4.
- [40] R. H. Yolken, "Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): a practical tool for rapid diagnosis of viruses and other infectious agents.," *Yale J. Biol. Med.*, vol. 53, no. 1, p. 85, 1980.
- [41] J. D. Almeida and A. P. Waterson, "The Morphology of Virus-Antibody Interaction," 1969, pp. 307-338. doi: 10.1016/S0140-6736(71)90543-5.
- J. Almeida, D. Rubenstein, and E. . Stott, "NEW ANTIGEN-ANTIBODY SYSTEM IN AUSTRALIA-ANTIGEN-POSITIVE HEPATITIS," *Lancet*, vol. 298, no. 7736, pp. 1225-1227, Dec. 1971, doi: 10.1016/S0140-6736(71)90543-5.
- [43] S. M. Feinstone, A. Z. Kapikian, R. H. Purcell, H. J. Alter, and P. V. Holland, "Transfusion-Associated Hepatitis Not Due to Viral Hepatitis Type A or B," *N. Engl. J. Med.*, vol. 292, no. 15, pp. 767-770, Apr. 1975, doi: 10.1056/NEJM197504102921502.
- [44] B. Forghani, N. J. Schmidt, and E. H. Lennette, "Radioimmunoassay Inhibition Method for Confirming the Specificity of Positive Hepatitis B Surface Antigen Reactions and for Survey of Antibodies to the Antigen," *Vox Sang.*, vol. 32, no. 3, pp. 125-130, 1977, doi: 10.1159/000467427.
- [45] A. Voller, A. Bartlett, and D. E. Bidwell, "Enzyme immunoassays with special reference to ELISA techniques.," *J. Clin. Pathol.*, vol. 31, no. 6, pp. 507-520, 1978.
- [46] G. B. Wisdom, "Enzyme-immunoassay.," *Clin. Chem.*, vol. 22, no. 8, pp. 1243-1255, 1976.
- [47] G. Wolters, L. J. Kuijpers, J. Kacaki, and A. Schuurs, "Solid-phase enzyme-immunoassay for detection of hepatitis B surface antigen.," *J. Clin. Pathol.*, vol. 29, no. 10, pp. 873-879, 1976.
- [48] S. Liu et al., "A multiplex RT-PCR for rapid and simultaneous detection of porcine teschovirus, classical swine fever virus, and porcine reproductive and respiratory syndrome virus in clinical specimens," *J. Virol. Methods*, vol. 172, no. 1-2, pp. 88-92, 2011.
- [49] X.-G. Xu et al., "Development of multiplex PCR for simultaneous detection of six swine DNA and RNA viruses," *J. Virol. Methods*, vol. 183, no. 1, pp. 69-74, 2012.
- [50] L. Xu et al., "Surface-engineered gold nanorods: promising DNA vaccine adjuvant for HIV-1 treatment," *Nano Lett.*, vol. 12, no. 4, pp. 2003-2012, 2012.
- [51] K. Podgórska and T. Stajek, "Optimisation of reverse transcription can improve the sensitivity of RT-PCR for detection of classical swine fever virus," *Acta Vet. Hung.*, vol. 58, no. 2, pp. 257-264, 2010.
- [52] Y. Jiang et al., "Simultaneous detection of porcine circovirus type 2, classical swine fever virus, porcine parvovirus and porcine reproductive and respiratory syndrome virus in pigs by multiplex polymerase chain reaction," *Vet. J.*, vol. 183, no. 2, pp. 172-175, Feb. 2010, doi: 10.1016/j.tvjl.2008.11.016.
- [53] J.-K. Liu, C.-H. Wei, X.-Y. Yang, A.-L. Dai, and X.-H. Li, "Multiplex PCR for the simultaneous detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus, classical swine fever virus, and porcine circovirus in pigs," *Mol. Cell. Probes*, vol. 27, no. 3-4, pp. 149-152, 2013.
- [54] H. Wu, P. Rao, Y. Jiang, T. Opriessnig, and Z. Yang, "A sensitive multiplex real-time PCR panel for rapid diagnosis of viruses associated with porcine respiratory and reproductive disorders," *Mol. Cell. Probes*, vol. 28, no. 5-6, pp. 264-270, 2014.
- [55] B. Pourhosein, H. Soleimanjahi, F. Behzadian, and B. Khansarinejad, "Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for the rapid diagnosis of viruses," 2011.
- [56] H. Kimura et al., "Rapid detection of herpes simplex virus DNA in cerebrospinal fluid: comparison between loop-mediated isothermal amplification and real-time PCR," *Med. Microbiol. Immunol.*, vol. 194, pp. 181-185, 2005.

- [57] T. Notomi et al., "Loop-mediated isothermal amplification of DNA," *Nucleic Acids Res.*, vol. 28, no. 12, pp. e63-e63, 2000.
- [58] R. M. Ratcliff, G. Chang, T. Kok, and T. P. Sloots, "Molecular diagnosis of medical viruses," *Curr. Issues Mol. Biol.*, vol. 9, no. 2, pp. 87-102, 2007.
- [59] A. Mokhtarzadeh et al., "Nanomaterial-based biosensors for detection of pathogenic virus," *TrAC Trends Anal. Chem.*, vol. 97, pp. 445-457, 2017.
- [60] R. Arnon, "Chemically Defined Antiviral Vaccines," *Annu. Rev. Microbiol.*, vol. 34, no. 1, pp. 593-618, Oct. 1980, doi: 10.1146/annurev.mi.34.100180.003113.
- [61] X. Zhou et al., "Engineering antiviral vaccines," *ACS Nano*, vol. 14, no. 10, pp. 12370-12389, 2020.
- [62] J. Haasnoot and B. Berkhout, "Nucleic Acids-Based Therapeutics in the Battle Against Pathogenic Viruses," 2009, pp. 243-263. doi: 10.1007/978-3-540-79086-0_9.
- [63] P. C. Zamecnik and M. L. Stephenson, "Inhibition of Rous sarcoma virus replication and cell transformation by a specific oligodeoxynucleotide.," *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 75, no. 1, pp. 280-284, 1978.
- [64] E. De Clercq, "Antiviral drugs in current clinical use," *J. Clin. Virol.*, vol. 30, no. 2, pp. 115-133, Jun. 2004, doi: 10.1016/j.jcv.2004.02.009.
- [65] P. Yeni, "Update on HAART in HIV," *J. Hepatol.*, vol. 44, pp. S100-S103, 2006.
- [66] J. Hellmuth, V. Valcour, and S. Spudich, "CNS reservoirs for HIV: implications for eradication.," *J. virus Erad.*, vol. 1, no. 2, pp. 67-71, Apr. 2015, doi: 26430703.
- [67] S. K. Adesina and E. O. Akala, "Nanotechnology Approaches for the Delivery of Exogenous siRNA for HIV Therapy," *Mol. Pharm.*, vol. 12, no. 12, pp. 4175-4187, Dec. 2015, doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.5b00335.
- [68] L. Singh, H. G. Kruger, G. E. M. Maguire, T. Govender, and R. Parboosing, "The role of nanotechnology in the treatment of viral infections," *Ther. Adv. Infect. Dis.*, vol. 4, no. 4, pp. 105-131, 2017.
- [69] W. Lewis, B. J. Day, and W. C. Copeland, "Mitochondrial toxicity of NRTI antiviral drugs: an integrated cellular perspective," *Nat. Rev. Drug Discov.*, vol. 2, no. 10, pp. 812-822, 2003.
- [70] F. Morfin and D. Thouvenot, "Herpes simplex virus resistance to antiviral drugs," *J. Clin. Virol.*, vol. 26, no. 1, pp. 29-37, 2003.
- [71] S. B. Shinde, C. B. Fernandes, and V. B. Patravale, "Recent trends in in-vitro nanodiagnosics for detection of pathogens," *J. Control. release*, vol. 159, no. 2, pp. 164-180, 2012.
- [72] S.-H. Huang et al., "Gold nanoparticle-based RT-PCR and real-time quantitative RT-PCR assays for detection of Japanese encephalitis virus," *Nanotechnology*, vol. 19, no. 40, p. 405101, Oct. 2008, doi: 10.1088/0957-4484/19/40/405101.
- [73] S. M. Shawky, D. Bald, and H. M. E. Azzazy, "Direct detection of unamplified hepatitis C virus RNA using unmodified gold nanoparticles," *Clin. Biochem.*, vol. 43, no. 13-14, pp. 1163-1168, 2010.
- [74] S. Tang and I. Hewlett, "Nanoparticle-based immunoassays for sensitive and early detection of HIV-1 capsid (p24) antigen," *J. Infect. Dis.*, vol. 201, no. Supplement_1, pp. S59-S64, 2010.
- [75] C. Lee, M. A. Gaston, A. A. Weiss, and P. Zhang, "Colorimetric viral detection based on sialic acid stabilized goldnanoparticles," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 42, pp. 236-241, 2013.
- [76] Y. Liu et al., "Colorimetric detection of influenza A virus using antibody-functionalized gold nanoparticles," *Analyst*, vol. 140, no. 12, pp. 3989-3995, 2015.

- [77] C. R. Basso, C. C. Tozato, B. P. Crulhas, G. R. Castro, J. P. A. Junior, and V. A. Pedrosa, "An easy way to detect dengue virus using nanoparticle-antibody conjugates," *Virology*, vol. 513, pp. 85-90, Jan. 2018, doi: 10.1016/j.virol.2017.10.001.
- [78] G. Qiu, Z. Gai, Y. Tao, J. Schmitt, G. A. Kullak-Ublick, and J. Wang, "Dual-functional plasmonic photothermal biosensors for highly accurate severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 detection," *ACS Nano*, vol. 14, no. 5, pp. 5268-5277, 2020.
- [79] A. Valipour and M. Roushani, "Using silver nanoparticle and thiol graphene quantum dots nanocomposite as a substratum to load antibody for detection of hepatitis C virus core antigen: electrochemical oxidation of riboflavin was used as redox probe," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 89, pp. 946-951, 2017.
- [80] J. Huang et al., "Silver nanoparticles coated graphene electrochemical sensor for the ultrasensitive analysis of avian influenza virus H7," *Anal. Chim. Acta*, vol. 913, pp. 121-127, Mar. 2016, doi: 10.1016/j.aca.2016.01.050.
- [81] P. Teengam, W. Siangproh, A. Tuantranont, T. Vilaivan, O. Chailapakul, and C. S. Henry, "Multiplex paper-based colorimetric DNA sensor using pyrrolidiny peptide nucleic acid-induced AgNPs aggregation for detecting MERS-CoV, MTB, and HPV oligonucleotides," *Anal. Chem.*, vol. 89, no. 10, pp. 5428-5435, 2017.
- [82] X. Mao, S. Liu, C. Yang, F. Liu, K. Wang, and G. Chen, "Colorimetric detection of hepatitis B virus (HBV) DNA based on DNA-templated copper nanoclusters," *Anal. Chim. Acta*, vol. 909, pp. 101-108, 2016.
- [83] J. Valdez, S. Bawage, I. Gomez, and S. R. Singh, "Facile and rapid detection of respiratory syncytial virus using metallic nanoparticles," *J. Nanobiotechnology*, vol. 14, no. 1, pp. 1-12, 2016.
- [84] D. Lee, Y. Chander, S. M. Goyal, and T. Cui, "Carbon nanotube electric immunoassay for the detection of swine influenza virus H1N1," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 26, no. 8, pp. 3482-3487, 2011.
- [85] A. C. M. S. Dias, S. L. R. Gomes-Filho, M. M. S. Silva, and R. F. Dutra, "A sensor tip based on carbon nanotube-ink printed electrode for the dengue virus NS1 protein," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 44, pp. 216-221, Jun. 2013, doi: 10.1016/j.bios.2012.12.033.
- [86] Y. Ma, X.-L. Shen, Q. Zeng, H.-S. Wang, and L.-S. Wang, "A multi-walled carbon nanotubes based molecularly imprinted polymers electrochemical sensor for the sensitive determination of HIV-p24," *Talanta*, vol. 164, pp. 121-127, 2017.
- [87] Z. Deng, Y. Zhang, J. Yue, F. Tang, and Q. Wei, "Green and Orange CdTe Quantum Dots as Effective pH-Sensitive Fluorescent Probes for Dual Simultaneous and Independent Detection of Viruses," *J. Phys. Chem. B*, vol. 111, no. 41, pp. 12024-12031, Oct. 2007, doi: 10.1021/jp074609z.
- [88] L. Tran and S. Park, "Highly sensitive detection of dengue biomarker using streptavidin-conjugated quantum dots," *Sci. Rep.*, vol. 11, no. 1, p. 15196, 2021.
- [89] C. Roh, H. Lee, S. Kim, and S. Jo, "Quantum-dots-based detection of hepatitis C virus (HCV) NS3 using RNA aptamer on chip," *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, vol. 85, no. 8, pp. 1130-1134, 2010.
- [90] W. Yang, C. G. Zhang, H. Y. Qu, H. H. Yang, and J. G. Xu, "Novel fluorescent silica nanoparticle probe for ultrasensitive immunoassays," *Anal. Chim. Acta*, vol. 503, no. 2, pp. 163-169, 2004.
- [91] Y. Pang, Z. Rong, J. Wang, R. Xiao, and S. Wang, "A fluorescent aptasensor for H5N1 influenza virus detection based-on the core-shell nanoparticles metal-enhanced fluorescence (MEF)," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 66, pp. 527-532, 2015.

- [92] Z.-H. Yang, Y. Zhuo, R. Yuan, and Y.-Q. Chai, "An amplified electrochemical immunosensor based on in situ-produced 1-naphthol as electroactive substance and graphene oxide and Pt nanoparticles functionalized CeO₂ nanocomposites as signal enhancer," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 69, pp. 321-327, 2015.
- [93] S. Tripathy, S. R. K. Vanjari, V. Singh, S. Swaminathan, and S. G. Singh, "Electrospun manganese (III) oxide nanofiber based electrochemical DNA-nanobiosensor for zeptomolar detection of dengue consensus primer," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 90, pp. 378-387, 2017.
- [94] S. Galdiero et al., "Antiviral activity of mycosynthesized silver nanoparticles against herpes simplex virus and human parainfluenza virus type 3," *Int. J. Nanomedicine*, p. 4303, Nov. 2013, doi: 10.2147/IJN.S50070.
- [95] H. H. Lara, N. V. Ayala-Nuñez, L. Ixtepan-Turrent, and C. Rodriguez-Padilla, "Mode of antiviral action of silver nanoparticles against HIV-1," *J. Nanobiotechnology*, vol. 8, no. 1, pp. 1-10, 2010.
- [96] D. Xiang, Q. Chen, L. Pang, and C. Zheng, "Inhibitory effects of silver nanoparticles on H1N1 influenza A virus in vitro," *J. Virol. Methods*, vol. 178, no. 1-2, pp. 137-142, 2011.
- [97] M. Liong et al., "Multifunctional inorganic nanoparticles for imaging, targeting, and drug delivery," *ACS Nano*, vol. 2, no. 5, pp. 889-896, 2008, doi: 10.1021/nm800072t.
- [98] D. Baram-Pinto, S. Shukla, N. Perkash, A. Gedanken, and R. Sarid, "Inhibition of Herpes Simplex Virus Type 1 Infection by Silver Nanoparticles Capped with Mercaptoethane Sulfonate," *Bioconjug. Chem.*, vol. 20, no. 8, pp. 1497-1502, Aug. 2009, doi: 10.1021/bc900215b.
- [99] S. S. Jeremiah, K. Miyakawa, T. Morita, Y. Yamaoka, and A. Ryo, "Potent antiviral effect of silver nanoparticles on SARS-CoV-2," *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 533, no. 1, pp. 195-200, Nov. 2020, doi: 10.1016/j.bbrc.2020.09.018.
- [100] S. Vijayakumar and S. Ganesan, "Gold nanoparticles as an HIV entry inhibitor," *Curr. HIV Res.*, vol. 10, no. 8, pp. 643-646, 2012.
- [101] E. Paradowska et al., "Antiviral effect of nonfunctionalized gold nanoparticles against herpes simplex virus type-1 (HSV-1) and possible contribution of near-field interaction mechanism," *Molecules*, vol. 26, no. 19, p. 5960, 2021.
- [102] M. A. Meléndez-Villanueva et al., "Virucidal activity of gold nanoparticles synthesized by green chemistry using garlic extract," *Viruses*, vol. 11, no. 12, p. 1111, 2019.
- [103] J. Kim et al., "Porous gold nanoparticles for attenuating infectivity of influenza A virus," *J. Nanobiotechnology*, vol. 18, pp. 1-11, 2020.
- [104] X. Hang, H. Peng, H. Song, Z. Qi, X. Miao, and W. Xu, "Antiviral activity of cuprous oxide nanoparticles against Hepatitis C Virus in vitro," *J. Virol. Methods*, vol. 222, pp. 150-157, Sep. 2015, doi: 10.1016/j.jviromet.2015.06.010.
- [105] Y. Takeda, D. Jamsransuren, T. Nagao, Y. Fukui, S. Matsuda, and H. Ogawa, "Application of copper iodide nanoparticle-doped film and fabric to inactivate SARS-CoV-2 via the virucidal activity of cuprous ions (Cu⁺)," *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 87, no. 24, pp. e01824-21, 2021.
- [106] D. Lembo, M. Donalizio, A. Civra, M. Argenziano, and R. Cavalli, "Nanomedicine formulations for the delivery of antiviral drugs: a promising solution for the treatment of viral infections," *Expert Opin. Drug Deliv.*, vol. 15, no. 1, pp. 93-114, 2018.
- [107] S. Gupta, R. Bansal, S. Gupta, N. Jindal, and A. Jindal, "Nanocarriers and nanoparticles for skin care and dermatological treatments," *Indian Dermatol. Online J.*, vol. 4, no. 4, p. 267, 2013.
- [108] M.-Y. Lee et al., "Hyaluronic acid-gold nanoparticle/interferon α complex for targeted treatment of hepatitis C virus infection," *ACS Nano*,

vol. 6, no. 11, pp. 9522-9531, 2012.

- [109] F. B. Sulczewski, R. B. Liszbinski, P. R. T. Romão, and L. C. Rodrigues Junior, "Nanoparticle vaccines against viral infections," *Arch. Virol.*, vol. 163, pp. 2313-2325, 2018.
- [110] G. A. P. de Souza et al., "Nanoparticles as Vaccines to Prevent Arbovirus Infection: A Long Road Ahead," *Pathogens*, vol. 10, no. 1, p. 36, Jan. 2021, doi: 10.3390/pathogens10010036.
- [111] S. Al-Halifa, L. Gauthier, D. Arpin, S. Bourgault, and D. Archambault, "Nanoparticle-Based Vaccines Against Respiratory Viruses," *Front. Immunol.*, vol. 10, Jan. 2019, doi: 10.3389/fimmu.2019.00022.
- [112] J. R. Francica et al., "Thermoresponsive Polymer Nanoparticles Co-deliver RSV F Trimers with a TLR-7/8 Adjuvant," *Bioconjug. Chem.*, vol. 27, no. 10, pp. 2372-2385, Oct. 2016, doi: 10.1021/acs.bioconjchem.6b00370.
- [113] A. Dube, S. Egieyeh, and M. Balogun, "A Perspective on Nanotechnology and COVID-19 Vaccine Research and Production in South Africa," *Viruses*, vol. 13, no. 10, p. 2095, Oct. 2021, doi: 10.3390/v13102095.
- [114] A. Khurana et al., "Role of nanotechnology behind the success of mRNA vaccines for COVID-19," *Nano Today*, vol. 38, p. 101142, 2021.
- [115] Q. Geng et al., "Novel virus-like nanoparticle vaccine effectively protects animal model from SARS-CoV-2 infection," *PLOS Pathog.*, vol. 17, no. 9, p. e1009897, Sep. 2021, doi: 10.1371/journal.ppat.1009897.