لیزر در پزشکی 1402/ دوره بیستم / شماره (3-4) / صفحات 69-43

مقاله مروری

مروری بر کاربردهای فوتو - نانوتکنولوژی در ویروس‌شناسی

مژده بابادی[1]
افشان شیرکوند[2*]
مریم سادات قرشی[3]

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

2. دکتری تخصصی، فیزیک پزشک، 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@acecr.ac.ir

شماره تماس :
02166462915

چکیده

اهداف: ویروس‌ها عوامل عفونی زیر میکروسکوپی هستند که باعث بسیاری از بیماری‌ها در انسان می‌شوند ازجمله 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. بااین‌حال، اکثر روش‌های تشخیصی موجود درحال‌حاضر پرزحمت، زمان‌بر و با حساسیت کمتری هستند. ازسوی‌دیگر، 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 این‌حال، 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.

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

مقدمه

کشف ویروس موزاییکی تنباکو[1] 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 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[2](سندرم تنفسی خاورمیانه)، ویروس نقص ایمنی انسانی نوع 1[3]، و همه‌گیری کنونی؛ کووید 19 مهم هستند. "آنفولانزای اسپانیایی" یک بیماری همه‌گیر آنفولانزا بود که طی سال‌های 1919-1918 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 ازجمله ژن هماگ - گلوتینین[4] به‌طور کامل توالی‌یابی شدند. این توالی‌های ژنی تأیید کردند که عامل ایجادکننده این آنفولانزای اسپانیایی یک ویروس آنفولانزای A 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[6].

آبله (واریولا) قرن‌ها بشر را ویران کرد تا این‌که در سال1980 ریشه کن شد. همه طبقات اجتماعی را تحت تأثیر قرار داد[8][7]. 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 به‌دلیل علائم (ضایعات پوستی برجسته) که به‌طور ناگهانی ظاهر می‌شود، "هیولا خالدار" نامیده شد. میزان مرگ و میر 60%-20 بود و بازماندگان با اِسکارهای مخوف باقی ماندند. میزان مرگ و میر در نوزادان 98%-80 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 منجربه 8098 مورد ابتلا و 9/6% مرگ و میر در 29 کشور شد[11][10]. نتایج آزمایش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز[5] 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 علائم آن عبارتند از پروکسی پرودرما که می‌تواند با لرز، ضعف، تشنج، میالژی، تنگی نفس، سرفه خشک و سردرد همراه باشد[12].

ویروس کرونا سندرم تنفسی خاورمیانه[6] 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 40%-30 بود [13]. ویروس زیکا[7]یک آربوویروس (ویروس منتقله از بندپایان) است که ازطریق 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

[1] Tobacco mosaic virus TMV
[2] MERS
[3] HIV-1
[4] (HA)
[5] PCR
[6] (MERS-CoV)
[7] (ZIKV)

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 2014-2013 همراه بود. جدای از عوارض شدید عصبی، ناهنجاری‌های مادرزادی شدید ازجمله 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 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 ازطریق تماس مستقیم با پوست آسیب‌دیده، غشاهای مخاطی یا توسط اشیایی مانند سوزن اتفاق می‌افتد. مایعات بدن افراد آلوده ازجمله 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 بیش‌از 34 میلیون نفر درحال‌حاضر به ویروس نقص ایمنی انسانی آلوده شده‌اند درحالی‌که بیشتر عفونت‌ها توسط گونه‌های ویروس نقص 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 به‌دلیل سندرم دیسترس تنفسی حاد علت اصلی مرگ و میر ناشی از کووید-19 می‌باشد[22].

1- ساختار و طبقه‌بندی ویروس

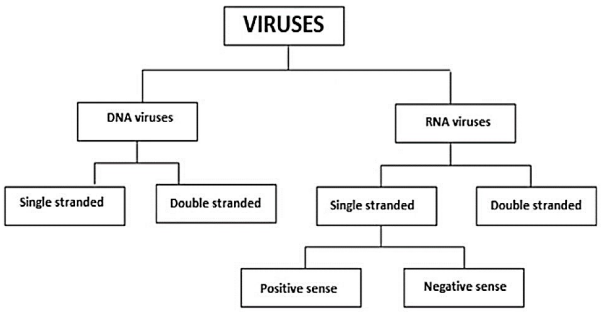
توسعه فناوری‌های توالی‌یابی ژن، توالی‌یابی سریع ژنوم‌های ویروسی را ممکن می‌سازد و درنتیجه جنبه‌های اساسی مربوط به تکامل ویروس‌ها را توضیح می‌دهد. همچنین اجازه می‌دهد تا تعیین کننده‌های آنتی‌ژنی و اپیدمیولوژی مولکولی ویروسی را بیان کند[23]. بنابراین، تعیین توالی ژنتیکی و تعیین منشاء ویروسی همیشه از موضوعات مهم در ویروس‌شناسی بوده است[24]. درهمین‌حال، 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].

تنوع ژنتیکی و اندازه جمعیت متراکم ویروس‌ها (بیش از 10^{31} ویریون 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 کدگذاری‌شده با ویروس پوشانده شده‌اند[31]. تولیدمثل ویروس‌ها به مسیرهای پیچیده متابولیک و بیوسنتزی سلول‌های میزبان یوکاریوتی یا پروکاریوتی خاصی بستگی دارد. وظیفه اصلی ویریون (ذره ویروس) واردکردن ژنوم خود (DNA یا RNA) به سلول میزبان خاص و بیان ژنوم ویروسی توسط سلول میزبان است (رونویسی و ترجمه). ژنوم ویریون، 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 به‌صورت ویروس‌های بدون پوشش[1] 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 "کروی" 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، به‌صورت: تک رشته‌ای یا دو رشته‌ای[31].

جدای از خصوصیات فیزیکی، ساختار ژنومی و نحوه تکثیر می‌تواند به‌عنوان معیاری برای طبقه‌بندی ویروس‌ها، یعنی ترکیب شیمیایی و پیکربندی اسید نوکلئیک، استفاده شود. علاوه‌براین، 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 شناسایی‌شده 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 تک‌رشته‌ای منفی (ضدحس) هستند. علاوه‌براین، 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 ویروس‌ها[2] ایجاد یک معیار شناخته شده بین‌المللی برای رده‌بندی ویروس‌ها را مدنظر قرار می‌دهد و نام‌هایی را برای گونه‌های ویروس به‌منظور برقراری ارتباط با جامعه ویروس‌شناسی تعریف می‌کند. سطوح طبقه‌بندی توافق شده شامل ترتیب، خانواده، جنس و گونه است.

1. Naked Virus

2. ICTV

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 هپاتیت 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]. 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 ایجادکننده است، با این‌حال، 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 هپاتیت در انسان یعنی هپاتیت 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 به عاملی محدوده‌کننده 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، رادیوایمونواسی[1] روشی است که برای تشخیص آنتی‌ژن هپاتیت 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. ازسوی‌دیگر، 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. علاوه‌براین، 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 نشاندارشده 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، ازدست‌دادن 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. ساندویچ الایزا معمولاً برای تشخیص آنتی‌ژن در مایعات بدنی استفاده می‌شود. به‌منظور شناسایی آنتی ژن مورد نظر، از یک آنتی بادی خاص برای جذب آن استفاده می‌شود. آنتی‌بادی تسخیر شده به یک فاز جامد پوشانده می‌شود بعد از یک دوره نهفتگی

[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. به‌دنبال 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]. اِشکال سیستم الایزا این است که برای افزایش حساسیت، به دوره‌های نهفتگی طولانی‌تری نیاز دارد[40].

معمولاً از آزمایش‌های مرسوم برای تشخیص ویروس مانند سنجش ایمونوسوربنت متصل به آنزیم جذب آنتی‌ژن (الایزا)، سنجش تک لایه‌های پراکسیداز ایمنی[1] و سنجش فلورسنت ایمنی[2] استفاده می‌شود، اما این روش‌ها اغلب پرزحمت، وقت‌گیر و حساسیت کمتری دارند[50][49][48]. اخیراً واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به‌عنوان واکنش حساس‌تر، سریع‌تر و خاص‌تر برای تشخیص ویروس شناسایی شده است[52][51]. هنگامی‌که علائم بالینی مشابهی وجود دارد، تمایز مناسب عوامل بیماری‌زا برای تشخیص دقیق بیماری ضروری است. تقویت جداگانه هر هدف برای سنجش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به‌طور اختصاصی مورد نیاز است و بنابراین منبع فشرده و پرهزینه است. سنجش‌های مولتی پلکس واکنش زنجیره‌ای پلیمراز 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 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 می‌بخشد و زمان عملی را کاهش می‌دهد. به‌علاوه، 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، حداکثر 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 گران‌قیمت، استفاده از سموم و مواد سرطان‌زا، 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[3] 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 پلیمراز 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 عامل 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

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 منجربه نتیجه منفی کاذب می‌شوند. علاوه‌براین، RNA به‌دلیل 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 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 این‌حال، اکثر روش‌های موجود درحال‌حاضر زمان‌بر، نیازمند کار یدی 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 منجربه 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 پاتوژنز 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 مبتنی‌بر سلول است. 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 مهاری قوی و خاصی را بر روی تکثیر ویروس القا کنند[62]. زامینیک و استفنسون مهار خاص توالی از تکثیر ویروس توسط الیگونوکلئوتیدهای DNA آنتی‌سنس را بیان کردند[63]. با این‌حال، درمان‌های ضدویروسی مبتنی بر آنتی‌سنس به‌دلیل مشکلات مرتبط با سمیت الیگونوکلئوتیدها، ناپایداری آنها در سرم و تحویل 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 اصلاح‌شده شیمیایی به‌جای استفاده از الیگونوکلئوتیدهای 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 نوکلئوزیدی[1]، (ب) مهارکننده‌های ترانس کریپتاز معکوس نوکلئوتیدی[2]،(iii) مهارکننده‌های ترانس کریپتاز معکوس غیرنوکلئوزیدی[3]، (iv) مهارکننده‌های پروتئاز، و (v) مهارکننده‌های ورود ویروسی. برای مدیریت عفونت‌های مزمن هپاتیت B، لامیوودین، آدفوویر و دیپیوکسیل تأیید شده‌اند. آسیکلوویر، والاسیکلوویر، پنسیکلوویر، فامسیکلوویر، ایدوکسوریدین، تری‌فلوریدین، و بریودین

[1] NRTIs
[2] NtRTI
[3] NNRTIs

برای درمان ویروس هرپس سیمپلکس[1] و عفونت‌های ویروس واریسلا – زوستر استفاده می‌شود. ثابت شده است که گانسیکلوویر، فوسکارنت، والگانسیکلوویر، فومی ورسن و سیدوفووویر در درمان عفونت‌های سیتومگالوویروس در بیماران دچار نقص ایمنی (بیماران ایدز مبتلا به رتینیت CMV) مؤثر هستند. آمانتادین و ریمانتادین، مهارکننده‌های نورآمینید مانند زانامیویر و اوسلتامیویر برای درمان و پیشگیری از عفونت‌های آنفولانزا در دسترس هستند. ریباویرین در مدیریت عفونت‌های ویروس سنسیشیال تنفسی[2] استفاده می‌شود درحالی‌که ترکیب ریباویرین با اینترفرون α پگیله‌شده به‌عنوان درمان عفونت‌های ویروس هپاتیت C [3] پذیرفته شده است[64].

درمان ترکیبی ضدرتروویروسی بسیار فعال[4] 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 و2NRTIs/NNRTI مؤثر هستند [65].

کاربرد بالینی استراتژی‌های درمانی امروزی با چندین اشکال همراه است. به‌عنوان مثال، ایجاد مخازن ویروسی (جایی‌که 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 به‌دلیل اندازه و بار آنیونی آن و همچنین سمیت وجود دارد[67]. با توجه به این موارد، سیستم‌های حامل جدیدی که قادر به عبور از این غشاها هستند، ابزارهای امیدوارکننده‌ای در درمان ضدویروسی خواهند بود[68].

لوئیس 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. بااین‌حال، 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 آسیکلوویر[5]درمان می‌شود. مورفین و تاونوت مقاومت در برابر آسیکلوویر را در بین بیماران دچار نقص ایمنی و بیماران پیوند مغز استخوان آلوژنیک 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. درنتیجه، 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.

1. HSV
2. RSV
3. HCV
4. HAART
5. ACV

- 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. درنتیجه، تکنیک‌های آشکارسازی مدرن حساس، سریع و اقتصادی با استفاده از نانومواد توسعه یافته‌اند. از نانومواد به‌دلیل 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 منجربه 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 مبتنی‌بر فلورسانس، نور مولکولی[1]، تشخیص ضریب شکست، حسگر زیستی مبتنی‌بر تشدید پلاسمون سطحی)، (ii) مغناطیسی (مانند تکنیک μNMR، حسگرهای میدان مغناطیسی مبتنی‌بر دستگاه تداخل‌سنج کوانتومی ابررسانایی، حسگرهای زیستی مبتنی‌بر مقاومت مغناطیسی)، (iii) الکتروشیمیایی (به‌عنوان مثال ولتامتری 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، به‌ویژه زمانی‌که 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)

درحال‌حاضر کیت‌های الایزای جذب ایمونوگلوبولین M[2] بسیار حساس برای تشخیص سریع ژنوم RNA تک‌رشته‌ای با سوی مثبت حاوی ویروس آنسفالیت ژاپنی[3] در دسترس هستند. بااین‌حال، توانایی کم در تمایز بین آنسفالیت ژاپنی و دنگی یکی از نگرانی‌های اصلی با توجه به سنجش‌های مبتنی‌بر کیت الایزا با جذب ایمونوگلوبولین M است. درنتیجه، تکنیک‌هایی مانند واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ترانس کرایپتاز معکوس مرسوم[4] و سنجش‌های مبتنی‌بر واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ترانس کرایپتاز معکوس زمان حقیقی برای تشخیص ژنوم ویروس آنسفالیت ژاپنی استفاده شده‌اند. هوانگ و همکاران اثر نانوذرات طلا بر روی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ترانس کرایپتاز معکوس و سنجش کمی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ترانس کرایپتاز 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، برهم‌کنش هموگلوبین با نانوذره طلا و حضور مهارکننده‌های واکنش زنجیره‌ای پلیمراز مانند لاکتوفرین و ایمونوگلوبین G [5] منجربه کاهش عملکرد واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ترانس کرایپتاز زمان حقیقی در سنجش‌های مبتنی‌بر خون در مقایسه با سنجش‌های تشخیص مبتنی‌بر محیط کشت می‌شود. بنابراین 1/6 نانومولار نانوذره طلا به‌عنوان غلظت بهینه در یک سنجش تشخیصی مبتنی‌بر واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ترانس کرایپتاز معکوس خون زمان حقیقی شناسایی شد

1. Beacons

2. IgM
3. JEV
4. RT-PCR
5. IgG

(Huang et al. 2008)[72]. افزایش راندمان واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ترانس کراپیتاز معکوس و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ترانس کراپیتاز معکوس زمان حقیقی در حضور نانوذره طلا را می‌توان به راندمان حرارتی و هدایت حرارتی بالای نانوذرات طلا مرتبط دانست. پس از معلق‌شدن در آب، نانوذرات طلا توانایی ایجاد تعادل حرارتی با محیط مایع را در مدت زمان بسیار کوتاهی مانند 200-10 پیکوثانیه دارند. علاوه‌براین، برهم‌کنش انتخابی نانوذره طلا با DNA تک رشته‌ای ممکن است جفت‌شدگی نادرست[1] 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 کراپیتاز معکوس مبتنی بر نانو طلا و سنجش کمی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ترانس کراپیتاز معکوس زمان حقیقی به‌عنوان ابزارهای تشخیصی اولیه ساده، حساس و سریع برای تشخیص و کمی‌سازی ویروس آنسفالیت 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 سویه مثبت است، استفاده کرد. به‌طور معمول از روش‌های ایمنی مرتبط با آنزیم و سنجش بلات ایمنی نوترکیب برای شناسایی آنتی‌بادی‌های ضدویروس هپاتیت C استفاده می‌شود درحالی‌که واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ترانس کراپیتار معکوس مرسوم در تشخیص کیفی RNA ویروس هپاتیت C استفاده می‌شود. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ترانس کراپیتاز 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 تکثیرنشده استخراج‌شده از نمونه‌های بالینی را امکان‌پذیر کرد. معمولاً نانوذرات طلا به‌دلیل پدیده خاصی به‌نام رزونانس پلاسمون، رنگ قرمز شدیدی را نشان می‌دهند. پس از تجمع نانوذرات طلا، رنگ آبی ظاهر می‌شود. در این آزمایش، RNA استخراج‌شده از نمونه‌های سرم داوطلبان سالم و بیماران ویروس هپاتیت C مزمن با بافر هیبریداسیون 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 درحالی‌که 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 تثبیت کنند، ازاین‌رو، بر روی نانوذرات طلا جذب می شوند و از تجمع جلوگیری می‌کنند. درنتیجه رنگ قرمز اصلی، باقی می‌ماند. مشخص شد که این سنجش با زمان چرخش کوتاه و مقرون به‌صرفه بسیار حساس است [73].

ویروس نقص ایمنی انسانی نوع 1 یک ویروس تک‌رشته‌ای، با سویه 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 به‌دست می‌آید. تانگ و هیولت امکان استفاده از سنجش تقویت بارکد زیستی[2] 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 به‌دست 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 [3] (Eu^{+}) اصلاح کردند که در آن نانوذرات Eu^{+} جایگزین نانوذرات طلا در سنجش تقویت بارکد زیستی شده بودند. این منجربه افزایش بیشتر حساسیت و کاهش زمان انکوباسیون شده است [74].

[1]. Mispairing

[2]. BCA

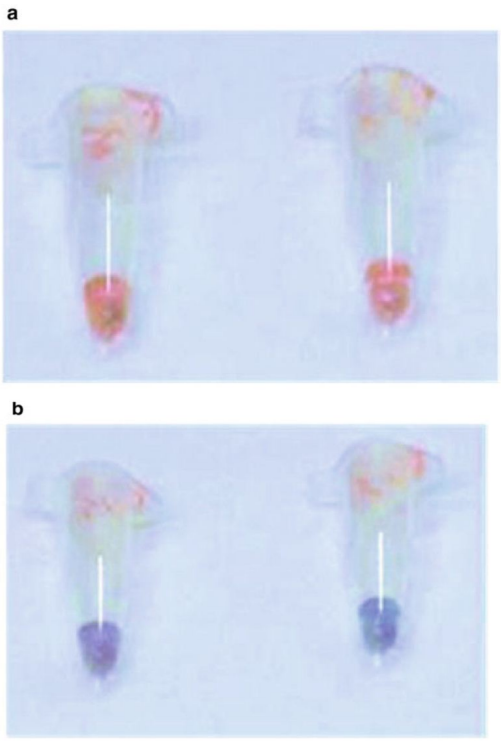
[3] ENIA

لی و همکاران از نانوذرات طلا تثبیت‌شده با اسید سیالیک[1] برای تشخیص ویروس آنفولانزا 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 تثبیت‌شده با اسیدسیالیک با هماگلوتینین برهم‌کنش دارند که منجربه تغییر رنگ‌سنجی در محلول نانوذرات طلا تثبیت‌شده با اسیدسیالیک می‌شود. تجمع نانوذرات طلا تثبیت‌شده با اسیدسیالیک روی سطح ویروس منجربه افزایش جذب در طول موج 610-600 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 ضدهماگلوتینین 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 منجربه یک شیفت قرمز در طیف جذب می‌شود که به جفت‌شدن پلاسمون بین نانوذرات طلا مجاور نسبت داده می‌شود. تغییر رنگ از قرمز به بنفش با چشم غیرمسلح مشاهده شد [76].

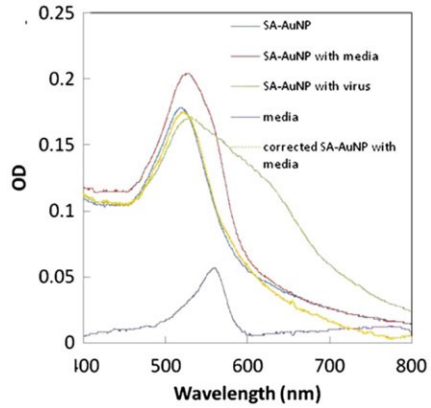
باسو و همکاران از شیفت رزونانس پلاسمون سطحی موضعی[2] که برای تشخیص سریع ویروس دنگی که یک ویروس RNA تک رشته‌ای مثبت است، استفاده کردند. در اینجا، اصلاح سطح نانوذرات طلا در ابتدا برای تولید ترکیب‌هایی از آنتی‌بادی نانوذره طلا انجام شد. این امر تشخیص هر چهار سروتیپ دنگی (DENV-1، 2-، 3-، 4-) را با ویژگی و گزینش‌پذیری بالا امکان‌پذیر کرد (شکل 4). علاوه‌براین، این رویکرد جدید به‌طور قابل توجهی مدت زمان آزمایش را در حدود 3 تا1 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. ویروس SARS-CoV-2 جدید یک ویروس RNA تک رشته‌ای با سویه مثبت است که مسئول شیوع بیماری کروناویروس جدید (کووید 19) است. حسگر زیستی با ترکیب اثر فتوترمال پلاسمونیک[3] و انتقال حسگر رزونانس پلاسمون سطحی موضعی ایجاد شد. تراشه پلاسمونیک با توزیع دوبعدی نانوجزیره[4] طلای عامل‌دارشده (AuNIs) با گیرنده‌های DNA مکمل برای تشخیص توالی SARS-CoV-2 کاربردی شد. تراشه AuNIs قادر به تولید گرمای محلی فتوترمال پلاسمونیک پس از روشن‌شدن در فرکانس تشدید پلاسمونیک و انتقال هیبریداسیون درجا برای تشخیص بسیار حساس و دقیق ویروس بود[78].

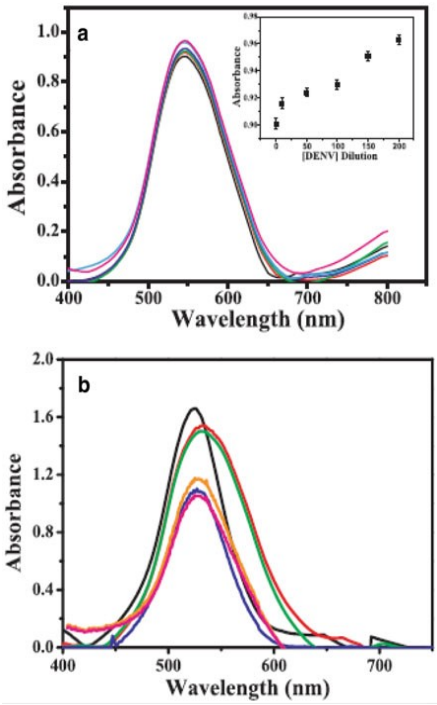


شکل 2- روش سنجش رنگ‌سنجی RNA ویروس هپاتیت C با استفاده از نانوذرات طلا اصلاح نشده (عکس‌ها 1 دقیقه پس از افزودن نانوذره طلا گرفته شده‌اند). a) نمونه‌های منفی RNA ویروس هپاتیت C، b) نمونه‌های مثبت RNA ویروس هپاتیتC [73]

[1] SA-AuNP
[2] LSPR
[3] PPT
[4] Nanoisland



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



شکل 4- تغییرات غلظت تجمیعی DENV

a) نمونه تجمیعیDENV با تیتر 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 تجمیعیDENV 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].

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 ازطریق تشکیل پیوند Ag-S بی‌حرکت شدند. ضدویروس هپاتیت C (آنتی‌بادی) بر روی سطح الکترود 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 آنتی ژن هسته ویروس هپاتیت C استفاده شد. تشخیص خاص بین آنتی‌بادی‌ها و آنتی‌ژن‌ها منجربه 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 براساس تجمع نانوذرات ناشی از اسیدنوکلئیک پپرولیدینیل 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. بااین‌حال، 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

است و همچنین ویروس پاپیلومای انسانی[1] 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 B[2] 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 پلی کلونال 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 (آنتی‌بادی) بر روی سطح الکترود کربن شیشه‌ای ازطریق 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. 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 اسیدنوکلئیک 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. بااین‌حال، 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 انسانی[3] 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

[1]. HPV
[2]. HBV
[3]. HPV

تشخیص ویروس آنفولانزای خوکی H1N1 (SIV)مورد استفاده قرار گرفت. آنتی‌بادی ضدویروس آنفولانزای خوکی بر روی سطح نانولوله‌های کربنی تک‌جداره با استفاده از پلی ال - لیزین بی‌حرکت شد. ایمونوبیدینگ ویروس آنفولانزای خوکی بر روی سطح حسگر منجربه 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 فوق حساس 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 الکترود 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 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 به‌دلیل عمل H_2O_2 با پراکسیداز ترکیب با ضدغیرساختاری نوع 1 ایجاد شد. این روش ارزان‌تر و عملی‌تر از RTPCR و الایزا بود، بنابراین برای استفاده در یک وضعیت اپیدمی نویدبخش است[85].

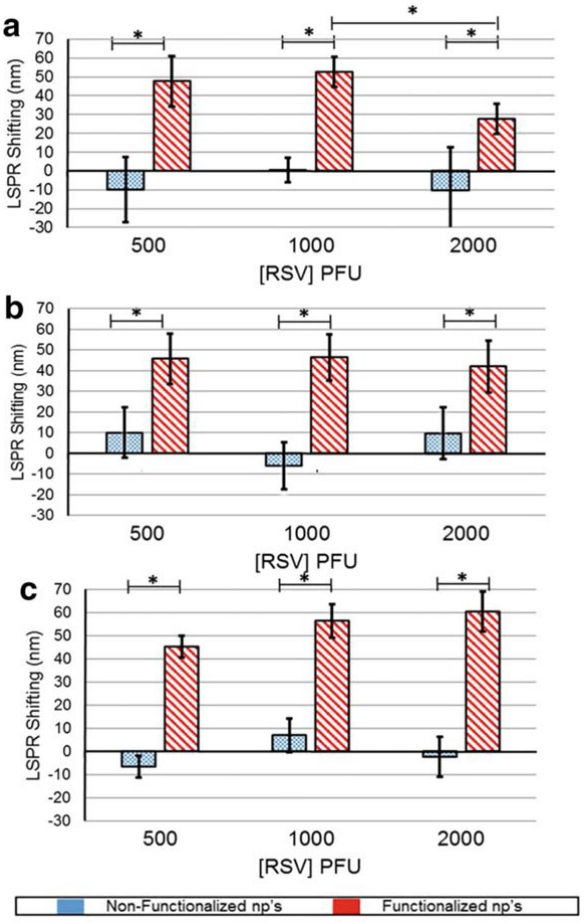
در مطالعه دیگری، یک حسگر الکتروشیمیایی بر روی سطح الکترود کربن شیشه‌ای اصلاح‌شده نانولوله‌های کربنی چندجداره (MWCNTs) برای تشخیص ویروس نقص ایمنی انسانی ساخته شد. این روش یک روش سریع، حساس و بسیار ساده برای شناسایی مستقیم آنتی‌ژن p-24 است. این حسگر بر روی نانولوله‌های کربنی چند جداره بر روی سطح یک الکترود کربن شیشه‌ای ساخته شده است. یک الکترودکربن شیشه‌ای به ترتیب با استفاده از آکریل آمید، N، N'-methylenebisacrylamide، آمونیوم پرسولفات به‌عنوان مونومر عملکردی، عامل اتصال عرضی و آغازگر اصلاح شد. نتایج نشان داده است که حسگر زیستی به‌طور خاص، ویروس نقص 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 رنگ‌سنجی با استفاده از نانوخوشه‌های مس برای شناسایی ویروس هپاتیت B [1] 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 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. 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].

[1] HBV



شکل 5- نمودار شیفت رزونانس پلاسمون سطحی موضعی را در تیترهای مختلف ویروس سنسیشیال تنفسی در 30 دقیقه a)، 60 دقیقه b) و 120 دقیقه c) برای نانوذرات نقره دارای آنتی‌بادی عملکردی (قرمز) و غیر عملکردی (آبی) نشان می‌دهد. نماد ستاره نشان دهنده معنی‌داری $p<0.05$ است[83].

6. نقاط کوانتومی (QD)

توانایی فلورسنت قابل تنظیم اندازه و تحریک همزمان تک طول‌موج، 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 برهم‌کنش آنتی‌بادی - آنتی‌ژن تهیه کردند. CdTe QDهای سبز و نارنجی به‌عنوان پروب‌های فلورسنت حساس به pH مؤثر شناسایی شده‌اند 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 آنتی‌بادی ویروس H9 برچسب‌گذاری شده‌اند، مشاهده شد. این به افزایش فعالیت سنتتاز ATP توسط واکنش آنتی‌بادی - آنتی‌ژن نسبت داده شد. به‌طور مشابه، شدت فلورسنت به‌طور قابل توجهی در طول‌موج 585 نانومتر زمانی که MHV 68 بارگذاری شد، افزایش یافته است. این به‌دلیل افزایش فعالیت سنتتاز ATP در حسگرهای زیستی نارنجی نقاط کوانتومی رخ داده است. علاوه‌براین، با بارگذاری هر دوی این ویروس‌ها با هم، یک تغییر سریع در هر دو شدت فلورسنت در طول‌موج‌های 535 و 585 نانومتر مشاهده شد. جالب توجه است که هر بخش از حسگرهای زیستی نقاط کوانتومی به‌طور مستقل بدون تداخل با یکدیگر در سنجش فلورسانس کار می‌کردند [87].

در یک مطالعه بسیار جدید، یک حسگر ایمنی با استفاده از نقاط کوانتومی ترکیب‌شده استرپتاویدین (QDs/SA) برای تشخیص پروتئین غیرساختاری نوع 1[1] ویروس دنگی معرفی شد. این پروتئین‌های غیرساختاری، مسئول تکثیر ویروس‌های جدید در سلول میزبان هستند و حسگر ایمنی تازه توسعه‌یافته قادر بود حتی مقدار کمی از آنتی‌ژن پروتئین غیرساختاری نوع 1 را تشخیص دهد. نقاط کوانتومی ترکیب‌شده استرپتاویدین ابتدا به آنتی‌بادی پروتئین غیرساختاری نوع 1 بیوتینیله شده و سپس برای شناسایی آنتی‌ژن پروتئین غیرساختاری نوع 1 مورد استفاده قرار گرفت. به‌نظر می‌رسد 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

[1]. NS1

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

7. سایر نانومواد

یانگ و همکاران یک روش فلوئوروایمونواسی 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 فلوروفور[1] 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 قابل‌توجهی 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 $Ag@SiO_2$ 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/CeO_2 به‌عنوان تقویت‌کننده کاتالیزوری برای تشخیص حساس آنفولانزا ساخته شد [92]. در مطالعه دیگری، حسگر زیستی مبتنی‌بر نانوالیاف Mn_2O_3 نیمه‌رسانا الکتروریسی‌شده 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 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. به‌عنوان مثال، گایکواد و همکاران، فعالیت ضدویروسی نانوذرات نقره بیوژنیک را در برابر ویروس هرپس سیمپلکس نوع 1 و 2 و ویروس پاراآنفولانزای 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 اسپوروم و کرولاریا در مقایسه با نانوذرات نقره سنتزشده از سایر منابع قارچی به‌طور قابل توجهی، ازنظر 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 مسدودکردن 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].

---

[1]. FHS

فعالیت ضدویروسی نانوذره 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 vitroنانوذرات نقره استفاده کردند. کاهش در تشکیل ویروس هپاتیت DNA B خارج سلولی، سلول‌های HepAD38 در حضور نانوذره نقره با میانگین قطر ذرات تقریباً 10 نانومتر و 50 نانومتر مشاهده شد. اگرچه این نانوذرات تأثیر کمی بر روی مقدار DNA دایره‌ای بسته کووالانسی ویروس هپاتیت B داشتند، تشکیل ویروس هپاتیت RNA 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 سولفات هپارین سطح سلول مسدود کنند[98]. علاوه‌براین، هو و همکاران نشان دادند که نانوذرات نقره در غلظت 100 میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌توانند به‌طور 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 منجربه 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 نانوذرات نقره در برابر SARSCoV-2 را بررسی کردند. در میان نانوذرات نقره با اندازه‌های مختلف، نانوذرات با قطر حدود 10 نانومتر در محدوده غلظت ppm 1-10 در مهار SARS-CoV-2 خارج سلولی مؤثر بودند. بااین‌حال، نانوذرات نقره در غلظت‌های ppm 20 و بالاتر، اثرات سیتوتوکسیک از خود نشان دادند. از مشاهدات سنجش ورود شبه ویروس مبتنی بر لوسیفراز، این فرضیه وجود داشت که نانوذرات نقره قادر به مهار مرحله ورود ویروس با برهم‌زدن یکپارچگی ویروس هستند [99].

مطالعات تحقیقاتی متعددی در مورد فعالیت ضدویروسی نانوذرات طلا وجود دارد. ویچایاکومار و گانسان فعالیت ضدویروسی نانوذرات طلا تثبیت شده با پلی‌اتیلن گلیکول در برابر ویروس نقص ایمنی نوع 1 را گزارش کردند. مشخص شد که این نانوذرات طلا با اتصال به gp120 از ورود ویروس جلوگیری می‌کنند و در نتیجه از اتصال CD4 جلوگیری می‌کنند[100]. به‌طور 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 روشی وابسته به دوز و زمان هستند[101].

ملندز - ویلانووا و همکاران، فعالیت ضدویروسی نانوذرات طلا بیوژنیک تهیه‌شده از عصاره سیر را گزارش کردند. این نانوذرات طلا تکثیر ویروس سرخک را در سلول‌های Vero با 8.829 میکروگرم بر میلی‌لیتر از EC_{50} مهار کردند. فرض بر این بود که بار سطحی مثبت نانوذرات طلا و بار منفی غشاهای 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 حفاظت‌شده در سویه‌های مختلف ویروس آنفولانزا است که واسطه اتصال ویروس با گیرنده‌های سلول میزبان است. درنتیجه، یک هدف ضدویروسی مؤثر درنظر گرفته می‌شود. کیم و همکاران نانوذرات متخلخل طلا (PoGNPs) را برای شکافتن پیوندهای دی‌سولفید موجود در هماگلوتینین ساختند. فعالیت ضد ویروسی نانوذرات متخلخل طلا به مسدود کردن پیوست ویروسی مرتبط با همجوشی 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 (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 نانوذرات اکسید مس در برابر ویروس هپاتیت C را در سیستم کشت سلولی HCVcc/Huh7.5.1 را نشان دادند. نانوذرات 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 نانوذرات اکسیدمس برای عمل به‌عنوان یک عامل ضدویروس

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 غیرفعال‌کردن ویروس SARS-CoV-2 را فاش کردند. فیلم و فابریک[1] 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. محصورکردن 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. به‌همین‌ترتیب، نانوذرات PLGA ترکیب‌شده با گالاکتوز بارگذاری‌شده با آسیکلوویر نیز معرفی شدند [107].

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 (IFNα) با استفاده از مواد ترکیبی نانوذره طلا و اسیدهیالورونیک (HA) معرفی کردند. این کمپلکس اسید هیالورنیک - 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 ازطریق فعال‌کردن 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 آنفولانزای 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 آنفولانزای 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

[1]. fabric

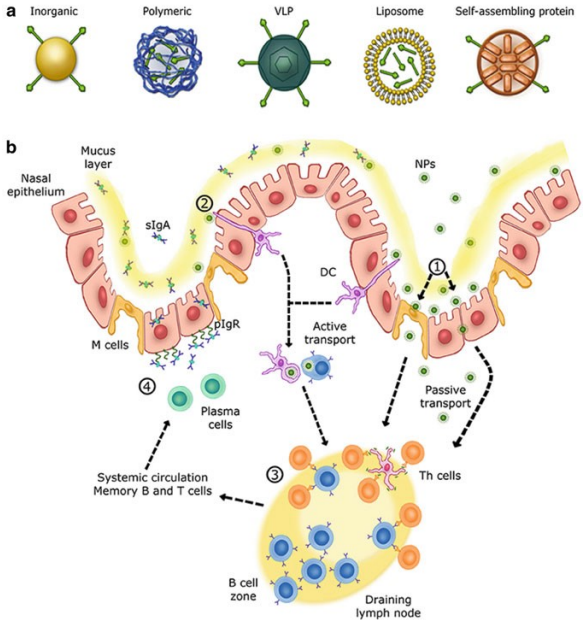
تنفسی به‌عنوان یک مدل ایمنی، فرانسیکا و همکاران نشان دادند که پلیمرهای پاسخگو به حرارت نانوذرات (TRP) امکان تحویل همزمان آگونیست‌های گیرنده مانند Toll (TLRa) را برای افزایش ایمنی محافظتی فراهم می‌کنند[112].

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 ریبونوکلئازها و درنتیجه بهبود پایداری کمک می‌کنند. علاوه‌براین، نانوذرات، تحویل mRNA دست‌نخورده را به مکان هدف تسهیل می‌کنند[114]. همچنین، گنگ 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 شبه ویروس مجموعه‌های کروی فوق مولکولی از پروتئین کپسید ویروسی اما عاری از مواد ژنتیکی هستند. در اینجا، ساختار پروتئین نانوذره سنتاز لومازین داربستی بود درحالی‌که 120 نسخه از دامنه اتصال گیرنده SARS-CoV-2 ایمونوژن سطحی بود. جالب توجه است که این واکسن ذرات 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. بااین‌حال، تنها تعداد محدودی از ابزارهای تشخیصی و درمان‌های ضدویروسی برای مبارزه با این عفونت‌های ویروسی در دسترس هستند. رویکردهای جدید مبتنی‌بر 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 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) تران سیتوز می‌شوند یا به‌طور غیرفعال ازطریق اتصالات سلول‌های اپیتلیال منتشر می‌شوند. (2) سایر نانوذرات توسط DCها (سلول‌های دندریتیک) از گسترش آنها ازطریق 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

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

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

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. 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 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 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/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 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.