

## مقاله مروری

# مروری بر کاربردهای فتو - 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. ازسوی 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 به عنوان 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 به عنوان ابزاری جدید و امیدوارکننده در مدیریت مؤثر عفونت‌های ویروسی در پزشکی آینده ظاهر می‌شود.

مژده بابادی<sup>۱</sup>

افشان شیرکوند<sup>۲</sup>

مریم سادات قرشی<sup>۳</sup>

پژوهشگر دکتری تخصصی فیزیک ماده  
چکال، دپارتمان فیزیک، دانشکده علوم پایه،  
دانشگاه شهید چمران اهواز

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

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

نویسنده مسئول: افشان شیرکوند

پست الکترونیکی:

[shirkavand@acecr.ac.ir](mailto:shirkavand@acecr.ac.ir)

شماره تماس:

02166462915

**کلیدواژه:** ضدویروسی، تشخیص، نانومواد، فتو، عفونت‌های ویروسی

## مقدمه

از زیرگروه H1 N1 است. ویرولانس که توسط ژن هماگلوتینین تعیین می‌شود، یک ژن نوترکیب بود که در اصل از آنفولانزای انسانی و آنفولانزای خوکی ناشی می‌شد و ویروس را بدخیمتر می‌کرد<sup>[6]</sup>. آبله (واریولا) قرن‌ها بشر را ویران کرد تا این‌که در سال 1980 ریشه کن شد. همه طبقات اجتماعی را تحت تأثیر قرار داد<sup>[8][7]</sup>. در قرن هجدهم در اروپا، سالانه حدود 4000000 نفر بر اثر آبله جان خود را از دست می‌دادند و یک سوم از بازماندگان نایینا شدند<sup>[8]</sup>. در انگلستان، این بیماری بهدلیل علائم (ضایعات پوستی برجسته) که به‌طور ناگهانی ظاهر می‌شود، "هیولا خالدار" نامیده شد. میزان مرگ و میر ۵۰-۶۰٪ بود و بازماندگان با اسکارهای مخفوف باقی ماندند. میزان مرگ و میر در نوزادان ۹۸-۹۹٪ بیشتر بود<sup>[8]</sup>. مجازی تنفسی درگاه معمول ورود ویروس آبله است. عفونت‌های پوست، ملتجمه و ترانس جفتی در موارد نادری رخ می‌دهد<sup>[9]</sup>.

سارس (سندرم حاد تنفسی شدید) اولین بیماری همه‌گیر جهانی در قرن بیست و یکم بود که منجر به ۸۰۹۸ مورد ابتلا و ۹/۶٪ مرگ و میر در ۲۹ کشور شد<sup>[11][10]</sup>. نتایج آزمایش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز<sup>۵</sup> به‌دست آمده 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 ۷ تا ۲ روزه است و علائم آن عبارتند از پرکسی پرودرما که می‌تواند با لرز، ضعف، تشنج، میالژی، تنگی نفس، سرفه خشک و سردرد همراه باشد<sup>[12]</sup>. ویروس کرونا سندرم تنفسی خاورمیانه<sup>۶</sup> 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 ۲۰۱۲ گزارش شد و اکثر موارد از عربستان سعودی گزارش شده بود. میزان مرگ و میر افراد مبتلا تقریباً ۴۰-۴۵٪ بود<sup>[13]</sup>. ویروس زیکا<sup>۷</sup> یک آربوویروس (ویروس منتقله از بندپایان) است که از طریق ناقلان پشه منتقل می‌شود. این ویروس اولین بار در سال ۱۹۴۷ از یک پستاندار و بعداً در سال ۱۹۴۸ در آفریقا از پشه‌ها جدا شد. ویروس

کشف ویروس موزاییکی تباکو<sup>۱</sup> یک نقطه عطف تاریخی در علم است. ایوانوفسکی، که پدر کشف ویروس بود، روی بیماری موزاییک تباکو که قبل اثبات شده بود که یک علت میکروبی دارد، کار کرد. این بیماری توسط دانشمندان قبلی به عنوان "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 تقسیم کننده دارد<sup>[1]</sup>. کشف تاریخی ویروس موزاییک تباکو در سال ۱۸۹۲ با کشف ویروس تب برفکی در سال ۱۸۹۸ دنبال شد. اولین ویروسی که در انسان کشف شد، ویروس تب زرد در سال ۱۹۰۱ بود<sup>[2]</sup>. گونه‌های ویروسی جدید که انسان‌ها را مبتلا می‌کنند از آن زمان با فراوانی سه یا چهار مورد در سال شناسایی شده‌اند<sup>[3]</sup>. ویروس‌ها مسئول بیش از دو سوم عفونت‌های انسانی هستند<sup>[4]</sup>.

فقدان درمان و ایمن‌سازی برای بیماری‌های عفونی بهدلیل 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)، مرس<sup>۲</sup> (سندرم تنفسی خاورمیانه)، ویروس نقص ایمنی انسانی نوع ۳<sup>۳</sup>، و همه‌گیری کنونی؛ کووید ۱۹ مهم هستند. آنفولانزای اسپانیایی<sup>۴</sup> یک بیماری همه‌گیر آنفولاenza بود که طی سال‌های ۱۹۱۸-۱۹۱۹ در سراسر جهان گسترش یافت و بیش از ۵۰ میلیون نفر را کشت (Trilla et al. 2008)<sup>[5]</sup>. بخش‌های RNA ژنومی ویروس آنفولانزای اسپانیایی از بافت‌های حفظ شده قربانیان آنفولاenza جدا شده و سه ژن از جمله ژن هماگ - گلوتینین<sup>۴</sup> به‌طور کامل توالی‌یابی شدند. این توالی‌های ژنی تأیید کردنده که عامل ایجاد کننده این آنفولانزای اسپانیایی یک ویروس آنفولانزای A

<sup>1</sup> Tobacco mosaic virus TMV

<sup>2</sup> MERS

<sup>3</sup> HIV-1

<sup>4</sup> (HA)

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 علائم مانند تب، خستگی، بشورات ماکولوپاپولار، سردرد، فارنژیت، لوفادنوفاتی، میاژی، آرتراژی، منژیت آسپیک، درد رترو- اوریتال، کاهش وزن، ناراحتی گوارشی، تعریق شبانه، افسردگی، وزخم‌های 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 سدروم حاد تنفسی (سارس) است[21]. ایست تنفسی به دلیل سدروم دیسترس تنفسی حاد علت اصلی مرگ و میر ناشی از کووید-19 می‌باشد[22].

## ۱- ساختار و طبقه‌بندی ویروس

توسعه فناوری‌های توالی‌بایبی ژن، توالی‌بایبی سریع ژنوم‌های ویروسی را ممکن می‌سازد و درنتیجه جنبه‌های اساسی مربوط به تکامل ویروس‌ها را توضیح می‌دهد. همچنین اجازه می‌دهد تا تعیین کننده‌های آتنی ژنی و اپیدیولوژی مولکولی ویروسی را بیان کند[23]. بنابراین، تعیین توالی ژنتیکی و تعیین منشاء 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 توالی‌بایبی و تقویت محور جدید، شناسایی نه تنها ویروس‌های جدیده، بلکه ویروس‌های کشت‌نشده را تسهیل کرده‌اند[26].

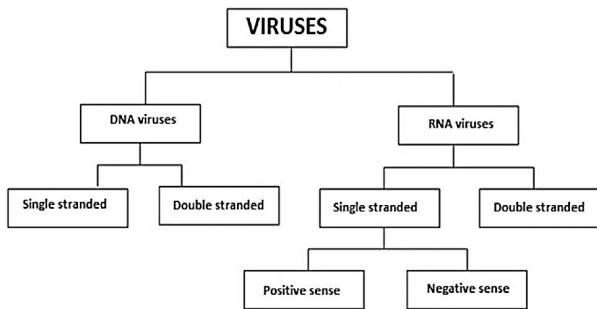
زیکا از طریق نیش پشه‌های آلوده، به انسان منتقل می‌شود. علائم بالینی عفونت زیکا اختصاصی نیستند و بنابراین می‌تواند به اشتباه به عنوان آریوویروس‌های دیگر مانند دنگی یا چیکونگونیا تشخیص داده شود. عفونت ویروس زیکاتها با علائم خفیف قبل از شیوع گسترده در فرانسه - پلی‌نزی در سال‌های 2013-2014 همراه بود. جدای از عوارض شدید عصبی، ناهنجاری‌های مادرزادی شدید از جمله میکروسفالی مرتبه باعفونت ویروس زیکانیز 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 غیرمرتب 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 خطروناک‌ترین گونه از 5 گونه ابولا است. ویروس ابولا (ویروس ابولا زئیر سابق)، ویروس ابولای سودان، ویروس ابولا بوندیبوگیو، ویروس ابولا رستون و ویروس ابولا جنگل تای[16]. همه‌گیری ابولا در پنج کشور گینه، نیجریه، سنگال، لیبریا 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 لشه حیوانات آلوده و مصرف گوشت بوته منتقل شده بود.

ویروس نقص ایمنی انسانی نوع 1 ویروس دیگری است که تأثیر محرابی بر سلامتی انسان دارد. این عامل سدروم 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 مراتی 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 بالتمور [34] ویروس‌ها را بر اساس ماهیت ژنوم (نوع، تعداد رشته‌ها و برای ژنوم تک رشته‌ای، حس) به هفت گروه طبقه‌بندی DNA می‌کند. گروه‌ها (شکل 1) ویروس‌های DNA دو رشته‌ای، RNA تک رشته‌ای مثبت (حس)، و 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 کرپتاز معکوس و ویروس‌های DNA دو رشته‌ای با ترانس کرپتاز معکوس [33].



شکل 1- طبقه‌بندی ویروس‌ها براساس ژنوم [31]

طبقه‌بندی دوم توسط کمیته بین‌المللی رده‌بندی ویروس‌ها<sup>2</sup> 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. سطح طبقه‌بندی توافق شده شامل ترتیب، خانواده، جنس و گونه است.

<sup>2</sup>. ICTV

تنوع ژنتیکی و اندازه جمعیت متراکم ویروس‌ها (بیش از  $10^{31}$  ویروس در بیوسفر) فشار گزینشی عظیمی بر ارگانیسم‌های سلولی ایجاد می‌کند [14][27][28]. ویروس‌ها عامل تعیین‌کننده انقلاب در ژنتیک مولکولی باکتری‌ها و زیست‌شناسی فاژ به سمت درک فرآیندهای بیولوژیکی مرکزی مانند همانندسازی، ترانس کرپتاز، و ترجمه هستند [26][29][30][27]. ویروس‌ها، انگل‌های کوچک، اجباری و درون سلولی هستند که حاوی ژنوم RNA یا DNA هستند که توسط پوشش پروتئینی محافظه کردگذاری شده با ویروس پوشانده شده‌اند [31]. تولید میله ویروس‌ها به مسیرهای پیچیده متابولیک و بیوسنتزی سلول‌های میزان یوکاریوتی یا پروکاریوتی خاصی بستگی دارد. وظیفه اصلی ویروس (ذره ویروس) وارد کردن ژنوم خود (RNA یا DNA) به سلول میزان خاص و بیان ژنوم ویروسی توسط سلول میزان است (رونویسی و ترجمه). ژنوم ویروس، اغلب با پروتئین‌های مرتبط، درون یک کپسید پروتئینی متقاضان بسته‌بندی شده است. نوکلئوپروتین‌ها همراه با ژنوم ویروسی، نوکلئوکپسید را تشکیل می‌دهند. برخی از ویروس‌ها دارای پوشش هستند در حالی که برخی دیگر به صورت ویروس‌های بدون پوشش<sup>1</sup> 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 پلی‌مورفیک 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 "کروی" هستند. تعداد کپسومرها و آرایش آنها در شناسایی و طبقه‌بندی ویروس مفید است. ژنوم ویروسی می‌تواند RNA یا DNA 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

<sup>1</sup>. Naked Virus

آنثی ژن هپاتیت A و B استفاده گسترده‌ای دارد. مزایای رادیوایمونوواسی، عینیت و وضوح بالا است و می‌توان از آن برای آزمایش تعداد زیادی نمونه در یک زمان استفاده کرد. ازسوی دیگر، رادیوایمونوواسی‌ها که به انتشار تشعشعات گاما توسط یک واکنش دهنده اینمی متصل به ایزوتوپ وابسته هستند، دارای معایب متعددی مانند ایزوتوپ‌های رادیواکتیو که دارای نرخ واپاشی ذاتی هستند و به این معنی است که معرف‌های برچسب دار رادیویی در طول زمان فعالیت خود را از دست می‌دهند. بنابراین، تکرار برچسب‌گذاری مجدد، آزمایش مجدد و استانداردسازی مجدد ضروری است. علاوه‌براین، رادیوایمونوواسی‌ها کاربر را در معرض خطر تابش بسیار قرار می‌دهند و تجهیزات گران‌قیمت برای اندازه‌گیری رادیوایمونوواسی‌های محدود کننده تششعع، به آزمایشگاه‌های اساسی نیاز دارد.<sup>[44]</sup>

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

الایزا آنتی ژن یا آنتی‌بادی را اندازه‌گیری می‌کند. برای تشخیص یک عامل عفونی، برچسب‌گذاری آنتی‌بادی معمولاً راحت‌تر از برچسب‌گذاری آنتی ژن است، زیرا دومی ممکن است به شکل خالص در دسترس نباشد. ساندویچ الایزا معمولاً برای تشخیص آنتی ژن در مایعات بدنی استفاده می‌شود. به منظور شناسایی آنتی ژن مورد نظر، از یک آنتی‌بادی خاص برای جذب آن استفاده می‌شود. آنتی‌بادی تسخیر شده به یک فاز جامد پوشانده می‌شود بعد از یک دوره نهفتگی

2- تکنیک‌های مورد استفاده در تشخیص بیماری‌های ویروسی در دهه‌های گذشته، تشخیص بیماری‌های عفونی عمده‌ای توسط کشت نمونه‌های بیولوژیکی به دست آمده از افراد مبتلا به دست 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. به عنوان مثال، در حالی‌که با روش‌های اپیدمیولوژیک مشخص شد که هپاتیت از راه‌های مختلف منتقل می‌شود، کشت نمونه‌های افراد مبتلا نتوانست عامل ایجاد کننده آن را کشف کند.<sup>[36][37]</sup> به طور مشابه، استفاده از تکنیک‌های مبتنی بر کشت برای گاستروانتریت ناشی از عوامل عفونی غیرباکتریایی در نوزادان و کودکان خردسال بی‌ثمر بود.<sup>[39]</sup> علاوه‌براین، 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 ایجاد کننده است، با این حال، نمی‌توان آن را به سرعت در درمان یک بیماری حاد مورد استفاده قرار داد.<sup>[40]</sup>

به دلیل این معایب، توسعه روش‌های تشخیص عوامل عفونی بدون کشت ضروری است. در برخی شرایط، میکروسکوپ الکترونی اینمی روشنی برای تشخیص عوامل ویروسی است.<sup>[41]</sup> دو عامل ایجاد کننده هپاتیت در انسان یعنی هپاتیت A و B و عوامل ایجاد کننده اسهال، به عنوان مثال، روتا ویروس و نوراک ویروس بودند که برای اولین بار با استفاده از میکروسکوپ الکترونی شناسایی و برای توصیف اپیدمیولوژی اصلی این عوامل ایجاد کننده استفاده شد.<sup>[42][43]</sup> اگرچه میکروسکوپ الکترونی نقش مهمی در درک ویروس‌ها ایفا می‌کند، نیاز به فناوری پیچیده به عاملی محدوده کننده برای کاربرد عمومی این تکنیک تبدیل شده است. بنابراین، نیاز فوری برای توسعه روش‌های بهتر برای تشخیص آنتی ژن‌های غیرقابل کشت وجود دارد. هرچند تکنیک‌های متعددی توسعه یافته‌اند، رادیوایمونوواسی<sup>1</sup> روشنی است که برای تشخیص

1. RIA

میبخشد و زمان عملی را کاهش می‌دهد. به علاوه، روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز زمان حقیقی عملکرد تقویت و تشخیص مولتی پلکس را در داخل یک لوله واحد امکان‌پذیر می‌کند. در برخی از سیستم‌های واکنش زنجیره‌ای پلیمراز زمان حقیقی منتخب، حداقل چهار محصول تقویت در یک لوله تک قابل تشخیص هستند[54]. علی‌رغم کاربرد گسترده، پورحسین و همکاران بیان کردند که واکنش زنجیره‌ای پلیمراز معمولی و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز زمان حقیقی، که به تازگی توسعه یافته، نیاز به یک دستگاه گران قیمت، استفاده از سوم مواد سلطانزا، آشکارسازهای فلورسانس، و پرسنل ماهر برای عملیات دارند[55].

در مطالعه دیگری، نوتامی و همکاران روشی را برای تکثیر اسیدهای نوکلئیک به نام تقویت هم‌دمایی به واسطه حلقه<sup>3</sup> 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[56][57]. در دو دهه اخیر، روش تقویت هم‌دمایی به واسطه حلقه به عنوان یک رویکرد کارآمد، سریع و مقرن 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 پلیمراز شناسایی نشده باقی‌مانده است. برای واکنش زنجیره‌ای که دارای تنوع توالی بالایی در بین سویه‌ها هستند، ویروس‌هایی که طراحی پرایمر و پروب نیاز به بررسی مداموم در توالی‌های جدید منتشر شده دارد. عدم تطابق بسیار کمی به عنوان یک یا دو عائل در یک پرایمر، راندمان تقویت را کاهش می‌دهد، درحالی که 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.

<sup>3</sup>. LAMP

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 آنتی‌زن‌هایی 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 تها یک آنتی‌بادی است[47][45]. اشکال سیستم الیزا این است که برای افزایش حساسیت، به دوره‌های نهفتگی طولانی‌تری نیاز دارد[40].

معمولًا از آزمایش‌های مرسوم برای تشخیص ویروس مانند سنجش ایمونوسوربنت متصل به آنزیم جذب آنتی‌زن (الیزا)، سنجش تک لایه‌های پراکسیداز ایمنی<sup>1</sup> و سنجش فلورسنت ایمنی<sup>2</sup> استفاده می‌شود، اما این روش‌ها اغلب پرزمخت، وقت‌گیر و حساسیت کمتری دارند[50][49][48]. اخیراً واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به عنوان واکنش حساس‌تر، سریع‌تر و خاص‌تر برای تشخیص ویروس شناسایی شده است[52][51]. هنگامی که عالم بالینی مشابهی وجود دارد، تمایز مناسب عوامل بیماری‌زا برای تشخیص دقیق بیماری ضروری است. تقویت جدأگانه هر هدف برای سنجش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به طور اختصاصی مورد نیاز است و بنابراین منبع فشرده و پرهزینه است. سنجش‌های مولتی پلکس واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به کار گرفته شده در تشخیص بالینی به طور قابل توجهی سودمند هستند، زیرا چندین ویروس را می‌توان در یک مخلوط واکنش به طور همزمان تقویت کرد و تشخیص را مقرن به صرفه می‌سازد[53]. معمولًا سنجش‌های مولتی پلکس واکنش زنجیره‌ای پلیمراز هیبریداسیون پروب را پس از اتمام واکنش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز متمایز می‌کند. استفاده از سنجش‌های واکنش زنجیره‌ای پلیمراز زمان حقیقی برای شناسایی اختصاصی توالی هدف با استفاده از پروب‌های فلورسانس، ویژگی سنجش را بهبود

<sup>1</sup> IPMA

<sup>2</sup>. IFA

واکسن‌های مبتنی بر ویروس معمولاً<sup>۱</sup> به ویروس‌های نشأت‌گرفته از بیمار نیاز دارند، درحالی‌که سایر دسته‌ها می‌توانند از توالی‌های ژنومی ویروسی برای تسریع توسعه واکسن ضدویروسی استفاده کنند[61]. اگرچه این‌سازی 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 میزان مبتلا جلوگیری کنند، در مبارزه با عفونت‌های ویروسی مهم هستند. این داروها باید بدون تداخل با فرآیندهای سلولی، اثر مهاری قوی و خاصی را بر روی تکثیر ویروس القا کنند[62]. زمینیک و استفسنون مهار خاص توالی از تکثیر ویروس توسط الیگونوکلئوتیدهای DNA آتنی‌سنس را بیان کردنند[63]. با این حال، درمان‌های ضدویروسی مبتنی بر آتنی‌سنس به دلیل مشکلات مرتبط با سمیت الیگونوکلئوتیدها، نایابداری آنها در سرم و تحويل مشکل‌ساز به سلول‌های هدف مناسب، تقریباً منحل شده‌اند. بنابراین، نسل جدیدی از ترکیبات ضدویروسی مبتنی بر اسیدنوکلئیک مانند ریبوزیم‌ها، DNA و RNAs گسترش یافته‌اند اما نتوانستند بر مشکلات قبلی غلبه کنند. این اشکالات را می‌توان با استفاده از اسیدهای نوکلئیک اصلاح شده شیمیایی به جای استفاده از الیگونوکلئوتیدهای طبیعی DNA/RNA بطرف کرد[62].

تعداد 37 داروی ضدویروسی دارای مجوز براساس آرمنتاریوم فعلی، برای شیمی درمانی عفونت‌های ویروسی وجود دارد[64]. 19 ترکیب به طور رسمی برای درمان عفونت‌های ویروس نقص اینمی انسانی تأیید شده است. آنها عبارتند از (i) مهارکننده‌های ترانس کرپیتاز معکوس نوکلئوزیدی<sup>۲</sup>، (ii) مهارکننده‌های ترانس کرپیتاز معکوس نوکلئوتیدی<sup>۳</sup>، (iii) مهارکننده‌های ترانس کرپیتاز معکوس غیرنوکلئوزیدی<sup>۴</sup>، (iv) مهارکننده‌های پروتاز، و (v) مهارکننده‌های ورود ویروسی. برای مدیریت عفونت‌های مزم من هپاتیت B، لامیوودین، آدفوویر و دیپیوکسیل تأیید شده‌اند. آسیکلورویر، والاسیکلولویر، پنسیکلولویر، فامسیکلولویر، ایدوکسوریدین، تری‌فلوریدین، و بربودین

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. درنتیجه، نمونه‌های بالینی مهم باید با روش‌های جایگزین تجزیه و تحلیل شوند[58].

ویژگی‌هایی مانند اندازه کوچک، بیولوژی ساده و انگل‌های درون سلولی اجباری به عنوان 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 در حال حاضر زمان بر، نیازمند کار یابی 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 تعزیز ویروس عفونی با عبور سریال به میزان جدید که منجر به کشف واکسن هاری لویی پاستور شد[60].

موفقیت واکسیناسیون یا اینمن‌سازی در برابر بیماری‌های ویروسی بستگی به القای یک پاسخ اینمی کافی و مناسب نسبت به آتنی‌ژن‌های ویروسی محافظت دارد. کارایی واکسن بر حسب مقدار آتنی‌بادی‌های القا شده و قدرت آنها، زمان مورد نیاز برای تولید آتنی‌بادی، پتانسیل یادآوری، و ظرفیت آتنی‌بادی‌ها برای تاثیرگذاری 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.

<sup>1</sup> NRTIs

<sup>2</sup> NtRTI

<sup>3</sup> NNRTIs

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

لئوپارس و همکاران بیان کردند که درمان ترکیبی ضدترورویروسی بسیار فعال که مبتنی بر مهارکننده‌های نوکلئوزیدی ترانس کریپتاز معکوس است، درمان‌های ایدز را در سال‌های اخیر تغییر شکل داده است. درمان ترکیبی ضدترورویروسی بسیار فعال می‌تواند با موقوفیت تکثیر ویروس را در دراز مدت سرکوب کند، اما سمیت قابل توجهی دارد که می‌تواند به طور 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 آسیکلولوویر<sup>5</sup> درمان می‌شود. مورفین و تاونوت مقاومت در برابر آسیکلولوویر را در بین بیماران دچار نقص ایمنی و بیماران پیوند مغز استخوان آلوزنیک گزارش کردند. براساس این یافته‌ها، جهش‌های خاصی مرتبط با ژنوم ویروسی مسئول مقاومت ویروس آسیکلولوویر هستند و بنابراین برخی از سویه‌های ویروس هرپس سیمپلکس به ویروس آسیکلولوویر مقاوم هستند. درنتیجه، این به عنوان یک اشکال داروهای ضدویروسی در مدیریت عفونت‌های ویروسی ظاهر می‌شود [70].

با توجه به اشکالات فوق الذکر 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.

<sup>5</sup>. ACV

برای درمان ویروس هرپس سیمپلکس<sup>1</sup> و عفونت‌های ویروس واریسلا - زوستر استفاده می‌شود. ثابت شده است که گانسیکلولوویر، فوسکارنرت، والگانسیکلولوویر، فومی ورسن و سیدوفوویر در درمان عفونت‌های سیتومگالوویروس در بیماران دچار نقص ایمنی (بیماران ایدز مبتلا به رتینیت CMV) مؤثر هستند. آماتاتدین و ریماتاتدین، مهارکننده‌های نورآمینید مانند زانامیویر و اوسلاتامیویر برای درمان و پیشگیری از عفونت‌های آنفولاپرا در دسترس هستند. ریباویرین در مدیریت عفونت‌های ویروس سنسیشیال تنفسی<sup>2</sup> استفاده می‌شود در حالی که ترکیب ریباویرین با اینترفرن α<sup>3</sup> پگیله شده به عنوان درمان عفونت‌های ویروس هپاتیت C<sup>4</sup> پذیرفته شده است[64].

درمان ترکیبی ضدترورویروسی بسیار فعال<sup>4</sup> مسئول کاهش تدریجی موارد مرگ و میر ناشی از ایدز از سال 1996 بوده است و به طور قابل توجهی نمایه بالینی ویروس نقص ایمنی انسانی را از یک بیماری کشنده حاد به یک بیماری مزمن سرپایی تغییر داده است. درمان ترکیبی ضدترورویروسی بسیار فعال شامل استحکام دوگانه نوکلئوزیدی و یک مهارکننده ترانس کریپتاز معکوس غیرنوکلئوزیدی یا PI/r (ریتوناویر؛ مهارکننده پروتاز افزایش یافته دارویی) است. ترکیبات سه‌گانه مهارکننده ترانس کریپتاز معکوس نوکلئوزیدی کمتر از ترکیبات 2NRTIs/NNRTI و 2NRTIs/PI/r مؤثر هستند [65].

کاربرد بالینی استراتژی‌های درمانی امروزی با چندین اشکال همراه است. به عنوان 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]. به طور مشابه، مسائل مربوط به استفاده از تداخل RNAi (RNAi) مانند عدم توانایی RNA در عبور از غشای سلولی بهدلیل اندازه و بار آنیون آن و همچنین سمیت وجود دارد[67]. با توجه به این موارد،

<sup>1</sup>. HSV

<sup>2</sup>. RSV

<sup>3</sup>. HCV

<sup>4</sup>. HAART

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.

### ۱. نانوذرات طلا (AuNPs)

در حال حاضر کیت‌های الایزای جذب ایمونوگلوبولین<sup>2</sup> M بسیار حساس برای تشخیص سریع ژنوم RNA تکریشهای با سوی مثبت حاوی ویروس آنسفالیت ژاپنی<sup>3</sup> 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. درنتیجه، تکنیک‌هایی مانند واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ترانس کراپیتاز معکوس مرسوم<sup>4</sup> و سنجش‌های مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ترانس کراپیتاز معکوس زمان حقیقی برای تشخیص ژنوم ویروس آنسفالیت ژاپنی استفاده شده‌اند. هوانگ و همکاران اثر نانوذرات طلا بر روی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ترانس کراپیتاز معکوس و سنجش کمی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ترانس کراپیتاز معکوس زمان حقیقی در تشخیص ویروس آنسفالیت ژاپنی را ارزیابی کردند. جالب توجه است که بازده تقویت محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حضور نانوذرات طلا افزایش می‌یابد درحالی‌که زمان واکنش زنجیره‌ای پلیمراز را کوتاه می‌کند. محصول مورد انتظار (قطعه تقویت شده bp 306) پس از 35 چرخه تقویت در غیاب نانوذرات طلا تولید می‌شود درحالی‌که این قطعه پس از 25 چرخه در حضور نانوذرات طلا در غلظت 1/6 نانومولار و 3/2 نانومولار شناسایی شد. با این حال، برهم‌کش هموگلوبین با نانوذره طلا و حضور مهارکننده‌های واکنش زنجیره‌ای پلیمراز مانند لاکتوفرین و ایمونوگلوبولین G<sup>5</sup> منجر به کاهش عملکرد واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ترانس کراپیتاز زمان حقیقی در سنجش‌های مبتنی بر خون در مقایسه با سنجش‌های تشخیص مبتنی بر محیط کشت می‌شود. بنابراین 1/6 نانومولار نانوذره طلا به عنوان غلظت بهینه در یک سنجش تشخیصی مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ترانس کراپیتاز 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 گران قیمت، افراد آموزش‌دیده، هزینه بالا و زمان طولانی‌تر، توسعه تکنیک‌های جدید را در تشخیص عوامل بیماری‌زا ضروری می‌کند. درنتیجه، تکنیک‌های آشکارسازی مدرن حساس، سریع و اقتصادی با استفاده از نانومواد توسعه یافته‌اند. از نانومواد بدليل ویژگی‌های منحصر به فردشان مانند خواص مغناطیسی، الکترویکی و کاتالیزوری، در آن تکنیک‌ها استفاده می‌شود [71]. عمولاً 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 به طور خاص به پاتوژن متصل شود. از این رو عمولاً 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 (به عنوان مثال تشخیص مبتنی بر فلورسانس، نور مولکولی<sup>1</sup>، تشخیص ضریب شکست، حسگر زیستی مبتنی بر تشیید پلاسمون سطحی)، (ii) مغناطیسی (مانند تکنیک NMR)، حسگرهای میدان مغناطیسی مبتنی بر دستگاه تداخل‌سنج کواترومی ابرسانایی، حسگرهای زیستی مبتنی بر مقاومت مغناطیسی)، (iii) الکتروشیمیایی (به عنوان مثال ولتاوری نواری آندی)، حسگرهای آمپرومتریک، حسگرهای پتانسیومتریک، 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 سرمهادو طلبان سالم و بیماران ویروس هپاتیت C مزمن با بافر هیبریداسیون و یک پرایمر خاص که RNA ویروس هپاتیت C را هدف قرار می‌دهد، محلول شد. محلول واکنش دناتوره شد، آئیل 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 مشبت در عرض یک دقیقه مشاهده شد درحالی که نمونه های ویروس هپاتیت C منفی رنگ قرمز اصلی را حفظ کردند (شکل 2). در غیاب ویروس هپاتیت C، پرایمرها آزادند تا نانوذرات طلا را تشییت کنند، از این‌رو، بر روی نانوذرات طلا جذب می‌شوند و از تجمع جلوگیری می‌کنند. درنتیجه 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 سویه مشبت و ویروس RNA پوششی است که مستول گسترش سندروم نقص ایمنی اکتسابی (ایذر) است. تشخیص ایدز با تشخیص ویروس نقص ایمنی انسانی نوع 1 RNA، آنتی‌ژن کپسید (p24) و آنتی‌بادی ضد ویروس نقص ایمنی انسانی به دست می‌آید. تانگ و هیولت امکان استفاده از سنجش تقویت بارکد زیستی<sup>2</sup> 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 یوروپیوم<sup>3</sup> (Eu<sup>+</sup>) اصلاح کردند که در آن نانوذرات Eu<sup>+</sup> جایگزین نانوذرات طلا در سنجش تقویت بارکد زیستی شده بودند. این منجر به افزایش بیشتر حساسیت و کاهش زمان انکوباسیون شده است [74].

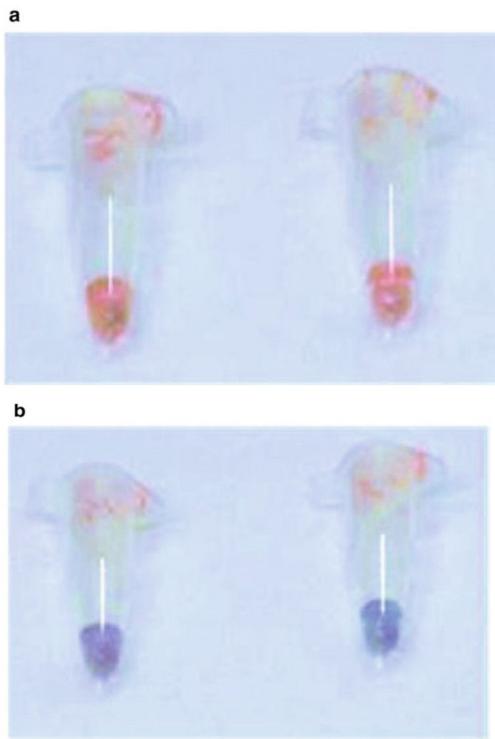
<sup>2</sup>. BCA<sup>3</sup> ENIA

Huang et al. 2008)[72]. افزایش راندمان واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ترانس کرایپتاز معکوس و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز 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. علاوه‌بر این، برهم‌کش انتخابی نانوذره طلا با DNA تک رشتہ‌ای ممکن است جفت‌شدنی نادرست<sup>1</sup> بین الگو و پرایمرها را کاهش دهد و ویژگی و مقدار محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمراز را افزایش دهد. بنابراین، هوانگ و همکاران به این نتیجه رسیدند که واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ترانس کرایپتاز معکوس مبتنی بر نانو طلا و سنجش کمی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ترانس کرایپتاز معکوس زمان حقیقی به عنوان ابزارهای تشخیصی اولیه ساده، حساس و سریع برای تشخیص و کمی‌سازی ویروس آسفالیت زایپسی 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 سویه مشبت است، استفاده کرد. به طور معمول از روش‌های ایمنی مرتبط با آنزیم و سنجش بلات ایمنی نوترکیب برای شناسایی آنتی‌بادی‌های ضد ویروس هپاتیت C استفاده می‌شود در حالی که واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ترانس کرایپتاز معکوس مرسوم در تشخیص کیفی RNA ویروس هپاتیت C استفاده می‌شود. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز 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 توسعه یافته 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

<sup>1</sup>. Mispairing

ویروس SARS-CoV-2 جدید یک ویروس RNA تک رشته‌ای با سویه مثبت است که مستول شیوع بیماری کروناویروس جدید (کروید ۱۹) است. حسگر زیستی با ترکیب اثر فتوترمال پلاسمونیک<sup>۳</sup> و انتقال حسگر رزونانس پلاسمون سطحی موضعی ایجاد شد. تراشه پلاسمونیک با توزیع دوبعدی نانوجزیره<sup>۴</sup> طلای عامل‌دارشده SARS (با گیرنده‌های DNA مکمل برای تشخیص توالی-AuNIs) کاربردی شد. تراشه AuNIs قادر به تولید گرمای محلی فتوترمال پلاسمونیک پس از روش‌شدن در فرکانس تشدید پلاسمونیک و انتقال هیبریداسیون درجا برای تشخیص بسیار حساس و دقیق ویروس بود.[78]



شکل ۲- روش سنجش رنگ‌سنگی RNA ویروس هپاتیت C با استفاده از نانوذرات طلا اصلاح نشده (عکس‌ها ۱ دقیقه پس از افزودن نانوذره طلا گرفته شده‌اند). (a) گونه‌های منفی RNA ویروس هپاتیت C، (b) گونه‌های مثبت RNA ویروس هپاتیت C [73]

<sup>3</sup> PPT

<sup>4</sup> Nanoisland

لی و همکاران از نانوذرات طلا ثبت شده با اسید سیالیک<sup>۱</sup> برای تشخیص ویروس آنفلانزا که یک ویروس RNA با سویه منفی است، استفاده کرد. پروتئین هماگلوتینین ویروسی معمولاً به گروه‌های اسیدسیالیک موجود در سطح سلول‌های اپیتلیال ریه متصل می‌شود. در این روش، مولکول‌های اسید سیالیک روی سطح نانوذرات طلا ثبت شده با اسیدسیالیک با هماگلوتینین برهمنش دارند که منجر به تغییر رنگ‌سنگی در محلول نانوذرات طلا ثبت شده با اسیدسیالیک می‌شود. تجمع نانوذرات طلا ثبت شده با اسیدسیالیک روی سطح ویروس منجر به افزایش جذب در طول موج 600-610 نانومتر در طیف جذبی شد که در شکل ۳ نشان داده شده است [75].

به طور مشابه، لیو و همکاران، از نانوذرات طلا عامل‌دار برای تشخیص سریع و انتخابی ویروس آنفلانزا A استفاده کردند. در این رویکرد، آنتی‌بادی‌های مونوکلونال ضد‌هماگلوتینین خاص آنفلانزا (mAb) با نانوذرات طلا ترکیب شدند تا پرورب‌های mAb-AuNP تولید کنند. این ویروس دارای مکان‌های شناسایی متعددی برای پرورب‌های mAb-AuNP بر روی سطح خود است که باعث تجمع پرورب‌های mAb-AuNP می‌شود. این منجر به یک شیفت قرمز در طیف جذب می‌شود که به جفت‌شدن پلاسمونین بین نانوذرات طلا مجاور نسبت داده می‌شود. تغییر رنگ از قرمز به بنفش با چشم غیرمسلح مشاهده شد [76].

باسو و همکاران از شیفت رزونانس پلاسمون سطحی موضعی<sup>۲</sup> 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 ۴). علاوه‌بر این، این رویکرد جدید به طور قابل توجهی مدت زمان آزمایش را در حدود ۳ تا ۱ روز برای تشخیص معمولی به کمتر از ۵ دقیقه کاهش داده است [77]. اخیراً، کیو و همکاران، یک حسگر زیستی پلاسمونیک دوکاره برای تشخیص ویروس جدید SARS-CoV-2 معرفی کردند.

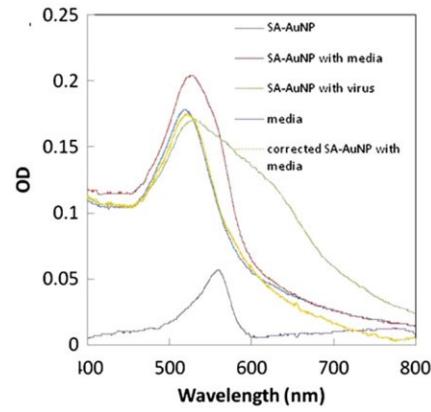
<sup>1</sup> SA-AuNP

<sup>2</sup> LSPR

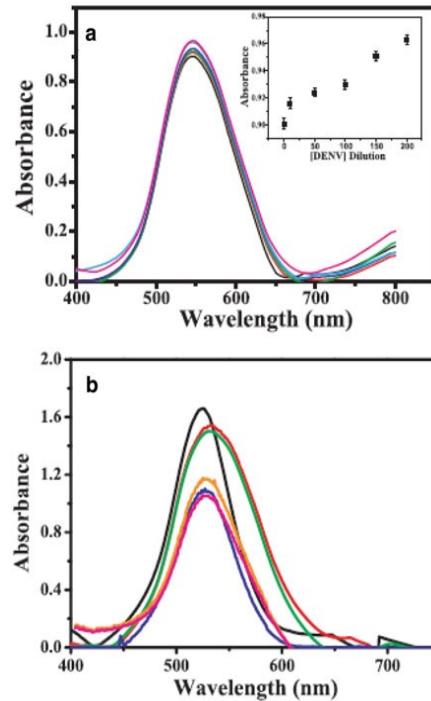
## 2. نانوذرات نقره (AgNPs)

از نانوذرات نقره در تشخیص ویروس نیز استفاده می‌شود. به عنوان مثال، نقاط کوانتمومی گرافن نانوذرات نقره - تیول (GQD-SH) به عنوان یک زیرلایه برای بارگذاری آنتی‌بادی برای شناسایی آتنی‌زن هسته ویروس هپاتیت C مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این رویکرد، نانوذرات نقره روی گروه‌های SH از نقاط کوانتمومی گرافن از طریق تشکیل پیوند Ag-S بی‌حرکت شدند. ضدویروس هپاتیت C (آنتی‌بادی) بر روی سطح الکتروود کربن شیشه‌ای از طریق برهم‌کنش بین گروه عاملی  $\text{NH}_2$ - ضد ویروس هپاتیت C و نانوذرات نقره بارگذاری شد. ریبوفلاوین به عنوان یک پروب برای تشخیص ولتا متراز پالس افتراقی آتنی‌زن هسته ویروس هپاتیت C استفاده شد. تشخیص خاص بین آتنی‌بادی‌ها و آتنی‌زن‌ها منجر به کاهش سیگنال الکتروشیمیایی شد. این روش ابزاری مؤثر برای تشخیص آتنی‌زن‌های هسته ویروس هپاتیت C با کارایی و حساسیت بالا بود [79].

یک نانو برچسب رسانای بسیار حساس برای ایمونوواسی 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 آتنی‌بادی‌های پلی‌کلورنال (PAb) H7 که به سطح G 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 به عنوان یک معرف رنگ‌سنگی برای تشخیص DNA براساس تجمع نانوذرات ناشی از اسیدنوکلئیک پیروولیدینیل پیپید (acpcPNA) استفاده کردند. لیزین با بار مثبت در پایانه C پروب acpcPNA باعث تجمع آنیون سیترات نانوذرات نقره ثبت شده در غیاب DNA مکمل شد. با این حال، در حضور DNA مکمل، یک DNA آنیونی-acpcPNA-دوبلکس تشکیل شده است. در نتیجه، پراکنده‌گی نانوذرات نقره باعث تغییر رنگ قابل مشاهده شده است. این روش برای تشخیص کرونای ویروس سندروم 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 تجمیعی DENV

(a) نمونه تجمیعی DENV با تیتر 107 TCID<sub>50</sub>/mL رقیق شده به 0.01/50 میکرولیتر PBS (خط سیاه)، 0.1/10 میکرولیتر PBS (خط قرمز)، 0.1/150 میکرولیتر PBS (خط سبز)، 1/100 میکرولیتر PBS (خط آبی)، 1/200 میکرولیتر PBS (خط صورتی) و 2/200 میکرولیتر PBS (خط بنفش). درج شکل منحنی کالیبراسیون شکل برای تجمیعی DENV (b) طیف جذب فرابنفش-مرئی کنترل منفی است. نانوذرات طلا (خط سیاه)، ZIKV (خط نارنجی) و YFV (خط صورتی) [77].

(آنتی‌بادی) بر روی سطح الکتروود کربن شیشه‌ای از طریق برهم‌کنش بین گروه عاملی  $\text{NH}_2$ - ضد ویروس هپاتیت C و نانوذرات نقره باргذاری شد. ریوفلاوین به عنوان یک پروب برای تشخیص ولتا مترا 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 برقسب رسانای بسیار حساس برای ایمونوواسی الکتروشیمیایی نوع ساندویچ توسط هویانگ و همکاران با استفاده از نانوذرات نقره - گرافن (AgNPs-G) برای تشخیص ویروس آنفلونزای پرنده‌گان H7 (AIV H7) توسعه داده شد. سنجش با آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال (PAbs) H7 که به سطح G 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 به عنوان یک معرف رنگ‌سنجدی برای تشخیص DNA بر اساس تجمع نانوذرات ناشی از اسیدنوکلئیک پیرولیدینیل پتید (acpcPNA) استفاده کردند. لیزین با بار مثبت در پایانه C پروب acpcPNA باعث تجمع آنیون سیترات نانوذرات نقره شیبت‌شده در غیاب DNA مکمل شد. با این حال، در حضور DNA مکمل، یک DNA آنیونی-acpcPNA دوبلکس تشکیل شده است. در نتیجه، پراکنده‌گی نانوذرات نقره باعث تغییر رنگ قابل مشاهده شده است. این روش برای تشخیص کرونایروس سندرم تنفسی خاورمیانه (MERS-CoV) که یک ویروس RNA با سویه مثبت و تکرشته‌ای است و همچنین ویروس پاپیلومای انسانی<sup>3</sup> که یک ویروس DNA دایره‌ای دو رشته‌ای است، استفاده شد. نتایج این مطالعه کاربرد آن را به عنوان 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 انسانی<sup>1</sup> که یک ویروس DNA دایره‌ای دو رشته‌ای است، استفاده شد. نتایج این مطالعه کاربرد آن را به عنوان 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 رنگ‌سنجدی با استفاده از نانوخوشه‌های مس برای شناسایی ویروس هپاتیت B<sup>2</sup> 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 به عنوان 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. علاوه بر این، 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. به عنوان مثال، نقاط کواتومی گرافن نانوذرات نقره - تیول (GQD-SH) به عنوان یک زیرلایه برای باргذاری آنتی‌بادی برای شناسایی آنتی‌ژن هسته ویروس هپاتیت C مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این رویکرد، نانوذرات نقره روی گروههای SH از نقاط کواتومی گرافن از طریق تشکیل پیوند Ag-S به حرکت شدند. ضد ویروس هپاتیت C

<sup>3</sup>. HPV

1. HPV

2. HBV

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. مائو و همکاران یک روش رنگ‌سنگی با استفاده از نانوخوشهای مس برای شناسایی ویروس هپاتیت B<sup>1</sup> 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 به عنوان یک روش تشخیص ویروس سنسیشیال تنفسی با استفاده از آنتی‌بادی پلی کلونال ضدویروس سنسیشیال 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 سنسیشیال تنفسی در مقایسه با نانوذرات نقره و طلا کارآمدتر و اختصاصی‌تر هستند. علاوه بر این، 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].

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

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

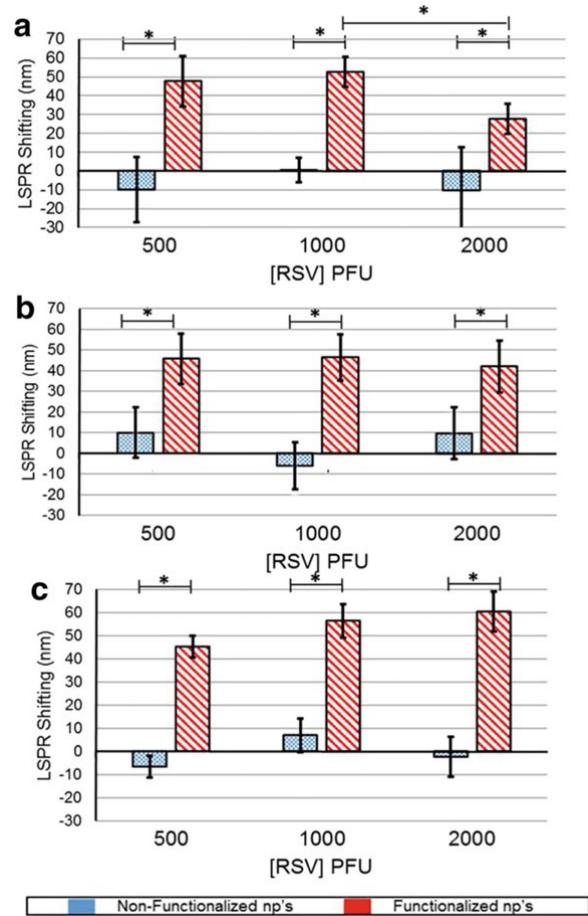
در مطالعه دیگری، یک حسگر الکتروشیمیایی بر روی سطح الکترود کربن شیشه‌ای اصلاح شده نانولله‌های کربنی چند‌جداره (MWCNTs) برای تشخیص ویروس نقص ایمنی انسانی ساخته شد. این روش یک روش سریع، حساس و بسیار ساده برای شناسایی مستقیم آنتی‌ژن p-24 است. این حسگر بر روی نانولله‌های کربنی چند جداره بر روی سطح یک الکترود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

<sup>1</sup> 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 سنتر 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 68 MHV 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 کردد [87].

در یک مطالعه بسیار جدید، یک حسگر ایمنی با استفاده از نقاط کوانتومی ترکیب شده استرپتاویدین (QDs/SA) برای تشخیص پروتئین های غیرساختاری نوع 11 ویروس دنگی معروفی 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 بیوتینیله 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 آپتمر با پشتیبانی از نانوذرات برای تشخیص ویروس هپاتیت C معرفی کردند. به کمک پروب تصویربرداری NS3 ویروس هپاتیت C متشكل از نانوذرات نقاط



شکل 5- مودار شیفت رزونانس پلاسمون سطحی موضعی را در تیتهای مختلف ویروس سنسیشیال تفسی در 30 دقیقه (a)، 60 (دقیقه (b) و 120 دقیقه (c) برای نانوذرات نقره ای ای انتی 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 بستره 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 آنفلونزا پرنده H9 و ویروس 68 MHV براساس برهم کش آنتی بادی - آنتی ژن

<sup>1</sup>. NS1

تشخیص پرایمر اجماع دنگی را در محدوده زپتومولار 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. به عنوان مثال، گایکواد و همکاران، فعالیت ضدویروسی نانوذرات نقره بیوژنیک را در برابر ویروس هرپس سیمپلکس نوع 1 و 2 و ویروس پارآنفلونازی انسانی نوع 3 ارزیابی کردند. این مطالعه نشان داد که برهمکنش بین نانوذرات نقره ویروس‌های آزمایش شده به اندازه و پتانسیل زتا نانوذرات نقره بستگی دارد. علاوه بر این، فعالیت نانوذرات نقره به منبعی که برای تهیه نانوذرات نقره استفاده می‌شود، نیز بستگی دارد. فعالیت ضدویروسی در نانوذرات نقره تولید شده توسط گونه‌های فوزاریوم اکسی اسپوروم و کرولاریا در مقایسه با نانوذرات نقره سنتز شده از سایر منابع قارچی به طور 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 اینمی 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 اینمی 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، همچو شی و عفونت‌زا بی جلوگیری می‌کند [95]. به طور مشابه، شیانگ و همکاران برهمکنش نانوذرات نقره با ویروس آنفلونازی A H1 N1 A را ارزیابی کردند که در آن سلول‌های MDCK به عنوان مدل عفونت استفاده شد. نتایج آنها نشان داد که نانوذرات نقره می‌توانند آپوپتوز ناشی از ویروس آنفلونازی MDCK را در سلول‌های کااهش دهند.[96].

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

### 7. سایر نانومواد

یانگ و همکاران یک روش فلورورایمونواسی برای تشخیص آنتی‌زن سطحی هپاتیت B (HBsAg) با حد تشخیص 0/1 نانوگرم بر میلی‌لیتر معرفی کردند. این روش از یک سیستم برچسب‌گذاری مبتنی بر نانوذرات سیلیس هیریدی فلوروفور<sup>1</sup> استفاده کرد و خواص نوری عالی را نشان داد. حساسیت این سیستم جدید برچسب‌گذاری مبتنی بر نانوذرات سیلیس هیریدی فلوروفور در مقایسه با روش اینمی مربوطه که با برچسب‌گذاری مستقیم فلوروفور انجام شد، به طور قابل توجهی افزایش یافت (Yang et al. 2004).[90]

یک سیستم آپتاسنسور فلورسنت توسط پانگ و همکاران برای تشخیص پروتئین هماکلولوتینین ویروس H5N1 توسعه داده شد. در این روش، آپتامرهای ضد HA<sup>1</sup> بر روی سطح نانوذرات Ag@SiO<sub>2</sub> ثابت شدند و از مولکول‌های نارنجی تیازول به عنوان برچسب فلورسنت استفاده شد. عدم نیاز به برچسب‌گذاری کووالانسی با فلوروفورها به آپتامر و نویز سیار کم پس‌زمینه بعضی از مزایای این روش بود[91]. به همین ترتیب، یک حسگر زیستی الکتروشیمیایی تقویت‌شده مبتنی بر -1- نفتول به عنوان یک ماده کاتروکاتیو و کامپوزیت‌های اکسیدگرافن / Pt/CeO<sub>2</sub> به عنوان تقویت‌کننده کاتالیزوری برای تشخیص حساس آنفلونزا ساخته شد [92]. در مطالعه دیگری، حسگر زیستی مبتنی بر نانوالیاف Mn<sub>2</sub>O<sub>3</sub> نیمه‌رسانا الکترورسی 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

<sup>1</sup>. FHS

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

ملندز - ویلانووا و همکاران، فعالیت ضدویروسی نانوذرات طلا بیوژنیک تهیه شده از عصاره سیر را گزارش کردند. این نانوذرات طلا تکثیر ویروس سرخک را در سلول‌های Vero با 8.829 میکروگرم بر میلی لیتر از EC<sub>50</sub> مهار کردند. فرض بر این بود که با سطحی مثبت نانوذرات طلا و با منفی غشاها ویروسی اتصال نانوذرات 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 حفاظت شده در سویه‌های مختلف ویروس آنفلوانزا است که واسطه اتصال ویروس با گیرنده‌های سلول میزبان است. درنتیجه، یک هدف ضدویروسی مؤثر در نظر گرفته می‌شود. کیم و همکاران نانوذرات متخلخل طلا در PoGNPs (Ra برای شکافتن پیوندهای دی‌سولفید موجود در هماگلوتینین ساختند. فعالیت ضد ویروسی نانوذرات متخلخل طلا به مسدود کردن پیوست ویروسی مرتبط با همچوشی غشاء، درنتیجه شکست پیوندهای دی‌سولفید در هماگلوتینین نسبت داده شد. کاربرد بالقوه نانوذرات متخلخل طلا در برابر سایر ویروس‌های پوششی با پروتئین‌های قابل توجهی روی سطح (به عنوان مثال ویروس نقص ایمنی انسانی، ویروس کرونا) نیز در این مطالعه بر جسته شد [103].

نانوذرات اکسیدمیس (CO-NPs) نیز فعالیت ضدویروسی را نشان دادند. هانگ و همکاران کارایی نانوذرات اکسید میس در برابر HCVcc/Huh7.5.1 ویروس هپاتیت C را در سیستم کشت سلولی 1 کشتمانی داشتند. نانوذرات اکسید میس قادر به مهار عفونت ویروس HCVcc هپاتیت C کشت سلولی (HCVcc) و همچنین ورود شبه ذرات ویروس هپاتیت C (HCVpp) بودند. بنابراین نتیجه‌گیری شد که توانایی نانوذرات اکسیدمیس برای عمل به عنوان یک عامل ضدویروس

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

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

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

نانوذرات طلا به طور گستره‌ای به عنوان حامل مواد بیودارویی مختلف مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. لی و همکاران یک سیستم رهایش طولانی اثر خاص از اینترفرون  $\alpha$  (IFN $\alpha$ ) با استفاده از مواد ترکیبی نانوذره طلا و اسیدهیالورونیک (HA) معرفی کردند. این کمپلکس اسیدهیالورونیک - نانوذره طلا / اینترفرون  $\alpha$  در درمان سیستمیک عفونت ویروس هپاتیت C به کار گرفته شد [108]. به طور مشابه، چو و همکاران نانومیله‌های طلازی مهندسی شده سطح را به عنوان 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 به کار گرفته شده است. سیستم‌های نانوذرات مختلفی مانند نانوذرات پلیمری، ذرات ویروس مانند (VLPs)، لیپوزوم‌ها و کیتزان برای این اهداف استفاده شده‌اند [109]. نانوذرات به دلیل توانایی خود در ارائه آنتیژن و بسیاری از مولکول‌های تحریک‌کننده ایمنی به عنوان یک بستر واکسن بسیار امیدوارکننده برای چندین بیماری عفونی در حال ظهور هستند. آنتیژن را می‌توان کسیوله، جذب و روی ماتریس نانوذرات پخش کرد. آنتیژن‌های رهایش آهسته واکسن و به کارگیری 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 آسفالت ژاپنی و ویروس نیل غربی تلاش کردند [110][111].

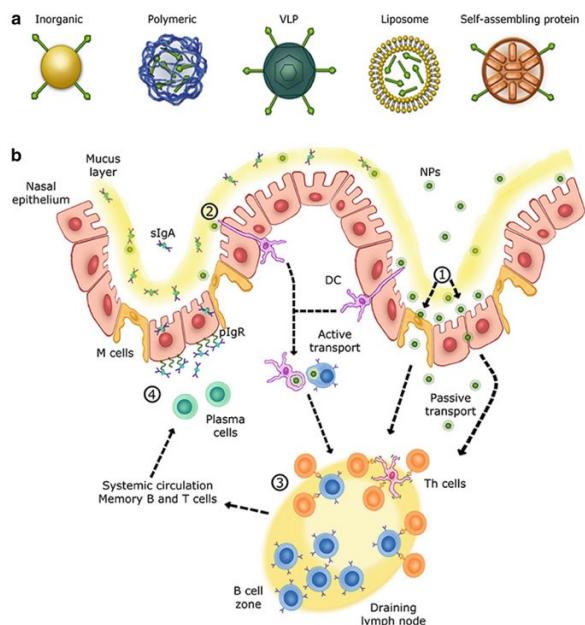
دائل و همکاران از نانوذرات PLGA برای کسوله‌سازی آنتیژن‌های H1N2 ویروس آنفلوآنزای خوکی (SwIV) غیرفعال شده (KAg) و بلوغ القایی سلول‌های ارائه‌دهنده آنتیژن در شرایط *in vitro* استفاده کردند. خوک‌هایی که دو بار با این آماده‌سازی واکسینه شدند، در مقایسه با حیوانات غیر واکسینه شده که یک بار با یک سویه ویروس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

هپاتیت C به دلیل 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 فابریک<sup>1</sup> دوب شده با مس یدید غیرفعال شدن سریع ویروس را نشان داد. فعالیت ویروس کشی به تخریب پروتئین‌های ویروسی و ژنوم بهویژه به دلیل عملکرد گونه‌های اکسیژن فعل نشأت گرفته از مس یدید اختصاص داده شد. این یافته‌ها کاربرد بالقوه فیلم و فابریک دوب شده با مس یدید را به عنوان مواد ضد SARS-CoV-2 برای ماسک‌های جراحی / لباس‌های محافظه 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 کنترل شده، فراهمی زیستی بهبودیافته، فارماکوکیتیک اصلاح شده و کاهش اثرات جانبی مرتبط است. علاوه بر این، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نانو حامل‌ها ممکن است امکان هدف‌گیری مکان‌های خاص و برهم‌کنش با ساختارهای ویروسی را فراهم کند [106]. به عنوان مثال، داروی ضدویروسی آسیکلولویر که برای درمان عفونت‌های ویروس هرپس سیمپلکس، آبله‌مرغان و زونا استفاده می‌شود، نیمه‌عمر کوتاه و جذب ناقص دارد. بنابراین، کامل و همکاران، نانوذرات مخفی آسیکلولویر را با استفاده از پلی‌لакتیک اسید، پلی‌لکتیک-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. به همین ترتیب، نانوذرات PLGA ترکیب شده با گالاکتوز بارگذاری شده با آسیکلولویر نیز معرفی شدند [107].

<sup>1</sup>. fabric

مبازه 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 ضد ویروسی مرسوم مرتبط هستند، کمک کند. بنابراین، فناوری نانو به عنوان ابزاری جدید و امیدوارکننده در مدیریت مؤثر عفونت‌های ویروسی در پزشکی آینده ظاهر می‌شود.



شکل ۶- بررسی احتمالی پاسخ ایمنی در دستگاه تنفسی فوقانی a) نمای شماتیک از نانوذرات مختلف مورد استفاده برای واکسیناسیون (NALTs) بینی. (b) مکانیسم‌های بافت‌های لنفویدی مرتبط با بینی (1) نانوذرات از لایه مخاطی پاسخ‌های ایمنی در دستگاه تنفسی فوقانی. (1) نانوذرات از لایه مخاطی به بافت‌های اپیتلیال بینی توسط سلول‌های ریز چین (سلول‌های M) ترانسیتیز می‌شوند. (2) سایر نانوذرات توسط DCها (سلول‌های دندربیتیک) منتشر می‌شوند. (3) سایر نانوذرات توسط سلول‌های اپیتلیال آزوتیز 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 T ساده را فعال کنند. پس از فعال شدن، سلول‌های کمکی T سلول‌های B را فعال می‌کنند که با همان آنتیزن ارائه شده توسط نانوذرات مواجه شده‌اند. سلول‌های B فعال شده در غدد لنفاوی (ناحیه

تنفسی به عنوان یک مدل ایمنی، فرانسیکا و همکاران نشان دادند که پلیمرهای پاسخگو به حرارت نانوذرات (TRP) امکان تحويل 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)، واکسن‌های mRNA-1273 Pfizer/BioNTech در فرمول‌های نانوذرات لیپیدی تحويل داده می‌شوند [113]. این نانوذرات به محافظت از mRNA کپسوله شده در برابر ریبونوکلئازها و درنتیجه بهبود پایداری کمک می‌کنند. علاوه براین، نانوذرات، تحويل mRNA دست‌نخورده را به مکان هدف تسهیل می‌کنند [114]. همچنین، گنج و همکاران واکسن ذرات شبه‌ویروس (VLP) را معرفی کردند که اثربخشی واکسن‌های مبتنی بر ویروس و ایمنی واکسن‌های مبتنی بر پروتئین را ترکیب می‌کند. معمولاً واکسن ذرات شبه‌ویروس مجموعه‌های کروی فوق مولکولی از پروتئین کپسید ویروسی اما عاری از مواد ژنتیکی هستند. در اینجا، ساختار پروتئین نانوذره سنتاز لومازین داربستی بود SARS-CoV-2 در حالی که 120 نسخه از دامنه اتصال گیرنده یونوژن سطحی بود. جالب توجه است که این واکسن ذرات شبه‌ویروس مهار قوی SARS-CoV-1، SARS-CoV-2 و انواع SARS-CoV-2 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* به درستی طراحی شده‌اند.

### - نتیجه‌گیری

عفونت‌های ویروسی بهویژه در سال‌های اخیر به عنوان 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 اینمنی 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 بالغ شدن، وارد گردش خون سیستمیک می‌شوند تا به محل التهاب برسند. سلول‌های IgA + B به صورت موضعی به سلول‌های پلاسمایی ترشح کننده آنتی‌بادی برای تولید دایمراهای IgA مقایز می‌یابند. (4) دایمراهای IgA از طریق

## References:

- [1] A. W. Artenstein, "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. Stadejek, "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. Khansarnejad, "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. Mokhtarezadeh 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. Berkhouit, "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 nanodiagnostics 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 pyrrolidinyl 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 CeO<sub>2</sub> 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. Liou et al., "Multifunctional inorganic nanoparticles for imaging, targeting, and drug delivery," *ACS Nano*, vol. 2, no. 5, pp. 889-896, 2008, doi: 10.1021/nn800072t.
- [98] D. Baram-Pinto, S. Shukla, N. Perkas, 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. Melé ndez-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. Donalisio, 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  $\alpha$  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.