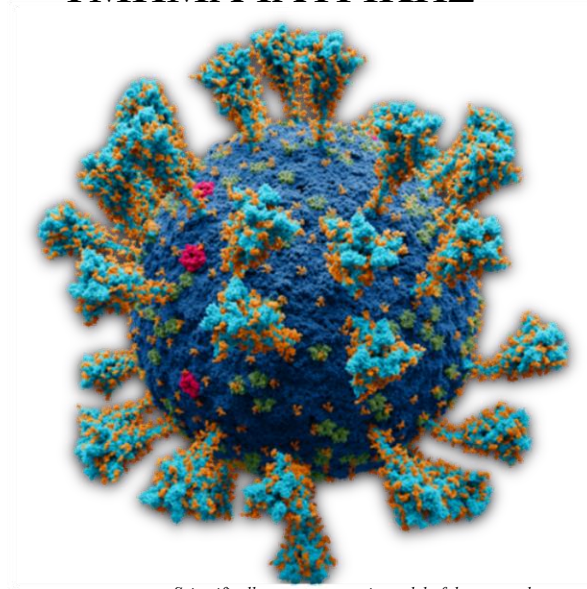




ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



*Scientifically accurate atomic model of the external structure of the SARS-CoV-2 ©CC BY-SA 4.0*

Διπλωματική Εργασία

**Παρουσία αντισωμάτων έναντι SARS-CoV-2 μετά από φυσική λοίμωξη ή εμβολιασμό**

Γεώργιος Ι. Καταγής

Επιβλέπουσα: Κωνσταντίνα Γκαρτζονίκα

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Μικροβιολογίας

Ιωάννινα, Απρίλιος 2023

# PRESENCE OF ANTIBODIES AGAINST SARS-CoV-2 AFTER NATURAL INFECTION OR VACCINATION

Εγκρίθηκε από τριμελή εξεταστική επιτροπή

Ιωάννινα, 4 Απριλίου 2023

## ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ

### 1. Επιβλέπουσα

Κωνσταντίνα Γκαρτζονίκα

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Μικροβιολογίας

### 2. Μέλος επιτροπής

Χαράλαμπος Αγγελίδης

Ομότιμος Καθηγητής Βιολογίας

### 3. Μέλος επιτροπής

Πατρώνα Βεζυράκη

Καθηγήτρια Φυσιολογίας

Ο Πρόεδρος του Τμήματος

Σπυρίδων Κονιτσιώτης

Καθηγητής Νευρολογίας

Υπογραφή

© Καταγής, Γεώργιος, 2023.

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

## **Δήλωση μη λογοκλοπής**

Δηλώνω υπεύθυνα και γνωρίζοντας τις κυρώσεις του Ν. 2121/1993 περί Πνευματικής Ιδιοκτησίας, ότι η παρούσα πτυχιακή εργασία είναι εξ ολοκλήρου αποτέλεσμα δικής μου ερευνητικής εργασίας, δεν αποτελεί προϊόν αντιγραφής ούτε προέρχεται από ανάθεση σε τρίτους. Όλες οι πηγές που χρησιμοποιήθηκαν (κάθε είδους, μορφής και προέλευσης) για τη συγγραφή της περιλαμβάνονται στη βιβλιογραφία.

Καταγής, Γεώργιος

Υπογραφή

## **Ευχαριστίες**

Η διπλωματική αυτή εργασία δεν θα ολοκληρώνονταν χωρίς την υποστήριξη και την συμπαράσταση της οικογένειάς μου, τους ευχαριστώ για όλα. Χρωστώ επίσης ένα μεγάλο ευχαριστώ στην επιβλέπουσα καθηγήτρια κυρία Γκαρτζονίκα της οποίας οι παρατηρήσεις και οι προτροπές κατέστησαν δυνατή την εκπόνηση της παρούσας εργασίας.

Αφιερώνεται στη μνήμη του πατέρα μου Γιάννου Καταγή

## Περίληψη

Η ανθρωπότητα τα τελευταία χρόνια έχει έρθει αντιμέτωπη με τη νόσο της COVID-19, μια μεταδοτική ασθένεια που προκαλείται από τον κορωνοϊό SARS-CoV-2, οδηγώντας τον ΠΟΥ στην κήρυξη πανδημίας τον Μάρτιο του 2020. Αυτό το εξαιρετικά μολυσματικό, μεταδιδόμενο και επικίνδυνο παθογόνο, είναι ένας RNA ιός με γονιδίωμα μονόκλωνου RNA θετικής πολικότητας, του οποίου η άμεση και έγκαιρη γονιδιωματική ταυτοποίηση οδήγησε στην ανάπτυξη αξιόπιστων και αποτελεσματικών εμβολίων σε εξαιρετικά σύντομο χρονικό διάστημα. Τρία σχεδόν χρόνια μετά την έναρξη της πανδημίας, ένα σημαντικό ποσοστό του παγκόσμιου πληθυσμού έχει ανοσία από μόλυνση ή/και εμβολιασμό. Αυτή η στοχευμένη ανασκόπηση συνοψίζει τη διαθέσιμη διεθνή ερευνητική βιβλιογραφία σχετικά με την παρουσία αντισωμάτων έναντι του SARS-CoV-2 μετά από φυσική λοίμωξη ή εμβολιασμό ή συνδυασμό των δύο. Την ίδια στιγμή εξετάζεται η συνολική ανοσολογική απάντηση (έμφυτη και επίκτητη) μετά από φυσική μόλυνση καθώς και η ανοσολογική απάντηση στις διάφορες πλατφόρμες εμβολίων με έμφαση στα εμβόλια τεχνολογίας mRNA.

Λέξεις κλειδιά: Κορωνοϊός, COVID-19, Αντισώματα, εμβόλια COVID-19

## **Abstract**

In recent years, humanity has been confronted with COVID-19, an infectious disease caused by the SARS-CoV-2 coronavirus, prompting WHO to declare a pandemic in March 2020. This highly infectious, transmissible and dangerous agent is an RNA virus with a single-stranded RNA genome of positive polarity, whose immediate and timely genomic identification led to the development of reliable and effective vaccines in an extremely short time. Nearly three years after the onset of the pandemic, a substantial percentage of the world's population is immune to infection and/or vaccination. This focused review summarizes the available international research literature on the presence of antibodies to SARS-CoV-2 following natural infection or vaccination or a combination of both. Concurrently, the general immune response (innate and acquired) following natural infection is reviewed, as well as the immune response to the various vaccine platforms, with a focus on vaccines using mRNA technology.

Key words: Coronavirus, COVID-19, Antibodies, COVID-19 Vaccines



## Πίνακας περιεχομένων

Κατάλογος Εικόνων.....	10
<b>1<sup>ο</sup> Μέρος.....</b>	<b>12</b>
1. Πανδημίες.....	12
2. Κορωνοϊοί.....	17
2.1. Τάξη Nidovirales .....	23
2.1.1. Ομοιότητες και κοινά χαρακτηριστικά των ιών της τάξης Nidovirales .....	24
3. Alpha-CoVs .....	27
4. Beta-CoVs.....	29
4.1. SARS-CoV .....	31
4.2. MERS .....	36
5. Gamma-CoVs .....	39
6. Delta-CoVs .....	41
<b>2<sup>ο</sup> Μέρος .....</b>	<b>43</b>
7. SARS-CoV-2 .....	43
7.1. Προέλευση.....	47
7.2. Μοριακή αρχιτεκτονική του ιού SARS-CoV-2 .....	49
7.3. Γλυκοπρωτεΐνη ακίδα (S) .....	50
7.4. Πρωτεΐνη φακέλου (E).....	51
7.5. Πρωτεΐνη νουκλεοκαψιδίου (N) .....	53
7.6. Κύρια πρωτεάση (M) και πρωτεάση παρόμοια με την παπαΐνη (PLPro).....	54
7.7. Άλλες μη δομικές πρωτεΐνες.....	55
7.8. Πρωτεΐνες ανοιχτού πλαισίου ανάγνωσης (ORFs).....	56
7.9. Μηχανισμός εισόδου του SARS-CoV-2 στα κύτταρα.....	57
7.10. Παραλλαγές .....	59
7.11. Συμπτώματα και κλινική εικόνα.....	62
7.12. Μέθοδοι ανίχνευσης του SARS-CoV-2.....	64
7.12.1. Μέθοδοι ανίχνευσης που βασίζονται σε PCR: Real-time RT-qPCR, ddPCR, mPCR .....	65
7.12.2. Μέθοδοι ανίχνευσης που βασίζονται στον προσδιορισμό και την ανάλυση αλληλουχιών γενετικού υλικού: mNGS, NTS .....	67
7.12.3. Ανοσολογικές μέθοδοι: GICA, ELISA, FICA, CLIA .....	68
7.12.4. Άλλες μέθοδοι ανίχνευσης: LAMP, CRISPR, MS, Biosensors.....	69
8. Ανοσολογική απάντηση και ανοσία στη λοίμωξη από SARS-CoV-2.....	71
8.1. Αντιϊκή Ανοσία.....	71
9. Ανοσολογική απόκριση στη λοίμωξη SARS-CoV-2.....	73
9.1. Έμφυτη Ανοσολογική Απόκριση στη Λοίμωξη SARS-CoV-2.....	73

9.1.1. «Καταιγίδα κυτοκινών» στην COVID-19 .....	74
9.2. Επίκτητη Ανοσολογική Απόκριση στη Λοίμωξη SARS-CoV-2 .....	75
9.2.1. Χυμική ανοσία κατά του SARS-CoV-2 .....	76
9.2.1.1. Βλεννογονική χυμική ανοσία στην COVID-19.....	80
9.2.2. Κυτταρική ανοσία κατά του SARS-CoV-2 .....	82
9.3. Διάρκεια ανοσίας μετά από φυσική λοίμωξη .....	84
10. Ανοσολογική απάντηση μετά από εμβολιασμό .....	87
10.1. Εμβόλια mRNA .....	88
10.1.1. Μηχανισμός δράσης .....	89
10.1.2. Απόκριση Β-κυττάρων και αντισωμάτων.....	89
10.1.3. BNT162b2/Comirnaty (Pfizer/BioNTech) .....	91
10.1.4. mRNA-1273/Spikevax (MODERNA/NIH).....	94
10.2. Εμβόλια ιικών φορέων (Viral Vector) .....	95
10.2.1. ChAdOx1/AZD1222 (Oxford-AstraZeneca).....	96
10.2.2. JNJ-78436725/Ad.26.COV2.S (Janssen).....	98
10.2.3. Sputnik V (Gamaleya Research Institute of Epidemiology and Microbiology) ..	99
10.3. Αδρανοποιημένα εμβόλια .....	100
10.3.1. CoronaVac/ Sinovac (Sinovac).....	100
10.3.2. BBIBP-CorV (Sinopharm's Beijing Institute of Biological Products) .....	101
10.3.3. WIBP-CorV (Sinopharm).....	101
10.3.4. Covaxin (Bharat Biotech) .....	101
10.4. Εμβόλια DNA, ZyCoV-D.....	103
10.5. Εμβόλια πρωτεϊνικής υπομονάδας.....	103
10.5.1. NVX-CoV2373 (Novavax).....	104
10.5.2. EpiVacCorona (State Research Center of Virology and Biotechnology VECTOR)	105
10.5.3. MVC COVID-19/ Medigen COVID-19 .....	105
10.5.4. Zifivax/ZF2001/ ZF-UZ-VAC-2001 (Anhui Zhifei Longcom Biopharmaceutical)	106
10.5.5. Corbevax.....	106
10.5.6. Soberana 02/ PastoCovac/ FINLAY-FR-2 .....	106
10.6. Κινητική των αντισωμάτων μετά τον εμβολιασμό .....	106
10.7. Διάρκεια αποτελεσματικότητας των εμβολίων.....	107
11. Υβριδική Ανοσία .....	110
Συμπεράσματα .....	110
Βιβλιογραφία .....	113

## Κατάλογος Εικόνων

Εικόνα εξωφύλλου: Scientifically accurate atomic model of the external structure of the SARS-CoV-2	
Εικόνα 1.1.: Πανδημίες από την αρχαιότητα ως τις μέρες μας.....	13
Εικόνα 1.2.: Σύνοψη των PHEICs μέχρι σήμερα .....	16
Εικόνα 1.3.: Λεπτομέρειες για τις ιδιότητες των κορωνοϊών, όπως δημοσιεύθηκαν για πρώτη φορά το 1968 .....	19
Εικόνα 1.4.: Η πρώτη μικροσκοπική εικόνα κορωνοϊού.....	19
Εικόνα 1.5: Χρονοδιάγραμμα και βασικές ιδιότητες των 7 ανθρώπινων κορωνοϊών .....	21
Εικόνα 1.6.: Προέλευση και μετάδοση των κορωνοϊών μεταξύ ξενιστών και ανθρώπων .....	22
Εικόνα 1.7.: Φυλογενετικό δέντρο των ιικών ειδών στη τάξη Nidovirales.....	25
Εικόνα 1.8.: Ταξονομία των ανθρώπινων κορωνοϊών.....	26
Εικόνα 1.9.: Γονιδιωματική και πρωτεομική οργάνωση των οικογενειών Coronaviridae, Arteriviridae, Roniniridae και Mesoniviridae, καθώς και της PSCNV της Nidovirales order.....	26
Εικόνα 1.10.: Alphacoronavirus, Virion.....	28
Εικόνα 1.11.: Ξενιστές και συνέπειες μόλυνσης στον άνθρωπο.....	29
Εικόνα 1.12.: Παγκόσμια κατανομή κρουσμάτων και θανάτων του SARS .....	32
Εικόνα 1.13.: Χρονοδιάγραμμα εξέλιξης του SARS.....	33
Εικόνα 1.14.: Γεωγραφική κατανομή και τρόποι μετάδοσης του MERS-CoV.....	37
Εικόνα 1.15.: Γονιδίωμα IBV.....	40
Εικόνα 2.16.: Φυλογενετικό δέντρο των αλληλουχιών γονιδιώματος των SARS-CoV-2, SARSr-CoV και άλλων βήτακορωνοϊών.....	45
Εικόνα 2.17.: Η οργάνωση του SARS-CoV-2.....	50
Εικόνα 2.18.: Οι δομές των SARS-CoV-2 spikes.....	52

Εικόνα 2.19.: Απεικόνιση με μοτίβο κορδέλας 5 πρωτεϊνών φακέλου του SARS-CoV-2 που σχηματίζουν έναν πόρο.....	53
Εικόνα 2.20.: Δομή του SARS-CoV-2, βασικές πρωτεΐνες και δομή της πρωτεΐνης του νουκλεοκαψιδίου.....	54
Εικόνα 2.21.: Πρωτεάση Μ και πρωτεάση περόμοια με την παπαΐνη.....	55
Εικόνα 2.22.: Σύνοψη των γνωστών μηχανισμών δράσης των βοηθητικών πρωτεϊνών του SARS-CoV-2 στο μολυσμένο κύτταρο.....	57
Εικόνα 2.23.: Α: Τρισδιάστατη δομή και τμηματική οργάνωση της πρωτεΐνης ακίδας του SARS-CoV-2. Β: Είσοδος του SARS-CoV-2 στο κύτταρο: μέσω σύνδεσης με τον υποδοχέα TMPRSS2 και είσοδος μέσω ενδοκυττάρωσης.....	59
Εικόνα 2.24.: Κλινικές εκδηλώσεις της COVID-19.....	64
Εικόνα 2.25.: Σχηματική αποτύπωση διαφόρων μεθόδων ανίχνευσης SARS-CoV-2.....	71
Εικόνα 2.26.: Ανασκόπηση της ανοσολογικής απόκρισης έναντι της COVID-19.....	86
Εικόνα 2.27.: Διάφορες πλατφόρμες ανάπτυξης εμβολίων.....	88
Εικόνα 2.28.: Μηχανισμός δράσης και ανοσοαπόκριση από εμβόλια mRNA, εμβόλια αδενοϊών και αδρανοποιημένα εμβόλια.....	102
Εικόνα 2.29.: Σχηματική απεικόνιση τρόπου δράσης εμβολίων έναντι του SARS-CoV-2.....	109

# 1<sup>ο</sup> Μέρος

## 1. Πανδημίες

“ἐγὼ δὲ οἶόν τε ἐγίγνετο λέξω, καὶ ἀφ’ ὧν ἂν τις σκοπῶν, εἴ ποτε καὶ αὖθις ἐπιπέσοι, μάλιστ’ ἂν ἔχοι τι προειδῶς μὴ ἀγνοεῖν, ταῦτα δηλώσω αὐτός τε νοσήσας καὶ αὐτὸς ἰδὼν ἄλλους πάσχοντας.”

Θουκυδίδης, Ἱστορία Β΄, 47-54

Ἡ πρώτη καταγεγραμμένη χρήση του ὀρου πανδημία εντοπίζεται το 1666, ὅταν ὁ Ἀγγλὸς ἰατρός Gideon Harvey χρησιμοποίησε τὸν ὀρο *Pandemick*, σε συνδυασμὸ με τὸν ὀρο *Epidemick*, γιὰ νὰ προσδιορίσει *μια κακοήθη ασθένεια που γενικά στοιχειώνει μια χώρα* (Honigsbaum, 2009). Ἡ σύγχρονη προσέγγιση τοῦ ὀρου ὀρίζει ὡς πανδημία τὴν ταχεία ἐξάπλωση μιᾶς νέας ασθένειας σε μιὰ ευρεία γεωγραφικὴ περιοχὴ (ὅπως πολλές χώρες ἢ ηπείρους), ἡ ὀποία επηρεάζει καὶ απειλεῖ τὸ σύνολο σχεδόν τοῦ παγκόσμιου πληθυσμοῦ (Morens et al., 2009). Ὀι πανδημίες ἔχουν μιὰ μακρὰ διαδοχὴ καὶ παρουσία καθ’ ὀλή τὴ διάρκεια τῆς ἀνθρώπινης ἱστορίας (εικ. 1). Ἀποτελώντας σημαντικὸ μέρος καὶ επαναλαμβανόμενο χαρακτηριστικὸ τῆς ἀνθρώπινης ὑπαρξῆς, ἦταν καὶ συνεχίζουν νὰ εἶναι, μιὰ διαρκῶς παρούσα ἀπειλὴ με καταστροφικὲς συνέπειες καὶ ἀπρόβλεπτες προκλήσεις γιὰ τὴν ἀνθρωπότητα ἐν γένει (Pitoyo, 2020; Ismaila et al., 2021).

Ελάχιστα φαινόμενα, εἶχαν καὶ ἔχουν τὴ δύναμη νὰ διαμορφώνουν τόσο ριζικὰ τὶς κοινωνικοοικονομικὲς, πολιτικὲς, θρησκευτικὲς καὶ πολιτιστικὲς πτυχὲς τοῦ ἀνθρώπινου γίνεσθαι, ὅπως ὀι ἐστῆς τῶν μολυσματικῶν ἀσθενειῶν (Huremonić, 2019). Κατὰ τὴ δαιδαλώδη καὶ ἐπίπονη πορεία τοῦς στον χρόνο, τὰ ξεσπάσματα πανδημιῶν, μεταξύ ἄλλων, ἀποδεκάτισαν κοινωνίες, καθόρισαν ἐκβάσεις πολέμων καὶ ἐξαφάνισαν ὀλόκληρους πολιτισμοῦς, τὴν ἰδία ὀρα που, παραδόξως, ἀνοἱξαν τὸ δρόμο γιὰ καινοτομία καὶ πρόοδο, διαμορφώνοντας ὀρισμένους ἀπό τοῦς βασικοῦς πυλώνες καὶ στοιχεῖα τῆς σύγχρονης ἱατρικῆς, ὀθώντας παράλληλα, τὴν ἐπιστημονικὴ κοινότητα νὰ ἀναπτύξει ἀρχὲς ἐπιδημιολογίας, πρόληψῆς, ἀνοσοποίησης καὶ ἀντιμικροβιακῶν

θεραπειών (Scheidel, 2017). Σύμφωνα με τους ιστορικούς ωστόσο, μια πανδημία μπορεί να έχει είτε ένα κοινωνικό, είτε ένα ιατρικό τέλος, χωρίς αυτά τα δύο κατ' ανάγκη να συμβαδίζουν. Το κοινωνικό τέλος συμβαίνει όταν μεταξύ των ανθρώπων εξασθενεί ο φόβος για την ασθένεια, ενώ το ιατρικό, όταν τα νέα κρούσματα και τα ποσοστά θνησιμότητας πέφτουν κατακόρυφα (Kolata, 2021).

Pandemic	Organism	Cause	Region	Period
Athenian plague	<i>Salmonella</i> spp. or Ebola virus	Bacteria or virus	Greece, Egypt, Libya	430–427/425 BC
Antonine plague	<i>B. anthracis</i> or smallpox virus	Bacteria or virus	Roman empire	165–180 AD
Plague of Justinian	<i>Y. pestis</i>	Bacteria	Eastern roman empire	541–750/767 AD 6 <sup>th</sup> –8 <sup>th</sup> centuries AD
Black death	<i>Y. pestis</i>	Bacteria	Worldwide	1334–1400
Typhus	<i>Rickettsia prowazekii</i>	Bacteria	Europe	1501–1587
Influenza		Virus	Europe	1781–1782
Cholera 1 <sup>st</sup> pandemic	<i>V. cholera</i>	Bacteria	Asia, Turkey	1817–1823
Cholera 2 <sup>nd</sup> pandemic	<i>V. cholera</i>	Bacteria	Worldwide	1821–1851
Cholera 3 <sup>rd</sup> pandemic	<i>V. cholera</i>	Bacteria	Worldwide	1852–1859
Cholera 4 <sup>th</sup> pandemic	<i>V. cholera</i> O1 classical	Bacteria	Worldwide	1863–1879
Cholera 5 <sup>th</sup> pandemic	<i>V. cholera</i> O1 classical	Bacteria	Worldwide	1881–1896
Influenza	Influenza A virus	Virus	Worldwide	1889–1892
Modern plague	<i>Y. pestis</i>	Bacteria	Worldwide	1894–date
Cholera 6 <sup>th</sup> pandemic	<i>V. cholera</i>	Bacteria	Middle East, Africa, Europe	1899–1923
Spanish flu	Influenza A virus H1N1	Virus	Worldwide	1918–1919
Asian flu	Influenza A virus H2N2	Virus	Worldwide	1957–1958
Cholera 7 <sup>th</sup> pandemic	<i>V. cholerae</i> O1 El Tor	Bacteria	Worldwide	1961–1975
Hong Kong flu	Influenza A virus H2N3	Virus	Worldwide	1968–1970
HIV/AIDS	HIV-1, HIV-2	Virus	Worldwide	1980 to date
SARS	SARS CoV	Virus	5 continents	2002–2003
Swine flu	Influenza A virus H1N1	Virus	Worldwide	2009–2010
MERS	MERS–CoV	Virus	4 continents	2012 to date
Ebola	Ebola virus	Virus	West Africa, America	2013–2016
Zika	Zika virus	Virus	Pacific Islands, South Central and North America	2014–2016
COVID-19	SARS-CoV-2	Virus	Worldwide	2019 to date

Εικόνα 1: Πανδημίες από την αρχαιότητα ως τις μέρες μας. Πηγή: [https://www.mdcan-uath.org/viewimage.asp?img=NNigerJClinRes\\_2021\\_10\\_17\\_7\\_314601\\_t1.jpg](https://www.mdcan-uath.org/viewimage.asp?img=NNigerJClinRes_2021_10_17_7_314601_t1.jpg)

Ο βασικός μηχανισμός μέσω του οποίου οι αναδυόμενες λοιμώξεις έχουν πλήξει τους ανθρώπους, σε όλη τη διάρκεια της καταγεγραμμένης και μη ιστορίας (Wolfe et al., 2007), είναι η μετάδοση παθογόνων μικροοργανισμών από τα ζώα στον άνθρωπο, εξαιτίας της αυξημένης αλληλεπίδρασής τους, μέσω του κυνηγιού, της εκτροφής ζώων,

του εμπορίου εξωτικών κατοικίδιων ζώων, τη διαχείριση ζωοτροφών κ.ά. (Bengis et al., 2004). Παράλληλα, η διεύρυνση των κοινωνιών και η συσσώρευση πληθυσμών στα αστικά κέντρα, οδήγησε σε εκτεταμένες εμπορικές συναλλαγές και ταξίδια, συμβάλλοντας στην εμφάνιση και εξάπλωση διαφόρων μολυσματικών ασθενειών (Lindahl & Grace, 2015). Επιπροσθέτως, η κλιματική αλλαγή έχει σημαντικό αντίκτυπο στη μετάδοση των ζωνόσων λοιμώξεων, καθώς επηρεάζει δραστικά το περιβάλλον των φορέων τους (Caminade et al., 2019), ενώ και η αυξημένη χρήση γης λόγω της επέκτασης του ανθρώπινου πληθυσμού, αλλάζει επίσης την κατανομή αυτών των φορέων (White & Razgour, 2020). Την ίδια στιγμή, έχουν αναφερθεί φαινόμενα πανδημιών σε περιοχές όπου σημειώθηκαν φυσικές ή άλλες καταστροφές, όπως σεισμοί, πλημμύρες και πόλεμοι (Piret & Boivin, 2021). Επιπλέον, η κακή υγιεινή και η μικροβιακή αντοχή είναι δύο από τις κύριες αιτίες που αυξάνουν τις πιθανότητες μιας μελλοντικής πανδημίας (Cutler et al., 2010; Ukuhor, 2021). Παράλληλα, η έλλειψη εργαζομένων στον τομέα της υγείας και τα ανεπαρκώς προετοιμασμένα συστήματα υγείας παγκοσμίως, επηρεάζουν την ικανότητα ελέγχου της κατάστασης σε περίπτωση εξάπλωσης παθογόνων από ενδημικές σε μη ενδημικές περιοχές (Turale et al., 2020). Τέλος, εξαιρετικά μεταδοτικοί ή ανθεκτικοί στη θεραπεία μολυσματικοί παράγοντες (όπως π.χ. *Bacillus anthracis*, *Yersinia pestis*, ιός *variola* κ.ά.), θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως βιολογικά όπλα, αποτελώντας σημαντική απειλή για την ανθρωπότητα (Narayanan et al., 2018; Oliveira et al., 2020). Τα σημαίνοντα αυτά δεδομένα, είναι εξ ορισμού πολύσημα και καθορίζουν τις κυριότερες αιτίες εμφάνισης των πανδημιών. Έτσι, καθίσταται σαφές ότι η κατανόηση των μηχανισμών ανάπτυξης και μετάδοσης των πανδημιών είναι ζωτικής σημασίας, για την πρόληψη, τον έλεγχο και την αποφυγή εξάπλωσής τους (Sampath et al., 2021).

Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω δεδομένα, κατανοούμε ότι μία πανδημία εξελίσσεται σταδιακά, αποτελώντας μια προκύπτουσα κατάσταση διαφόρων φάσεων, οι οποίες, ενώ διαδέχεται η μία την άλλη, στην πράξη δεν ακολουθούν μια γραμμική πορεία ανάπτυξης αλλά επικαλύπτονται, συνδέονται και αλληλοτροφοδοτούνται, με κάποιες εξ αυτών να συμβαίνουν ταυτόχρονα, έχοντας ως αποτέλεσμα, ποικίλες χώρες, καθώς και διάφορα τμήματα της ίδιας χώρας, να βρίσκονται την ίδια χρονική στιγμή, σε διαφορετικά στάδια ή φάσεις της πανδημίας (Katella, 2020). Τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει προσπάθειες ταξινόμησης αυτών των φάσεων και σταδίων μιας πανδημίας. Το CDC (Centers for Disease Control and Prevention), μέσω του Pandemic Intervals Framework (PIF, 2016), αναγνωρίζει και προσδιορίζει έξι στάδια στην εξέλιξη μιας

πανδημίας. Το πρώτο αφορά την έρευνα, ενώ ακολουθούν τα στάδια της αναγνώρισης, της έναρξης και της εγρήγορσης, όταν πλέον η πανδημία βρίσκεται στην κορύφωσή της. Στη συνέχεια, βρίσκεται το στάδιο της επιβράδυνσης, κατά το οποίο ο ρυθμός μόλυνσης αρχίζει να μειώνεται και τέλος, το στάδιο της επαγρύπνησης, όπου η πανδημία έχει υποχωρήσει, ενώ παράλληλα λαμβάνουν χώρα ενέργειες που περιλαμβάνουν, αφενός μεν τη συνεχή παρακολούθηση της δραστηριότητας του μολυσματικού παράγοντα, αφετέρου δε, την προετοιμασία για την αντιμετώπιση της πιθανής επανεμφάνισης ενός νέου πανδημικού κύματος.

Ομοίως, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO, εφεξής ΠΟΥ) δημιούργησε -το 1999 με δύο αναθεωρήσεις το 2005 και το 2009- ένα σύστημα προειδοποίησης έξι φάσεων<sup>1</sup>, φιλοδοξώντας να λειτουργήσει ως ένα πλαίσιο ενημέρωσης παγκόσμιας εμβέλειας, συμβάλλοντας επικουρικά στην χάραξη των εκάστοτε εθνικών πολιτικών σχεδιασμού, προετοιμασίας, διαχείρισης και αντιμετώπισης των πανδημιών (WHO, 2009). Πιο συγκεκριμένα, η πρώτη φάση αφορά στον εντοπισμό του μολυσματικού παράγοντα σε ζώα, ο οποίος, μέχρι εκείνη την στιγμή, δεν έχει προκαλέσει καμία γνωστή μόλυνση στον άνθρωπο. Στη δεύτερη φάση, ο ζωνοσογόνος μικροοργανισμός έχει εξαπλωθεί στους ανθρώπους, ενώ στην τρίτη φάση, εντοπίζονται διάσπαρτα περιστατικά της νόσου σε μικρές ομάδες ανθρώπων, τα οποία όμως δεν αποτελούν ακόμα εστίες ευρείας μετάδοσης. Στη τέταρτη φάση, εντοπίζονται κρούσματα σε ομάδες πληθυσμού εντός της ίδιας κοινότητας, ενώ στην πέμπτη φάση, η ασθένεια εξαπλώνεται μεταξύ των ανθρώπων σε περισσότερες από μία χώρες που ανήκουν στην ίδια υγειονομική περιφέρεια του ΠΟΥ. Στην έκτη και τελευταία φάση, τουλάχιστον μία ακόμη χώρα, που ανήκει σε διαφορετική υγειονομική περιφέρεια από τις χώρες της πέμπτης φάσης, έχει κρούσματα σε επίπεδο κοινότητας. Το σύστημα αυτό ωστόσο, αποδείχτηκε ανεπαρκές στην περίπτωση της τρέχουσας πανδημίας, με αποτέλεσμα ο ίδιος ο οργανισμός να σταματήσει την χρήση του (Nebehay, 2020).

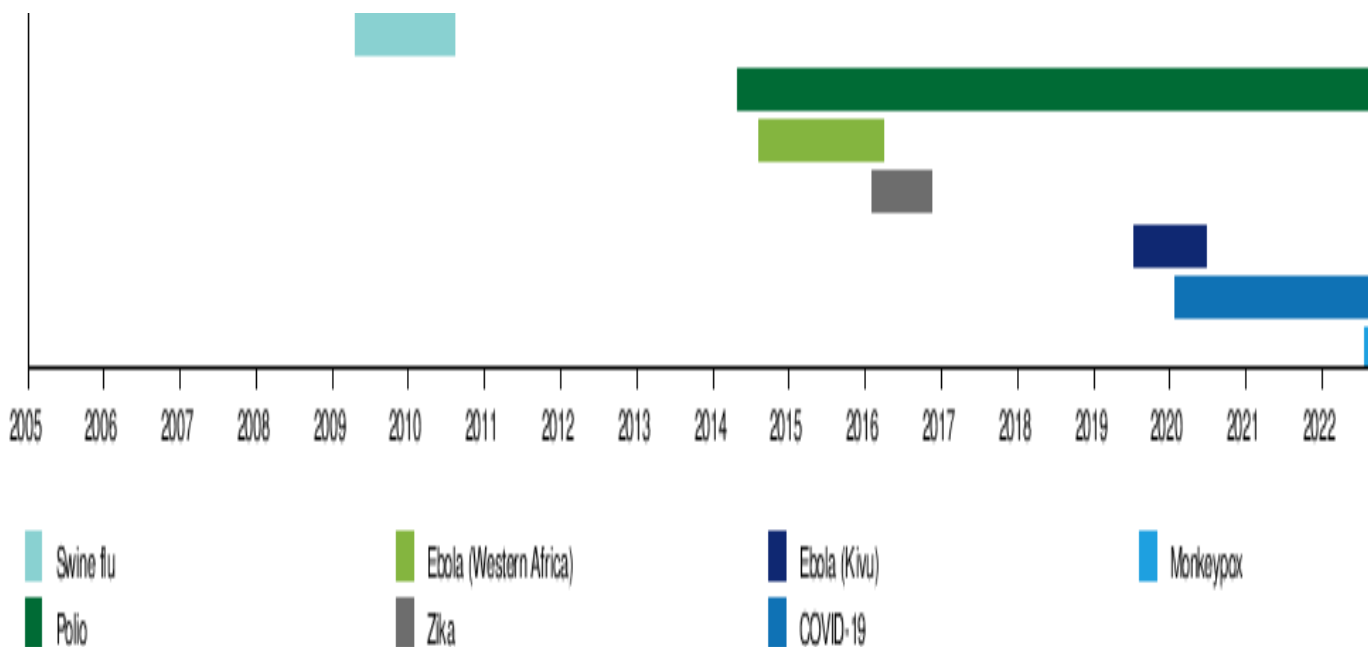
Παράλληλα με το προαναφερθέν σύστημα προειδοποίησης, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (2016a) έχει, από το 2005, τη δυνατότητα κήρυξης κατάστασης έκτακτης ανάγκης διεθνούς ενδιαφέροντος για τη δημόσια υγεία PHEIC (Public Health Emergency of International Concern). Η ενέργεια αυτή, η οποία έχει ενεργοποιηθεί για

---

<sup>1</sup> Οι αναθεωρήσεις του 2005 και 2009 συμπεριέλαβαν επιπλέον την περίοδο μετά την κορύφωση της πανδημίας, την περίοδο της επαγρύπνησης για την αποφυγή εμφάνισης νέου πιθανού κύματος, καθώς και την περίοδο που ακολουθεί μετά τον τερματισμό της πανδημίας.



επτά περιπτώσεις μέχρι σήμερα (εικ. 2), υποδηλώνει ότι μία νόσος είναι *σοβαρή, ξαφνική, ασυνήθιστη ή απροσδόκητη*, ενέχει κίνδυνο εξάπλωσης σε άλλες χώρες, εκτός από την χώρα προέλευσης της και απαιτεί άμεση διεθνή ανταπόκριση και δράση. Σύμφωνα με τους Διεθνείς Κανονισμούς Υγείας (IHR) (WHO, 2016), τα κράτη έχουν τη νομική υποχρέωση να ειδοποιούν τον ΠΟΥ όταν εμφανίζονται επιδημίες, καθώς και να ανταποκρίνονται άμεσα σε PHEIC ακολουθώντας τις κατευθυντήριες οδηγίες που διατυπώνει ο Οργανισμός, χωρίς ωστόσο να υπάρχει δυνατότητα επιβολής σοβαρών κυρώσεων σε χώρες που δεν συμμορφώνονται με το κανονιστικό πλαίσιο (Maxmen, 2021).



Εικόνα 2: Σύνοψη των PHEICs μέχρι σήμερα. Πηγή: <https://www.chinz.ac.nz/indicators/border-health/overseas-infectious-diseases-of-concern/#References>

## 2. Κορωνοϊοί

*What immortal hand or eye,*

*Could frame thy fearful symmetry?*

William Blake (1794) “*The Tyger*”

Στα τέλη του 18<sup>ου</sup> αιώνα, ο ποιητής William Blake στοχάστηκε πάνω στην προέλευση της τίγρης και του αρνιού, ενός ερωτήματος που θα μπορούσε κάλλιστα και σήμερα να αποτελέσει θέμα συζήτησης μεταξύ εξελικτικών βιολόγων και θεολόγων. Επιχειρώντας τη σκιαγράφιση του κορωνοϊού, του οποίου η εικόνα της συμμετρικής όψης του έχει πλέον αποτυπωθεί στο μυαλό όλων μας, μπορούμε να αναρωτηθούμε όπως έκανε ο Blake πριν δύο αιώνες: *Did he who make the lamb make thee?* (Balaram, 2021). Η πρώτη βιβλιογραφικά τεκμηριωμένη περιγραφή κορωνοϊού έλαβε χώρα κατά τη δεκαετία του 1930, όταν οι Schalk και Hawn το 1931 και οι Bushnell και Brandly το 1933, περιέγραψαν μια νέα αναπνευστική λοίμωξη σε εξημερωμένα κοτόπουλα, η οποία προκαλούσε δύσπνοια και ατονία στους νεοσσούς, έχοντας ποσοστά θνησιμότητας που κυμαίνονταν μεταξύ 40 και 90% (Fabricant, 1998). Το 1936, οι Beach και Schalm επιβεβαίωσαν ότι η λοίμωξη οφείλονταν στην ύπαρξη ενός ιού, εντοπίζοντας δύο στελέχη του με διασταυρούμενη ανοσία. Ο ιός της λοιμώδους βρογχίτιδας (IBV) που προκαλούσε την ασθένεια, απομονώθηκε και καλλιεργήθηκε με επιτυχία τόσο το 1937 από τους Beaudette και Hudson, όσο και το 1947 από τους Cunningham και Stuart. Στη δεκαετία του 1940, απομονώθηκαν δύο ακόμη κορωνοϊοί ζώων, ο ιός της ηπατίτιδας των ποντικών (MHV) από τους Gledhill και Andrewes, καθώς και ο ιός της μεταδοτικής γαστρεντερίτιδας των χοίρων (TGEV), από τους Doyle και Hutchings, χωρίς ωστόσο να γίνεται τότε αντιληπτό το γεγονός, ότι αυτοί οι τρεις φαινομενικά διαφορετικοί ιοί, σχετίζονταν μεταξύ τους (Gozlan, 2020).

Οι ανθρώπινοι κορωνοϊοί ανακαλύφθηκαν τη δεκαετία του 1960 (Kahn & McIntosh, 2005) και απομονώθηκαν, στο Ηνωμένο Βασίλειο και τις Ηνωμένες Πολιτείες, με την χρήση δύο διαφορετικών μεθόδων (Monto, 1989). Οι Kendall, Byone και Tyrrell, που εργάζονταν στη Common Cold Unit του British Medical Research Council, απομόνωσαν, το 1960 από ένα νεαρό αγόρι, έναν νέο ιό του κοινού κρυολογήματος, τον B814 (Kendall, Bynoe & Tyrrell, 1962; Richmond, 2005). Ο ιός ωστόσο, δεν μπόρεσε

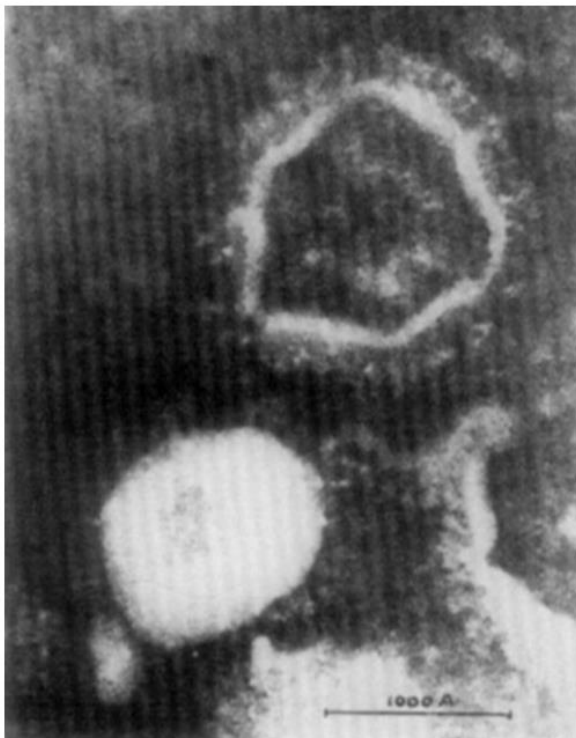
να καλλιεργηθεί με την χρήση των τότε διαθέσιμων υπαρχουσών τεχνικών οι οποίες είχαν εφαρμοστεί με επιτυχία σε ρινοϊούς, αδενοϊούς και άλλους γνωστούς ιούς του κοινού κρυολογήματος (Singh N. et. al., 2020). Ήταν το 1965, όταν οι Tyrrell και Bynoe, εφαρμόζοντας μια νέα μέθοδο καλλιέργειας, η οποία εισήχθη στο εργαστήριο από τον Hoorn (Tyrrell & Fielder, 2002), κατάφεραν να απομονώσουν με επιτυχία το νέο ιό, περνώντας τον σειριακά, μέσω καλλιέργειας οργάνων ανθρώπινης εμβρυϊκής τραχείας (Tyrrell & Bynoe, 1965). Ο απομονωμένος ιός όταν ενοφθαλμίστηκε ενδορρινικά σε εθελοντές, προκάλεσε κρυολόγημα και απενεργοποιήθηκε από αιθέρα, γεγονός που αποδείκνυε την ύπαρξη λιπιδικού περιβλήματος (Kendall, Bynoe & Tyrrell, 1962; Hagan, 1988). Την ίδια εποχή, στην άλλη μεριά του Ατλαντικού, μια ομάδα ειδικών των National Institutes of Health (NIH) της Αμερικής, με επικεφαλής τον McIntosh, χρησιμοποιώντας τεχνική παρόμοια με αυτή των Tyrrell και Bynoe (Kahn & McIntosh, 2005), κατάφεραν να ανακτήσουν από ανθρώπινη αναπνευστική οδό, πολλαπλά στελέχη παραγόντων επίσης ευαίσθητων στον αιθέρα. Οι ιοί αυτοί ονομάστηκαν «OC» για να δηλώσουν ότι αναπτύχθηκαν σε καλλιέργειες οργάνων και μεταξύ άλλων περιλάμβαναν τους OC43, OC16, OC37 και OC48 (McIntosh et al., 1967). Εκείνη την χρονική περίοδο και οι Hamre και Procknow του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου του Σικάγο, στο πλαίσιο μελέτης τους για αναπνευστικές νόσους, απομόνωσαν σε δείγματα φοιτητών, έναν νέο ιό κρυολογήματος τον οποίο ανέπτυξαν σε καλλιέργεια ιστού νεφρού. Ο ιός 229E όπως ονομάστηκε, παρόμοια με τον B814 και τους ιούς OC, όταν εμβολιάστηκε σε εθελοντές προκάλεσε κρυολόγημα και αδρανοποιήθηκε από τον αιθέρα (Hamre & Procknow, 1966), ενώ δεν σχετιζονταν με κανένα γνωστό μυξοϊό ή παραμυξοϊό (Kahn & McIntosh, 2005).

Τον Απριλίο του 1967, οι Tyrrell και Almeida βρήκαν, ύστερα από ηλεκτρονική μικροσκοπία σε υγρά από καλλιέργειες οργάνων που είχαν μολυνθεί με τον B814, ότι ο ιός φέρει παρόμοια μορφολογικά χαρακτηριστικά με αυτά των IBV των κοτόπουλων, MHV των ποντικών καθώς και TGEV των χοίρων, που είχαν απομονωθεί τα προηγούμενα χρόνια (Hamre & Procknow, 1966; Tyrrell & Bynoe, 1966; McIntosh et al., 1967) (εικ. 3), ενώ και ο παράγοντας 229E και οι ιοί OC είχαν παρόμοια μορφολογία (Kahn & McIntosh, 2005).

PROPERTIES OF THESE VIRUSES				
Size.	Filtration Electron microscopy*	Avian	Mouse	Human
		infectious bronchitis	hepatitis	strains
		80-120 mμ	100 mμ	89 mμ
Characteristic surface structure		+	+	+
Essential lipid (ether lability)		+	+	+
Apparent ribonucleic acid content (unsusceptibility to DNA inhibitors)		+	+	+
Density of infectious unit		1.18	?	1.19
Replication in cytoplasmic vesicles		+	+	+

\* Negative contrast technique—projections are included in the diameter of the particle.

Εικόνα 3: Λεπτομέρειες για τις ιδιότητες των κορωνοϊών, όπως δημοσιεύθηκαν για πρώτη φορά το 1968. Πηγή: <https://doi.org/10.1038/220650b0>



Εικόνα 4: Η πρώτη μικροσκοπική εικόνα κορωνοϊού. Πηγή: Berry et al., (1964).

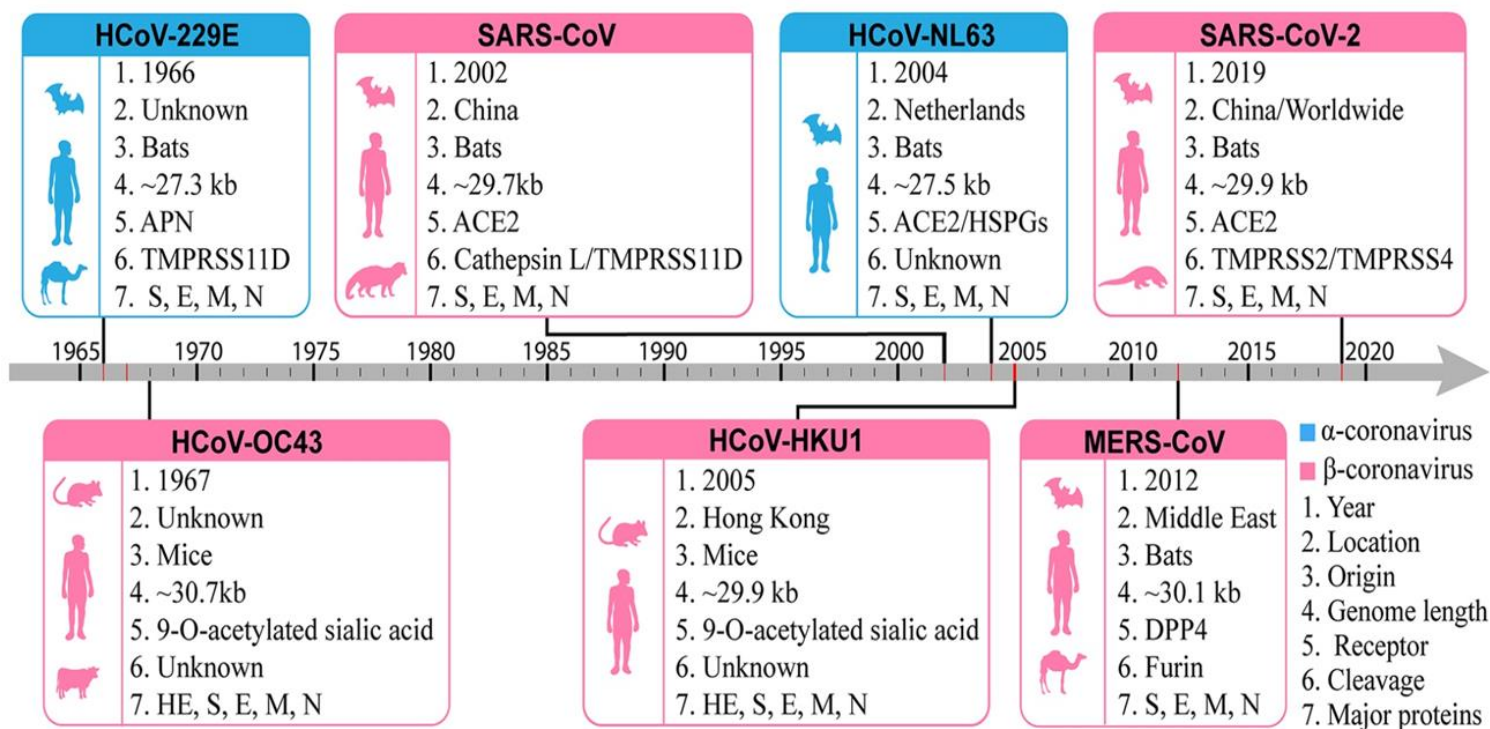
Στις 16 Νοεμβρίου του 1968, μια ομάδα οκτώ ιολόγων αποτελούμενη από τους: Almeida, Berry, Cunningham, Hamre, Hofstad, Mallucci, McIntosh και Tyller, δημοσιεύουν τα παραπάνω ευρήματα στο British Medical Journal, σε ένα μικρής έκτασης δοκίμιο, στον τίτλο του οποίου κάνει την εμφάνισή του για πρώτη φορά, ο νεολογισμός «coronaviruses», μια ονομασία που έδωσαν οι ιολόγοι περιγράφοντας με τον τρόπο αυτό, την χαρακτηριστική μικροσκοπική εμφάνιση (εικ. 4) με την οποία αναγνωρίζονται αυτοί οι ιοί στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο και η οποία προσομοιάζει στο ηλιακό στέμμα.

Το 1971 η επιστημονική ονομασία Coronavirus έγινε αποδεκτή ως όνομα γένους από τη International Committee for the Nomenclature of Viruses (ICNV, μετέπειτα International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV) (Fenner & Maurin, 1976).

Έκτοτε, έχουν μελετηθεί αρκετοί CoVs ανθρώπων και ζώων ενώ έχει αποδειχθεί, με ηλεκτρονική μικροσκοπία μετά από αρνητική χρώση, ότι διαθέτουν χαρακτηριστική δομή virions (βιριόντων). Οι πρώτες διαγνωστικές δοκιμασίες βασίστηκαν σε καλλιέργειες ιστού και η ορολογική επιτήρηση με μέτρηση της σημαντικής αύξησης του

τίτλου αντισωμάτων (Mullabi et al., 2021). Τα HCoV-229E και HCoV-OC43 ήταν τα μόνα στελέχη που παρακολούθηθηκαν μετά το 1965 και έως τη δεκαετία του 1990, επειδή ήταν τα μόνα που μπορούσαν εύκολα να καλλιεργηθούν. Τα άλλα στελέχη (OC16, OC37, OC38, OC44 και OC48) συμπεριλαμβανομένου του πρώτου ταυτοποιημένου ανθρώπινου CoV, του B814, χάθηκαν λόγω ανεπάρκειας τεχνολογικού εξοπλισμού και ως εκ τούτου, δεν πραγματοποιήθηκαν περαιτέρω έρευνες σε αυτά (Van der Hoek, 2007).

Μέχρι σήμερα, έχουν ταυτοποιηθεί 7 συνολικά τύποι κορωνοϊών που μολύνουν ανθρώπους (Ahsan et al., 2021), (εικ. 5). Πιο συγκεκριμένα, μαζί με τους προαναφερθέντες HCoV-229E και HCoV-OC43, ο SARS-CoV το 2003 (Falsey & Walsh 2003), ο HCoV-NL63 το 2004 (van der Hoek et al., 2004), ο HCoV-HKU1 το 2005 (Woo et al., 2005), ο MERS-CoV το 2012 (Zaki et al., 2012) και ο SARS-CoV-2 το 2019 (Zhu et al., 2020). Μεταξύ αυτών, οι SARS-CoV, MERS-CoV και SARS-CoV-2 είναι οι περισσότερο παθογόνοι και επιβλαβείς για τον άνθρωπο (Grellet et al., 2022). Παράλληλα με τους ανθρώπινους κορωνοϊούς, έχει ταυτοποιηθεί και ένας σημαντικός αριθμός κορωνοϊών ζώων που προκαλούν σοβαρές ασθένειες σε οικόσιτα και άγρια ζώα. Για παράδειγμα, οι κορωνοϊοί των χοίρων: ο προαναφερθείς ιός της μεταδοτικής γαστρεντερίτιδας (TGEV), ο ιός του αναπνευστικού συστήματος (PRCV, Chen et al., 2019), ο ιός της επιδημικής διάρροιας (PEDV) (Pensaert & Bouck, 1978), ο δελτακορωνοϊός (PDCoV) (Woo et al., 2012), ο ιός της αιμοσυγκολλητικής εγκεφαλομυελίτιδας (PHEV) (Mora-Díaz et al., 2019) καθώς και ο εντερικός αλφακορωνοϊός (PEAV), επίσης γνωστός και ως κορωνοϊός του συνδρόμου της οξείας διάρροιας των χοίρων (SADS-CoV) (Gong et al., 2017). Εκτός αυτών, έχουν περιγραφεί οι κορωνοϊοί των βοοειδών (BCoV) (Castells et al., 2017), των ιπποειδών (ECoV) (Pusterla et al., 2016), των σκύλων (CCoV) (Decaro et al., 2010), των αιλουροειδών (FCoV) (Li et al., 2019) καθώς και διάφοροι κορωνοϊοί πουλερικών μεταξύ αυτών ο προαναφερθείς ιός της λοιμώδους βρογχίτιδας (IBV) και ο συγγενής κορωνοϊός της γαλοπούλας (TCoV) (Jackwood et al., 2012).



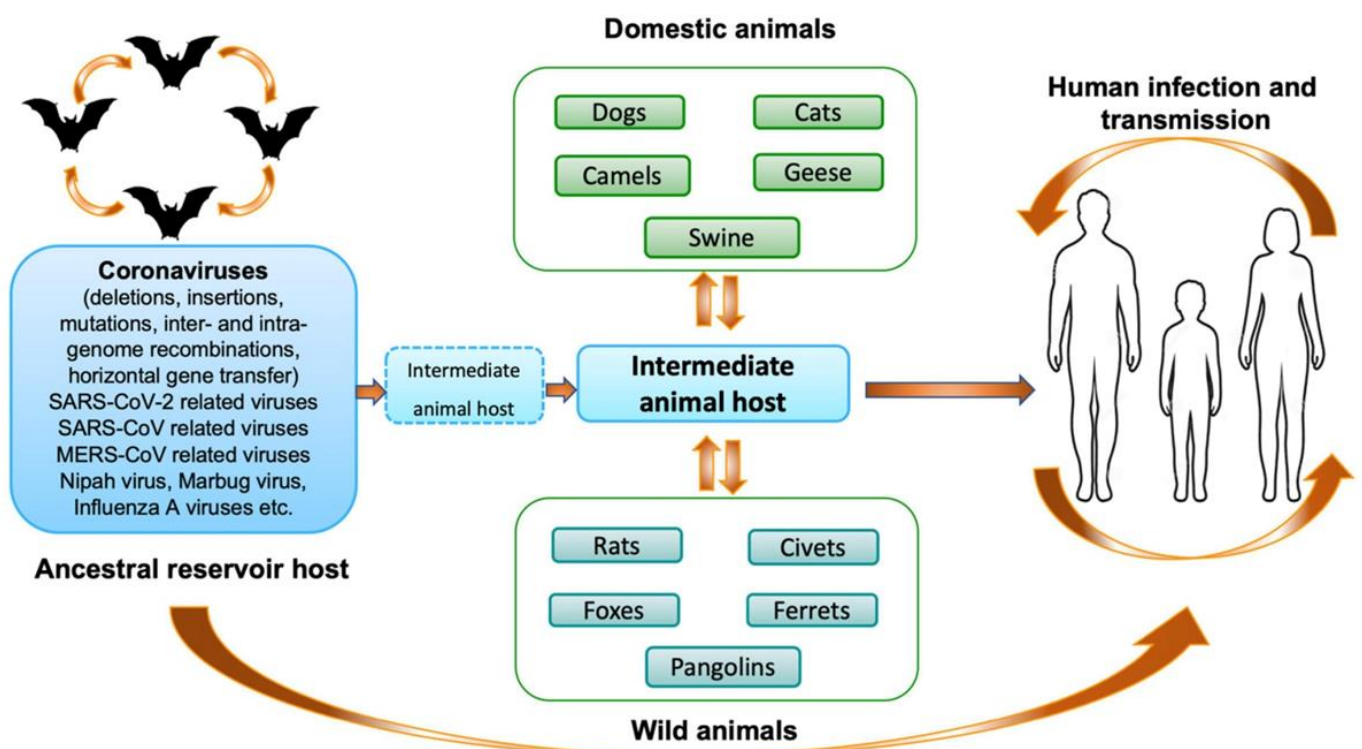
Εικόνα 5: Χρονοδιάγραμμα και βασικές ιδιότητες των 7 ανθρώπινων κορωνοϊών. Πηγή: Ahsan et al., 2021.

Μετά την επιδημία SARS-CoV το 2003, μελέτες ανίχνευσης επιδημικών κορωνοϊών αποκάλυψαν σε πολλά είδη άγριων ζώων, την εκτεταμένη παρουσία μη παθογόνων CoVs με αξιοσημείωτη γενετική ποικιλομορφία (Zhou Z. et al., 2021). Οι φυσικοί ξενιστές αυτών των CoVs περιλαμβάνουν νυχτερίδες, τρωκτικά, αιλουροειδή, άγρια πτηνά, θαλάσσια θηλαστικά κ.ά. (Woo et al., 2012; Hu et al., 2017). Σύμφωνα με τη γονιδιωματική αλληλουχία και τις φυλογενετικές αναλύσεις, έχει αποδειχθεί ότι οι περισσότεροι ανθρώπινοι CoVs προέρχονται από άγρια ζώα, ενώ, προσέτι, η μετάδοση πραγματοποιήθηκε σε άγνωστο χρόνο και μέσω διαφορετικών τρόπων (Cui et al., 2019; Zhou H. et al., 2020). Είναι ιδιαίτερα αξιοσημείωτο το γεγονός, ότι οι τρεις εξαιρετικά παθογόνοι CoVs, SARS-CoV, MERS-CoV και SARS-CoV-2, μπορεί να προέρχονται από νυχτερίδες (Azhar et al., 2014; Wang Q.H. et al., 2014; Zhou H. et al., 2020) (εικ. 6), καθώς σύμφωνα με έρευνα σε δείγμα 12333 νυχτερίδων που αντιπροσωπεύουν 282 είδη από 20 χώρες στην Ασία, την Αφρική και τη Λατινική Αμερική<sup>2</sup>, το 9% εξ αυτών, έφεραν τουλάχιστον έναν από τους 91 διαφορετικούς κορωνοϊούς, ενώ την ίδια στιγμή οι ερευνητές εκτίμησαν πως υπάρχουν τουλάχιστον 3.204 κορωνοϊοί σε αυτές, υποστηρίζοντας την υπόθεση ότι οι νυχτερίδες μπορούν αφενός μεν, να μολυνθούν από

<sup>2</sup> Η επιλογή των χωρών βασίστηκε σε προηγούμενη έρευνα του 2008 των Jones et al., βάσει της οποίας οι χώρες αυτές παρουσίαζαν τα μεγαλύτερα ποσοστά στην ύπαρξη ζωνοσογόνων μικροοργανισμών.



πολλαπλούς κορωνοϊούς, αφετέρου δε, να εμφανιστούν συμβάντα ανασυνδυασμού μεταξύ αρκετών κορωνοϊών που υπάρχουν σε αυτά τα ζώα. Στο πλαίσιο αυτής της έρευνας, οι συγγραφείς παρατήρησαν κάτι εξίσου εξαιρετικά ενδιαφέρον, χωρίς ωστόσο να μπορούν να επιχειρηματολογήσουν επί αυτού: τα συμβάντα αλλαγής ξενιστή (εναλλαγή μεταξύ γένους ή οικογένειας), ήταν αναλογικά χαμηλότερα στη Λατινική Αμερική σε σύγκριση με την Αφρική και την Ασία, υποδηλώνοντας, με τον τρόπο αυτό, ότι τόσο η Αφρική όσο και η Ασία είναι ιδιαίτερα ευάλωτες γεωγραφικές ζώνες για την εμφάνιση ζωνοσογώνων μικροοργανισμών (Anthony et al., 2017).



Εικόνα 6: Προέλευση και μετάδοση των κορωνοϊών μεταξύ ξενιστών κι ανθρώπων. Πηγή: Chazal, 2021.

## 2.1. Τάξη Nidovirales

Η τάξη Nidovirales, -που αρχικά περιείχε μόνο δύο οικογένειες ιών, τους Coronaviridae και Arteriviridae-, προτάθηκε για πρώτη φορά το 1996 από την ICTV, παίρνοντας το όνομά της από τον λατινικό όρο nido, που σημαίνει φωλιά (Pringle, 1996). Η εξέλιξη ωστόσο στις τεχνικές ανίχνευσης ιών και μεταγονιδιωμιατικής, οδήγησαν στην ανακάλυψη επιπλέον ιικών γονιδιωμάτων, γεγονός που επηρέασε αναπόφευκτα την ταξινόμηση των ιών (Shi et al., 2018). Επί του παρόντος, έχουν δημιουργηθεί 8 υποκατηγορίες υπό την τάξη Nidovirales, οι: Abnidovirineae, Arnidovirineae, Cornidovirineae, Mesnidovirineae, Monidovirineae, Nanidovirineae, Ronidovirineae και Tornidovirineae (Walker et al., 2019). Μέχρι πρόσφατα, οι υποκατηγορίες αυτές, περιείχαν συνολικά 109 είδη ιών, (Zhou Z. et al., 2021) (εικ. 7), ενώ κατά τη συγγραφή αυτής της εργασίας, οι υποοικογένειες είναι 27, τα γένη 48 και τα υπογένη 79 (ICTV, 2022). Μεταξύ και των 8 υποκατηγοριών της τάξης Nidovirales, η Cornidovirineae φιλοξενεί τους περισσότερους επιδημικούς ιούς (Kasheh et. al., 2021), ενώ περιέχει μία οικογένεια ιών, την Coronaviridae, η οποία χωρίζεται περαιτέρω σε δύο υποοικογένειες, την Letovirinae και την Orthocoronavirinae. Η πρώτη, περιέχει μόνο το γένος Alphaletovirus, ένα υπογένος, το Milecovirus και ένα είδος, το Microhyla Letovirus 1 (MLeV), το οποίο εντοπίζεται στον ασιατικό βάτραχο Microhyla Fissipes (Bukhari et al., 2018). Από την άλλη και οι 7 ανθρώπινοι ιοί με μορφή «στέμματος» [sic] ανήκουν στην υποοικογένεια Orthocoronavirinae, η οποία περιέχει 4 γένη, το Alphacoronavirus (Alpha-CoV), με 15 υπογένη και 26 είδη, το Betacoronavirus (Beta-CoV), με 5 υπογένη και 14 είδη, το Deltacoronavirus (Delta-CoV), με 3 υπογένη και 7 είδη και το Gammacoronavirus (Gamma-CoV), με 3 υπογένη και 5 είδη (εικ. 8), (ECDC, 2022). Από αυτούς, οι Alpha-CoVs και οι Beta-CoVs μολύνουν μόνο θηλαστικά, ενώ οι Delta-CoVs και οι Gamma-CoVs μολύνουν, ως επί το πλείστον, πτηνά με μερικές μόνο εξαιρέσεις (Woo et al. 2012; Ahsan et al., 2021).

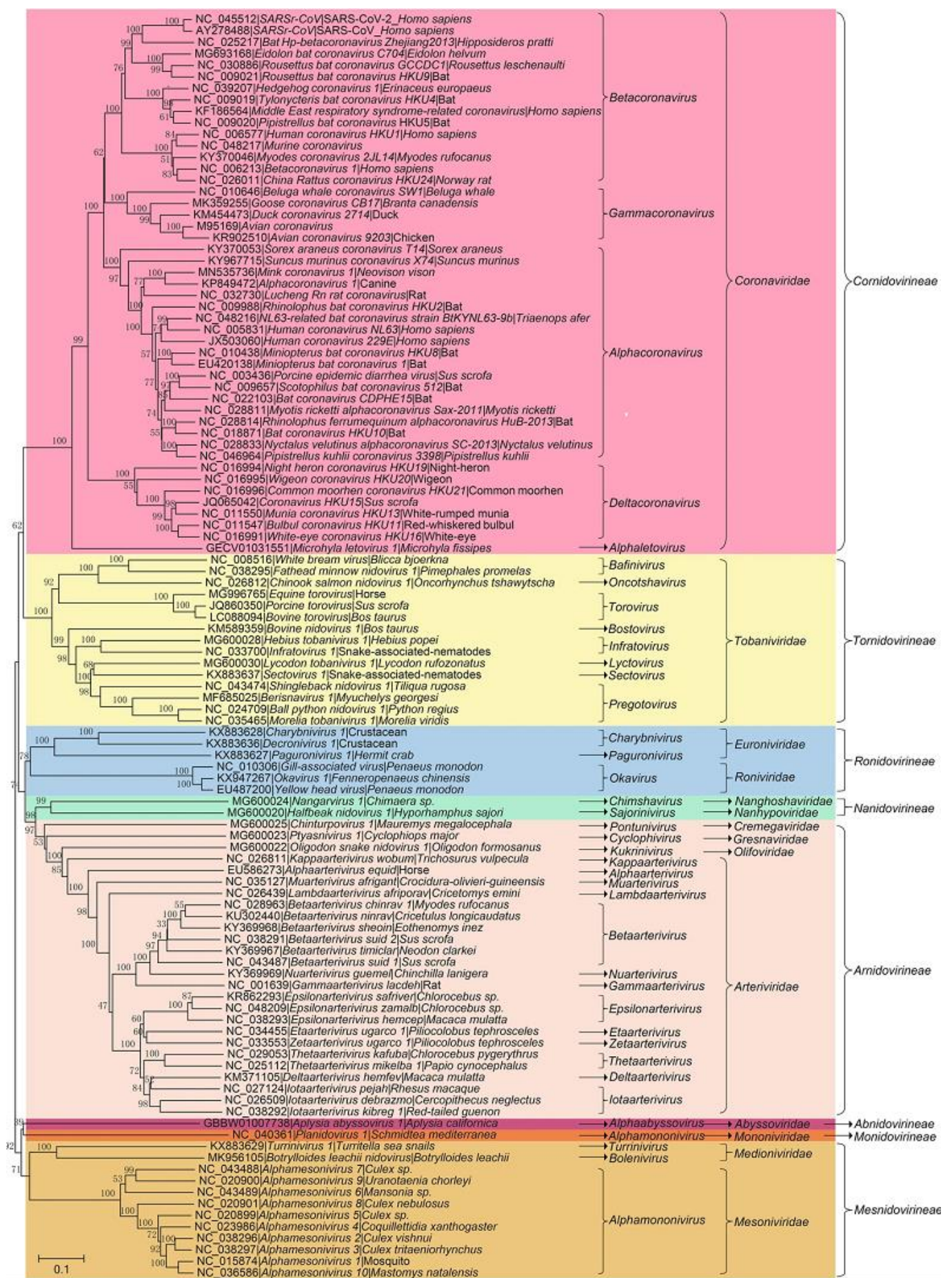


### 2.1.1. Ομοιότητες και κοινά χαρακτηριστικά των ιών της τάξης Nidovirales

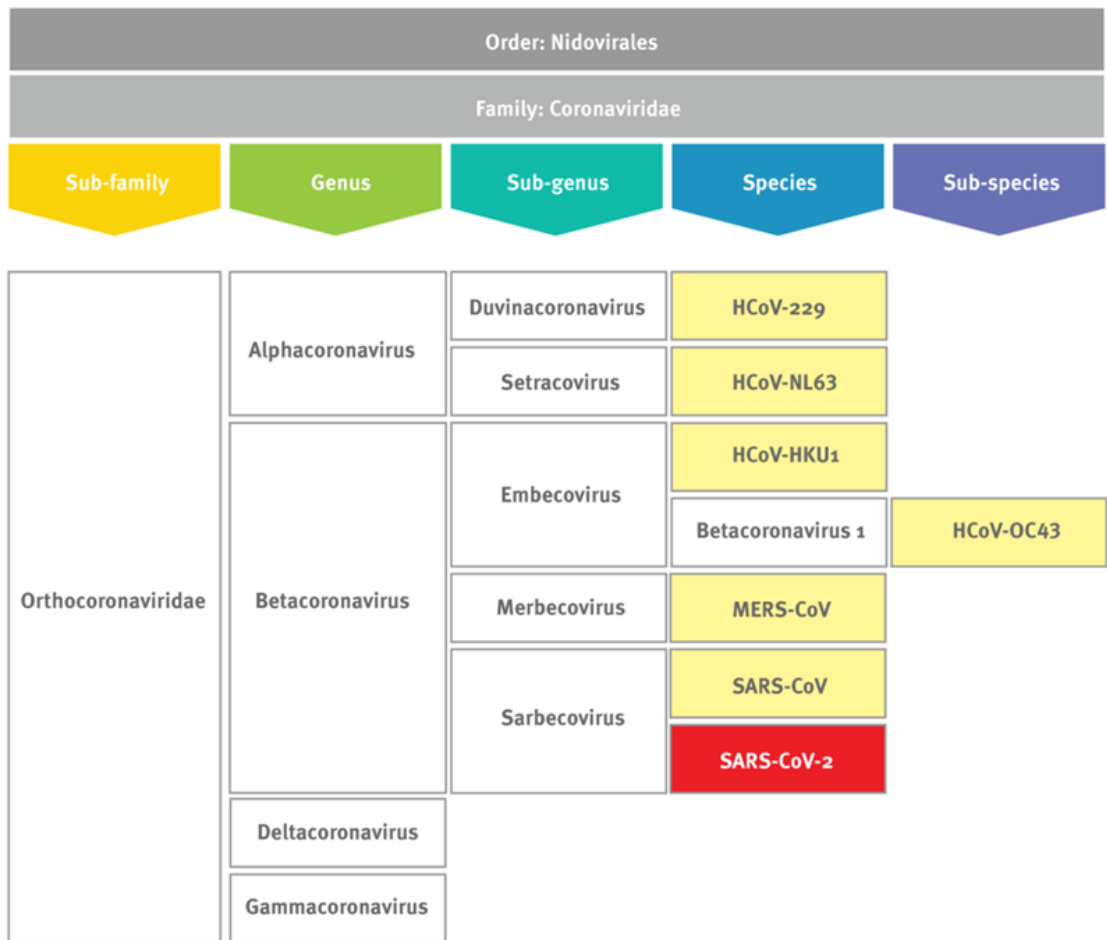
Οι nidoviruses είναι ιοί θετικής πολικότητας, που διαθέτουν μονόκλωνο ριβονουκλεϊκό οξύ με γραμμικό, μη τμηματοποιημένο ιϊκό γονιδίωμα, το μεγαλύτερο μεταξύ όλων των ιών RNA (περίπου 27-41,1 kb)<sup>3</sup>, το οποίο εμπεριέχεται σε ένα ελικοειδές νουκλεοκαψίδιο (Chen et al., 2022). Οι ιοί αυτοί, μοιράζονται ορισμένα σημαντικά κοινά χαρακτηριστικά, παρόλο που το μέγεθος, τόσο των ιϊκών σωματιδίων, όσο και του γονιδιώματος, καθώς και η μορφολογία των ιών σε αυτές τις 8 υποκατηγορίες, ποικίλλουν πολύ (Zhou Z. et al., 2021). Ειδικότερα, το πιο τυπικό χαρακτηριστικό και αυτό που προσδίδει το όνομα τάξης nido-«φωλιά», είναι η μεταγραφή πολλαπλών 3'-φωλεασμένων υπογονιδιωματικών RNA από το 5' άκρο στο 3' άκρο κατά μήκος του γονιδιώματος κατά τη διάρκεια της έκφρασης του ιϊκού γονιδίου (Posthuma et al., 2006). Τα άλλα κοινά χαρακτηριστικά περιλαμβάνουν την παρόμοια οργάνωση του γονιδιώματος, την έκφραση της πολυπρωτεΐνης με λειτουργία μετατόπισης ριβοσωμικού πλαισίου, καθώς και μερικές μη δομικές πρωτεΐνες (NSPs) με μοναδικές δράσεις πρωτεάσης (Posthuma et al., 2008), (εικ. 9). Λόγω της πολυπλοκότητας του γονιδιώματος, το νέο πρότυπο ταξινόμησης της τάξης Nidovirales βασίζεται σε αλληλουχίες αμινοξέων (aa) πολλών χαρακτηριστικών γονιδίων, τα οποία περιλαμβάνουν την 3CLpro (πρωτεάση παρόμοια με 3C), τη NiRAN (νουκλεοτιδυλοτρανσφεράση που σχετίζεται με την RdRp), την RdRp (RNA-εξαρτώμενη RNA πολυμεράση), την ZBD (για δέσμευση Zn με ομοιοπολική σύνδεση με HEL1) και την HEL1 (ελικάση υπεροικογένειας 1) της πρωτεΐνης ρεπλικάσης (ICTV Executive, 2020).

---

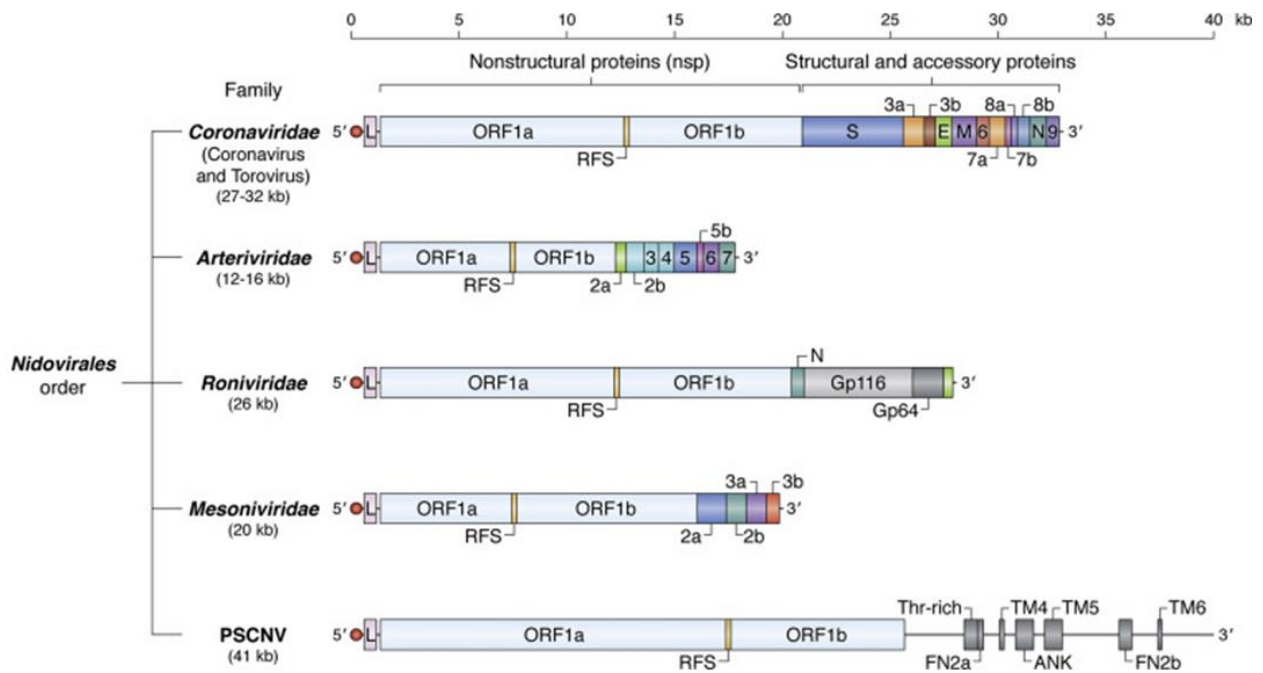
<sup>3</sup> Το 2018 χαρακτηρίστηκε ένας νέος, μη ταξινομημένος nidovirus, με το όνομα planarian secretory cell nidovirus (PSCNV) επεκτείνοντας το μέγεθος του γονιδιώματος στα 41,1 kb (Saber et al., 2018).



Εικόνα 7: Φυλογενετικό δέντρο των ικών ειδών στη τάξη Nidovirales. Πηγή: Zhou Z. et al., 2021.



Εικόνα 8: Ταξονομία των ανθρώπινων κορωνοϊών. Πηγή: ECDC, 2022.



Εικόνα 9: Γονιδιωματική και πρωτεομική οργάνωση των οικογενειών Coronaviridae, Arteriviridae, Roniviridae και Mesoniviridae, καθώς και της PSCNV της Nidovirales order. Πηγή: Grellet et. al., 2022.



### 3. Alpha-CoVs

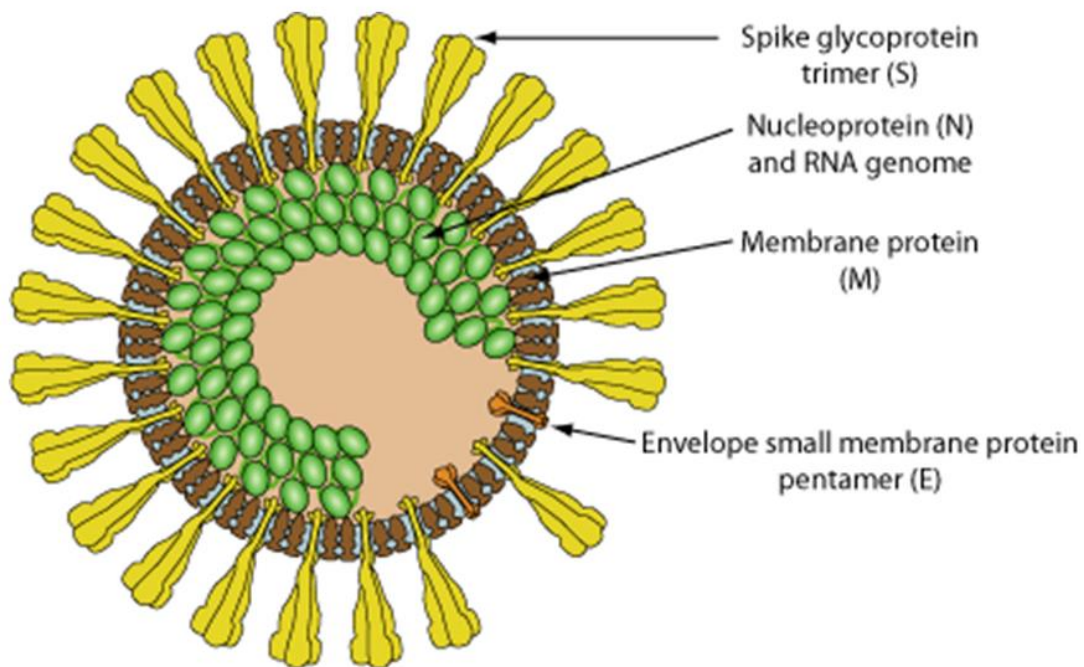
Ο Άλφα κορωνοϊός είναι ελυτροφόρος, σφαιρικού σχήματος, διαμέτρου περίπου 120 nm. Αποτελείται από ένα μονόκλωνο, καλυμμένο και πολυαδενυλιωμένο γραμμικό γονιδίωμα ssRNA(+) -το μεγαλύτερο από όλα τα γονιδιώματα των ιών RNA μεγέθους 27-32 kb- το οποίο συνδέεται με την πρωτεΐνη N για να σχηματίσει το νουκλεοκαψίδιο (Swiss Institute of Bioinformatics, 2020a), (εικ. 10). Μέχρι σήμερα, έχουν εντοπιστεί δύο ανθρώπινοι CoVs (HCoV) στο γένος Alphacoronavirus, οι HCoV-229E και HCoV-NL63, που ανήκουν στα υπογένη Duvinacovirus και Setracovirus, αντίστοιχα (McIntosh et al., 1967; van der Hoek et al., 2004). Οι κορωνοϊοί αυτοί, είναι παγκοσμίως διαδεδομένοι, εντοπίζονται τόσο σε παιδιά όσο και σε ενήλικες, ενώ προκαλούν λοιμώξεις του αναπνευστικού, ήπιας συνήθως συμπτωματολογίας, η οποία προσομοιάζει με εκείνη του κοινού κρυολογήματος (El-Sahly et al., 2000; Van der Hoek et al., 2004) (εικ. 11).

Έρευνες έχουν δείξει, ότι τόσο ο HCoV-229E όσο και ο HCoV-NL63, μοιράζονται κοινούς προγόνους με τους κορωνοϊούς των νυχτερίδων, υποδεικνύοντας, με τον τρόπο αυτό, την πιθανότητα προέλευσης από αυτές (Tao et al., 2017). Κορωνοϊοί που μοιάζουν με τον HCoV-229E, όπως π.χ. τα στελέχη BtKY229E-1, BtKY229E-8 και BtCoV/FO1A-F2, έχουν εντοπιστεί σε νυχτερίδες *Hipposideros* στην Αφρική (Pfefferle et al., 2009; Crossley et al. 2012), ενώ παρόμοιοι με τον 229E ανιχνεύθηκαν επίσης σε καμήλες, συμπεριλαμβανομένων των αλπακά και των αραβικών καμήλων *Dromedary* (Crossley et al., 2012; Corman et al. 2016). Εξαιτίας της μακροχρόνιας επαφής και της αλληλοεπικάλυψης των ενδαιτημάτων, μεταξύ ανθρώπων και καμήλων, μία από τις εικασίες σχετικά με την πορεία μετάδοσης του 229E, είναι ότι ο CoV πρόγονος νυχτερίδας μεταδόθηκε πρώτα στις καμήλες και μετά από τις καμήλες στους ανθρώπους (Corman et al., 2016).

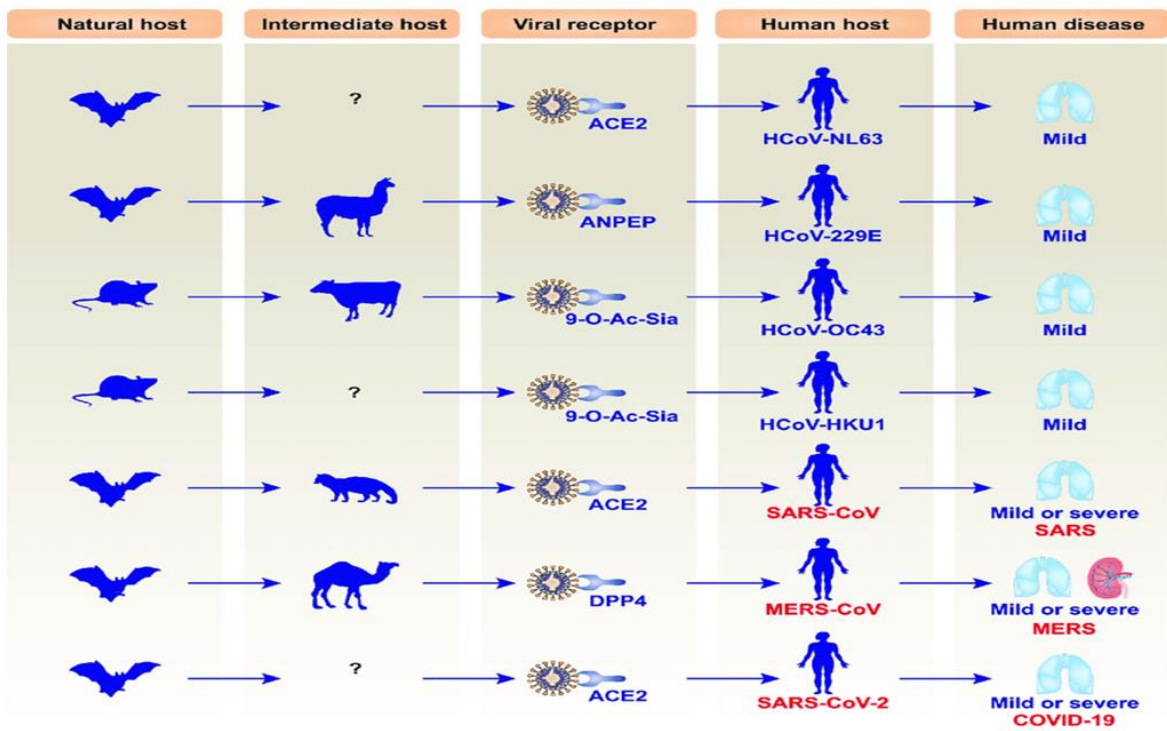
Οι σχετικοί με τον 229E κορωνοϊοί που προέρχονται από νυχτερίδες και καμήλες, έχουν καταταγεί στο ίδιο είδος που αντιπροσωπεύεται από αυτόν, καθώς μοιράζονται κοινή αλληλουχία αμινοξέων (aa) σε ποσοστό μεγαλύτερο του 95%, με τον 229E στους συνδυασμένους πρωτεϊνικούς τομείς των 3CL<sup>pro</sup>, NiRAN, RdRp, ZBD και HEL1 (Sabir et al., 2016; ICTV Executive, 2020).

Κορωνοϊοί τύπου NL63, όπως π.χ. τα στελέχη BtKYNL63-9a, BtKYNL63-9b και BtKYNL63-15, έχουν επίσης εντοπιστεί σε νυχτερίδες *Triaenops*, εμφανίζοντας στις

συνδεδεμένες πρωτεϊνικές περιοχές των 3CLpro, NiRAN, RdRp, ZBD και HEL1, σχεδόν 90% ομοιότητα στις αλληλουχίες αμινοξέων τους, σε σύγκριση με τον NL63 (Tao et al. 2017). Οι σχετικοί με τον NL63 CoVs, δεν έχουν ακόμη ανιχνευθεί σε εξημερωμένα ή άλλα ζώα, επομένως η προέλευση, καθώς και ο ενδιαμέσος ξενιστής του NL63, είναι προς το παρόν άγνωστα. Οι CoVs που σχετίζονται τόσο με τον NL63 όσο και με τον 229E, παρουσιάζουν υψηλή γενετική ποικιλομορφία στις νυχτερίδες, κατά συνέπεια ο ανασυνδυασμός των κορωνοϊών των νυχτερίδων μπορεί να επιταχύνει την εμφάνιση νέων ιών, καθώς και την πιθανότητα μετάδοσης μεταξύ ειδών (Tao et al., 2017).



Εικόνα: 10: Alphacoronavirus, Virion. Πηγή: Swiss Institute of Bioinformatics, 2020



Εικόνα 11: Ξενιστές και συνέπειες μόλυνσης στον άνθρωπο. Πηγή: Tang et al., 2020.

#### 4. Beta-CoVs

Όπως οι Άλφα κορωνοϊοί, έτσι και οι Βήτα, έχουν σφαιρικό σχήμα, είναι ελυτροφόροι, ενώ η διάμετρός τους είναι περίπου 120 nm. Το γονιδιώμά τους, το οποίο επίσης συνδέεται με την πρωτεΐνη N για να σχηματίσει το νουκλεοκαψίδιο, είναι γραμμικό, μονόκλωνο, καλυμμένο και πολυαδενυλιωμένο, όπως και των Άλφα κορωνοϊών (Swiss Institute of Bioinformatics, 2022). Το γένος Betacoronavirus περιέχει, επί του παρόντος, 5 υπογένη και 14 είδη ενώ, όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, περιλαμβάνει τους πιο παθογόνους CoVs για τον άνθρωπο, τον SARS-CoV, τον MERS-CoV και τον SARS-CoV-2 και παράλληλα, εμπεριέχει ένα σημαντικό αριθμό CoVs νυχτερίδων (Hu et al., 2015; Wong et al. 2019; Hu et al., 2021). Συγκεκριμένα, το υπογένος Embecovirus περιέχει 5 είδη, τον Betacoronavirus 1, τον China Rattus coronavirus HKU24, τον Human coronavirus HKU1, τον Murine coronavirus και τον Myodes coronavirus 2JL14. Το υπογένος Hibecovirus περιλαμβάνει ένα είδος, τον Bat Hp-betacoronavirus Zhejiang2013, το υπογένος Merbecovirus, 4 είδη, τον Hedgehog coronavirus 1, τον Middle East respiratory syndrome-related coronavirus, τον Pipistrellus bat coronavirus HKU5 και τον Tylonycteris bat coronavirus HKU4. Στο υπογένος Nobecovirus συναντούμε 3 είδη, τον Eidolon bat coronavirus C704, τον

Rousettus bat coronavirus GCCDC1 και τον Rousettus bat coronavirus HKU9, ενώ τέλος, στο υπογένος Sarbecovirus, υπάρχει ένα είδος ο Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus (ICTV, 2022). Πέντε τύποι Βήτα κορωνοϊών, οι οποίοι ταξινομούνται σε 4 από τα 5 αντιπροσωπευτικά είδη του γένους Betacoronavirus, έχει αναφερθεί ότι μολύνουν ανθρώπους: ο HCoV-OC43, ο HCoV-HKU1, ο MERS-CoV, και οι SARS-CoV και SARS-CoV-2, (Hu et al., 2021).

Ο OC43 και ο HKU1 ανακαλύφθηκαν σε ασθενείς με αναπνευστικές παθήσεις το 1967 και το 2005, αντίστοιχα (Hamre & Procknow, 1966; Woo et al., 2005) και μαζί με τους άλλους 2 Alpha-CoVs, τον 299E και τον NL63, σχετίζονται με ένα ευρύ φάσμα αναπνευστικών νόσων, συμπεριλαμβανομένης της βρογχιολίτιδας και της πνευμονίας, ενώ δύνανται να προσβάλουν συστήματα και εκτός του αναπνευστικού, όπως το γαστρεντερικό και το νευρικό σύστημα (Zeng et al., 2018). Παρόλο που αυτοί οι CoVs θεωρούνται από τα πιο κοινά παθογόνα που σχετίζονται με λοιμώξεις της αναπνευστικής οδού, τόσο σε παιδιά όσο και σε ηλικιωμένους, μπορεί να προκαλέσουν ιδιαίτερα σοβαρές λοιμώξεις σε βρέφη, ενώ κλινικές επιδημιολογικές έρευνες έχουν αποκαλύψει πως το υψηλότερο θετικό ποσοστό αυτών των CoVs εντοπίζεται σε ενήλικες, 50-59 ετών (Cabeça et al., 2013). Ο OC43 έχει παγκόσμια κατανομή και εποχικά, είναι ο τύπος εκείνος που ανιχνεύεται πιο συχνά σε περιστατικά οξείας λοίμωξης του αναπνευστικού συστήματος, ενώ την ίδια στιγμή, παρουσιάζει την πιο συχνή πνευμονική προσβολή σε σχέση με τους άλλους τρεις CoVs (Zeng et al., 2018). Οι κυκλοφορούντες OC43 ιοί, έχουν υψηλή γενετική ποικιλότητα με τουλάχιστον 5 διακριτούς γονότυπους (A έως E) (Kin et al., 2015). Ο ανασυνδυασμός διαφορετικών τύπων προάγει τη δημιουργία νέων τύπων ιών, όπως ο OC43-D που προέκυψε μέσω ανασυνδυασμού μεταξύ των γονοτύπων B και C και ο OC43-E μέσω ανασυνδυασμού των γονοτύπων B, C και D (Zhang et al., 2015). Στο είδος Betacoronavirus 1, εκτός από τον OC43 που πλήττει ανθρώπους, έχουν ταξινομηθεί μια σειρά συγγενικών CoVs ζώων, οι οποίοι περιλαμβάνουν: τον HKU23, ο οποίος εντοπίστηκε στις καμήλες dromedary (Woo et al., 2014b), τον bovine CoV (BCoV) στα βοοειδή, στα αλπακά κ.ά. (Amer, 2018), τον SACoV στις αντιλόπες Sable (Alekseev, 2008), τον GiCoV στις καμηλοπαρδάλεις (Hasoksuz et al., 2007), τον canine respiratory CoV (CRCoV) στους σκύλους (Erles & Brownlie, 2008), τον equine CoV (ECoV) στα ιπποειδή (Timoney, 2022) και τέλος, τον porcine hemagglutinating encephalomyelitis virus (PHEV) στους χοίρους (Mora-Díaz et al., 2019). Φυλογενετικά, οι CoVs του Betacoronavirus 1, σχετίζονται περισσότερο με ένα άλλο είδος, τον China Rattus coronavirus HKU24 του

υπογένους Embecovirus, ο οποίος, μαζί με παρόμοιους ιούς, έχει βρεθεί σε αρουραίους, όπως οι *Rattus norvegicus*, *Apodemus agrarius* και *Apodemus chevrieri* (Lau et al., 2015; Wang et al., 2015; Ge et al., 2017). Οι πρωτεΐνες RdRp και Hel των OC43 και HKU24 εμφανίζουν 91,8% και 93,5% ομολογία αλληλουχίας αμινοξέων, αντίστοιχα (Lau et al., 2015). Μελέτες υποδεικνύουν ότι ο OC43 πιθανότατα προέρχεται από τρωκτικά και μπορεί να μεταδοθεί στους ανθρώπους μέσω εξημερωμένων ζώων, όπως τα βοοειδή (Wang et al., 2015; Forni et al., 2017; Ge et al., 2017).

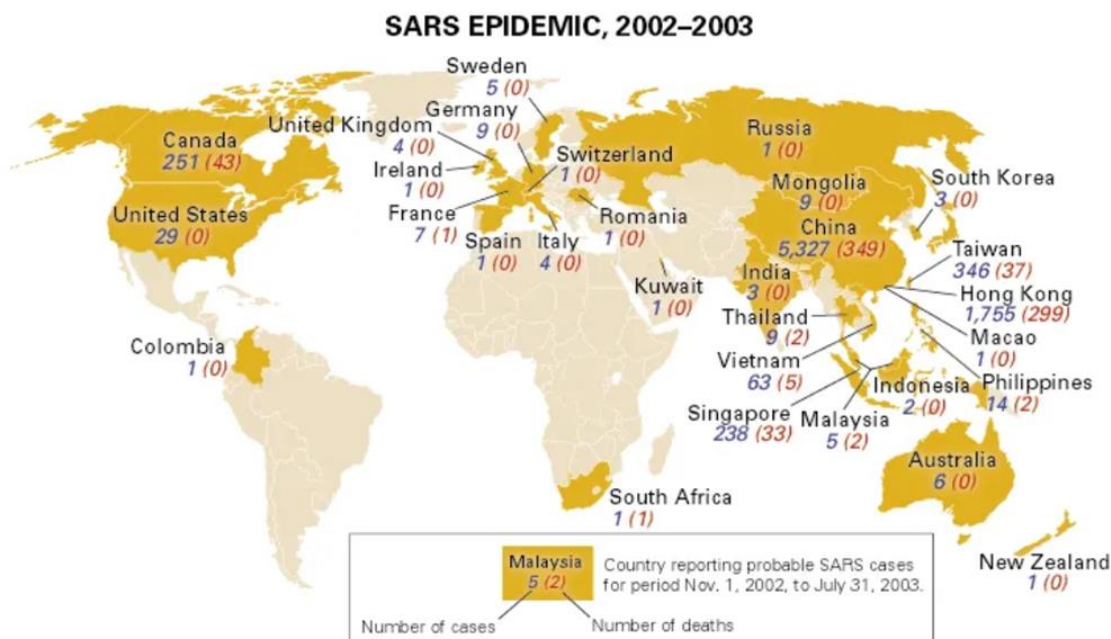
Όσον αφορά τον HKU1, πρώτη φορά εντοπίστηκε σε έναν 71χρονο ασθενή με πνευμονία και βρογχολίτιδα το 2005 στο Χονγκ Κονγκ (Woo et al. 2005). Έκτοτε, το HKU1 έχει ανιχνευθεί στην Αυστραλία, τη Βραζιλία, τη Γαλλία, τις ΗΠΑ, κ.λπ., υποδεικνύοντας με τον τρόπο αυτό, την παγκόσμια κατανομή του (Siu et al., 2014; Zeng et al., 2018). Τα στελέχη του HKU1 χωρίζονται σε 3 γονότυπους με βάση τις φυλογενετικές τους σχέσεις, A, B και C (Woo et al., 2006). Σύμφωνα με φυλογενετική ανάλυση, ο HKU1 είναι εγγύτερος του murine coronavirus (γνωστός ως ιός ηπατίτιδας του ποντικού, MHV), διαφορετικά στελέχη του οποίου έχουν ανιχνευθεί τόσο σε αρουραίους (rat CoV Parker), όσο και σε ποντίκια (MHV) (Das Sarma et al., 2001). Εξαιτίας αυτού του γεγονότος, εικάζεται ότι ο HKU1 προέρχεται από τρωκτικά, χωρίς ωστόσο ο ενδιάμεσος ξενιστής του να είναι ακόμα γνωστός (Corman et al., 2018).

#### 4.1. SARS-CoV

Το Σοβαρό Οξύ Αναπνευστικό Σύνδρομο (SARS) ήταν η πρώτη σημαντική ζωνοσός που εμφανίστηκε τον εικοστό πρώτο αιώνα και η πρώτη που έτυχε ευρείας κάλυψης από τα διεθνή μέσα μαζικής ενημέρωσης, παρέχοντας στην παγκόσμια κοινότητα τη δυνατότητα να παρακολουθεί, σε πραγματικό χρόνο, τις εξελίξεις και τους τρόπους με τους οποίους οι αρχές δημόσιας υγείας, αντιμετώπιζαν την υγειονομική κρίση (Fidler, 2004; Snowden, 2008). Η λοίμωξη, που αρχικά ονομαζόταν «άτυπη πνευμονία», εμφανίστηκε για πρώτη φορά το Νοέμβριο του 2002 στο Guangzhou της επαρχίας Guangdong της Κίνας και μέσα σε 5 μήνες εξαπλώθηκε σε 26 χώρες, προκαλώντας πάνω από 8000 κρούσματα μόλυνσης και τουλάχιστον 900 θανάτους (WHO, 2004), (εικ. 12). Καθοριστικό ρόλο στην ταχεία μετάδοσή της διαδραμάτισαν διάφορα συμβάντα «υπερμετάδοσης», με το βασικότερο εξ αυτών να λαμβάνει χώρα στο ξενοδοχείο Metropole του Χονγκ Κονγκ, καθώς, κατά την διαμονή ενός κρούσματος σε αυτό, μολύνθηκαν τουλάχιστον άλλα 10 άτομα, με πέντε από αυτά να πραγματοποιούν, τις επόμενες ημέρες, διεθνή ταξίδια σηματοδοτώντας, με τον τρόπο



αυτό, την αρχή της παγκόσμιας πανδημίας, καθώς μετέφεραν τον ιό στο Βιετνάμ, τη Σιγκαπούρη, τον Καναδά και σε άλλες χώρες (Chinese SARS Molecular Epidemiology Consortium, 2004).



Εικόνα 12: Παγκόσμια κατανομή κρουσμάτων και θανάτων του SARS. Πηγή: Encyclopædia Britannica, 2022.

Στην περίπτωση του SARS ωστόσο, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας ήταν εκείνος που, μέσω ταχύτατων νευραλγικών αποφάσεων, αποτέλεσε εξαρχής τον καθοριστικό παράγοντα στην έρευνα και στον έλεγχο του SARS<sup>4</sup>, (Christian et al., 2004). Συγκεκριμένα, στις 12 Μαρτίου του 2003, για πρώτη φορά στην ιστορία του, ο ΠΟΥ εξέδωσε παγκόσμια ταξιδιωτική προειδοποίηση η οποία, εκ του αποτελέσματος, ήταν καθοριστικής σημασίας καθώς μείωσε σημαντικά το ποσοστό μετάδοσης της νόσου σε άλλες χώρες (Fidler, 2004). Λίγες μέρες αργότερα, ο οργανισμός δημιούργησε ένα δίκτυο SARS, αποτελούμενο από 9 έθνη και 11 ινστιτούτα, γεγονός που συνέβαλε, μεταξύ άλλων, στην επιτάχυνση των διαδικασιών αναγνώρισης του αιτιολογικού παράγοντα της νόσου, καθώς και στην ανάπτυξη διαγνωστικών δοκιμασιών (Peiris et al., 2003). Εξαιτίας αυτής της παγκόσμιας προσπάθειας που συντονίστηκε από τον ΠΟΥ, τα κρούσματα τέθηκαν υπό έλεγχο 7 μήνες μετά από την αρχική εμφάνιση του SARS (Heymann & Rodier, 2004). Έκτοτε, υπήρξαν μικρής έκτασης συμβάντα, επανεμφάνιση κρουσμάτων. Ειδικότερα, μεταξύ του Δεκεμβρίου του 2003 και του

<sup>4</sup> Ιδιαίτερα σημαντική ήταν η συμβολή του Ιταλού ιατρού Carlo Urbani, ο οποίος ήταν ο πρώτος αξιωματικός του ΠΟΥ που προειδοποίησε έγκαιρα τον οργανισμό, καθώς αναγνώρισε το SARS ως μια νέα και εν δυνάμει επικίνδυνη, μεταδοτική ιογενή ασθένεια. Ο ίδιος τελικά νόσησε από SARS και πέθανε τον Μάρτιο του 2003 σε ηλικία 46 ετών (Fleck, 2003).

Ιανουαρίου του 2004, αναφέρθηκαν τέσσερα ανεξάρτητα μεταξύ τους κρούσματα SARS στο Guangdong, με κανένα εξ αυτών ωστόσο, να προκαλεί εκτεταμένη μετάδοση. Επιπλέον, υπήρξαν τρία εργαστηριακά κρούσματα τον Σεπτέμβριο του 2003, τον Δεκέμβριο του 2003 και τον Απρίλιο του 2004 στη Σιγκαπούρη, στην Ταϊβάν και στο Πεκίνο, αντίστοιχα. Το πιο σοβαρό αφορούσε το περιστατικό στο Πεκίνο που είχε ως αποτέλεσμα να προκληθούν συνολικά εννέα κρούσματα μόλυνσης και ένας θάνατος, ενώ καμία από τις άλλες δύο εργαστηριακές λοιμώξεις δεν οδήγησε σε περαιτέρω εξάπλωση του ιού (Shi & Wang, 2017) (εικ. 13).

Date	Event
November 16, 2002	The first recognized SARS patient, in Foshan, Guangdong province, China
November 16, 2002 to March 10, 2003	11 independent index cases in Foshan, Heyuan, Jiangmen, Zhongshan, Shunde, Guanzhou, Zhaoqing, Shenzhen, Dongguan, China, resulting in more than 50 secondary infections
January 22, 2003	SARS spreading in Guangdong province
March 22, 2003	SARS spreading to Shanxi and Beijing
February 21, 2003	SARS spreading to Hong Kong, marking the beginning of the global pandemic
February 28, 2003	SARS spreading to Vietnam
March 12, 2003	WHO global travel alert of the SARS pandemic
March 14, 2003	SARS spreading to Canada
March 6, 2003	SARS spreading to Singapore
March 17, 2003	WHO established a 9-nation/11-institute international laboratory network
March 24, 2003	Coronavirus was isolated from SARS patient
April 4, 2003	SARS spreading to Philippines
April 12, 2003	Full-length genome of SARS-CoV determined
April 17, 2003	The international laboratory network announced conclusive identification of SARS-CoV as the causative agent
May 23, 2003	Detected SARS coronavirus in market animals
July 5, 2003	WHO removed the last region from the affected list, effectively marking the end of the outbreak
August 7, 2003	WHO reported a total of 8096 cases and 774 death covering the major 2002–2003 outbreaks
September 2003 to April 2004	Outbreaks caused by laboratory incidents in Singapore, Taiwan, and Beijing
December 16, 2003 to January 8, 2004	Four independent SARS cases in Guangdong, causing mild disease with no death

Εικόνα 13: Χρονοδιάγραμμα εξέλιξης του SARS. Πηγή: Shi & Wang, 2017

Ο γρήγορος και έγκαιρος εντοπισμός του αιτιολογικού παράγοντα μιας νόσου που προκαλείται από άγνωστο παθογόνο, είναι το κλειδί για την άμεση και αποτελεσματική αντιμετώπισή της (Zhou Z. et al., 2021). Στην περίπτωση του SARS αυτό ήταν δύσκολο να συμβεί καθώς τα κλινικά συμπτώματα της ασθένειας μιμούνταν εκείνα της γρίπης ή της άτυπης πνευμονίας, υποδεικνύοντας αρχικά, ως πιθανές αιτίες το μυκόπλασμα, τα χλαμύδια, τον ιό της γρίπης, τη λεγεωνέλλα και τον παραμυξοϊό (Hui et al., 2004). Πιο συγκεκριμένα, η περίοδος επώασης του SARS ήταν 2 με 10 ημέρες, (μ.ο. 4-6 ημέρες), ενώ ο μέσος χρόνος από την έναρξη των κλινικών συμπτωμάτων έως την εισαγωγή στο νοσοκομείο, κυμαινόταν μεταξύ 3 έως 5 ημερών (Donnelly et al., 2003; WHO, 2003). Η τυπική κλινική νόσος ήταν η ιογενής πνευμονία με ταχεία αναπνευστική επιδείνωση,

ενώ τα κύρια κλινικά χαρακτηριστικά περιλάμβαναν επίμονο πυρετό (>38°C), ρίγη, μυαλγίες, κακουχία, ξηρό βήχα, κεφαλαλγία και δύσπνοια. Λιγότερο συχνά συμπτώματα ήταν η παραγωγή πτυέλων, ο πονόλαιμος, η ρινόρροια, η ναυτία με έμετο και η διάρροια (Booth et al., 2003; Lee et al., 2003; Hsu et al., 2003). Τον Μάρτιο του 2003, τρία διαφορετικά εργαστήρια επιβεβαίωσαν ότι ο πιο πιθανός αιτιολογικός παράγοντας του SARS ήταν ένας άγνωστος μέχρι εκείνη τη στιγμή κορωνοϊός, ο SARS-CoV (Drosten et al., 2003; Ksiazek et al., 2003).

Το μέγεθος του ιϊκού σωματιδίου του SARS-CoV είναι περίπου 80–90 nm ενώ το γονιδιωματικό του μέγεθος είναι περίπου 29,7 kb (Rota et al., 2003). Το γονιδιώμα του, περιέχει 14 ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης (ORF) που πλαισιώνονται από 5'- και 3'-μη μεταφραζόμενες περιοχές (Marra et al., 2003). Ενώ όλοι οι κορωνοϊοί φέρουν βοηθητικές πρωτεΐνες ειδικές για το στέλεχος, οι οποίες κωδικοποιούνται από περιοχές των ORFs, περιοχές των βασικών γονιδίων, όπως το γονίδιο ρεπλικάσης/μεταγραφάσης, το γονίδιο S, το γονίδιο E, το γονίδιο M και το γονίδιο N είναι εξαιρετικά διατηρημένες (Graham & Baric, 2010). Παρόμοια με άλλους γνωστούς κορωνοϊούς, η έκφραση του γονιδιώματος του SARS-CoV ξεκινά με δύο μεγάλα ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης (ORFs), τα ORF1a και ORF1b, ακολουθούμενα από ORFs που κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες S, E, M και N. Εκτός από αυτά τα διατηρημένα βασικά γονίδια στους κορωνοϊούς, το γονιδίωμα SARS-CoV περιέχει πολλά βοηθητικά γονίδια που είναι ειδικά γι' αυτόν, ενώ τα κωδικοποιημένα προϊόντα τους, δεν έχουν ομόλογο με γνωστές πρωτεΐνες (Shi & Wang, 2017). Σύμφωνα με την ταξινόμια των κορωνοϊών, ο SARS-CoV, ο SARS-CoV-2, οι περισσότεροι CoVs νυχτερίδων καθώς και λίγοι CoVs που ανιχνεύονται σε κάποια είδη ζώων, ταξινομούνται στο υπογένος SARS-CoV Sarbecovirus (Coronaviridae Study Group of ICTV, 2020). Από την εμφάνιση του SARS, οι έρευνες για την προέλευση του SARS-CoV οδήγησαν, αφενός μεν, στην ανακάλυψη μεγάλου αριθμού νέων κορωνοϊών σε διάφορα ζώα και ιδιαίτερα σε νυχτερίδες, αφετέρου δε, συνέβαλλαν στην κατανόηση της ύπαρξης και της εξάπλωσης των κορωνοϊών στη φύση (Hu et al., 2015; Wong et al., 2019). Το 2005, στελέχη CoVs με υψηλή ομολογία με τον SARS-CoV εντοπίστηκαν στην κινεζική νυχτερίδα *Rhinolophus*, συμπεριλαμβανομένων των Rp3, HKU3, κ.λπ. (Li et al. 2005; Woo et al., 2005). Ο SARS-CoV χρησιμοποιεί το μετατρεπτικό ένζυμο της αγγειοτενσίνης 2 (ACE2) ως υποδοχέα του για να εισέλθει στα κύτταρα (Li et al., 2003). Τόσο ο SARS-CoV όσο και ο SARS-CoV-2 εμφάνισαν ευρεία χρήση ACE2, υποδεικνύοντας το ευρύ φάσμα των ξενιστών τους (Wang Q. et al., 2020a). Το 2013, ο WIV1, ένας CoV

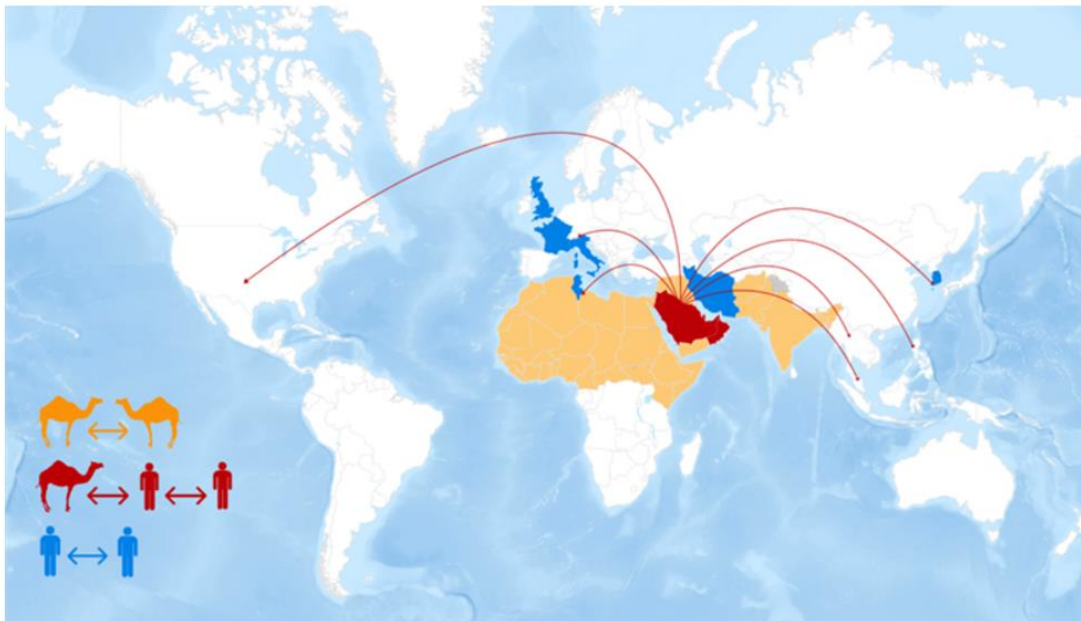
νυχτερίδας που χρησιμοποιεί τον ίδιο υποδοχέα ACE2 με τον SARS-CoV, απομονώθηκε από δείγμα *Rhinolophus sinicus* (Li et al., 2003; Ge et al., 2013). Η συνολική ομολογία του γονιδιώματος WIV1 με τον ανθρώπινο SARS-CoV είναι 95,4% (Zhou Z. et al., 2021). Το 2015, απομονώθηκε ένα άλλο στέλεχος CoV νυχτερίδας, το WIV16, το οποίο εμφανίζει υψηλότερη ομολογία γονιδιωματικής αλληλουχίας (96% ομολογία νουκλεοτιδίων) με τον SARS-CoV (Yang et al., 2015). Παράλληλα, κατά τη διάρκεια μιας πενταετούς επιτήρησης των SARS κορωνοϊών των νυχτερίδων στην επαρχία Yunnan της Κίνας, αποκαλύφθηκε ότι οι SARSr-CoVs που κυκλοφορούν σε αυτές, έχουν μεγάλη ποικιλία και υψηλή γενετική ομοιότητα με τον SARS-CoV στον υπερμεταβλητό N-τερματικό τομέα (NTD) και την περιοχή δέσμευσης του υποδοχέα (RBD) του γονιδίου S1, ORF3 και ORF8, αντίστοιχα (Hu et al., 2017).

Αμέσως μετά τον προσδιορισμό του SARS-CoV ως αιτιολογικού παράγοντα του SARS, διεξήχθησαν μελέτες για επιβεβαίωση παρουσίας του SARS-CoV σε άγρια ζώα (Guan et al., 2003; Xu C. et al., 2004; Xu H.F. et al., 2004). Μία ομάδα ερευνητών από το Χονγκ Κονγκ και το Shenzhen στην ηπειρωτική Κίνα διεξήγαγε έρευνα, κατά την οποία συλλέχθηκαν δείγματα από άγρια ζώα που διακινούνταν προς πώληση και κατανάλωση στις ντόπιες αγορές. Τα αποτελέσματα έδειξαν την ύπαρξη του SARS-CoV και την ανίχνευση αντισωμάτων στη πλειοψηφία των masked palm civets (*Paguma larvata*) καθώς και σε δείγματα από raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*). Η γονιδιωματική αλληλουχία έδειξε ότι ο ιός που απομονώθηκε από τα civets ήταν σχεδόν πανομοιότυπος με τον ανθρώπινο SARS-CoV σε ποσοστό 99,8%, καθιστώντας εξαιρετικά πιθανή την μετάδοσή του, από ζώο στον άνθρωπο. (Guan et al., 2003). Μεταγενέστερες μελέτες επιβεβαίωσαν την αρχική εκτίμηση ότι τα civets ήταν ο κύριος φορέας του SARS-CoV και η βασική πηγή εισαγωγής στον ανθρώπινο πληθυσμό (Wang et al., 2006; Wang et al., 2007; Shi & Hu, 2008). Στο φυλογενετικό δέντρο που βασίζεται σε πρωτεΐνες S, ο SARSr-CoV σχηματίζει 3 συστάδες. Τόσο το στέλεχος του ανθρώπινου SARS-CoV όσο και το στέλεχος του SARS-CoV του civet, σχηματίζουν συστάδες με διάφορα SARSr-CoV νυχτερίδων που προέρχονται από τη *Rhinolophus sinicus*, τη *Rhinolophus pusillus*, τη *Rhinolophus ferrumequinum*, τη *Rhinolophus macrotis* κ.λπ. (Zhou Z. et al., 2021). Ωστόσο, όλα τα στελέχη με τη μεγαλύτερη μεταξύ τους ομολογία, όπως το WIV1, ανιχνεύθηκαν από τη *Rhinolophus sinicus*, υποδεικνύοντάς την ως τον βασικό υποδόχο αυτών των κορωνοϊών (Yuan et al., 2010). Καθίσταται σαφές ότι οι νυχτερίδες *Rhinolophus* είναι μια φυσική δεξαμενή των SARSr-CoVs, οι οποίοι περιστασιακά διαχέονται σε διάφορα είδη για να μολύνουν

ανθρώπους ή άλλα ζώα (Li et al., 2022). Ωστόσο, ο ακριβής χρόνος της διασποράς των SARS-CoV παραμένει ασαφής (Zhou Z. et al., 2021).

## 4.2. MERS

Το Αναπνευστικό Σύνδρομο της Μέσης Ανατολής (Middle East Respiratory Syndrome MERS), ανιχνεύθηκε για πρώτη φορά στη Σαουδική Αραβία το 2012, προκαλώντας, έκτοτε, 866 θανάτους σε 27 χώρες παγκοσμίως (Zaki et al., 2012; WHO, 2020b). Μέχρι σήμερα, το 80% των συνολικών κρουσμάτων MERS έχει αναφερθεί σε 12 χώρες στη Μέση Ανατολή, με την πλειοψηφία εξ αυτών να εντοπίζεται κυρίως στη Σαουδική Αραβία (Chafekar & Fielding, 2018), ενώ κρούσματα MERS έχουν επίσης αναφερθεί σε χώρες εκτός της Μέσης Ανατολής, πιθανότατα λόγω των διεθνών ταξιδιών (Fanoy et al., 2014) (εικ. 14). Ο κορωνοϊός που σχετίζεται και προκαλεί το MERS είναι ο MERS-CoV ο οποίος μολύνει κυρίως, τόσο ανθρώπους, όσο καμήλες και νυχτερίδες (Wong et al., 2019). Τα συμπτώματα που προκαλούνται από λοίμωξη MERS-CoV κυμαίνονται από κανένα έως ήπια, μέχρι σοβαρές αναπνευστικές παθήσεις, όπως πυρετός, βήχας, δύσπνοια και ενίοτε, πνευμονία και γαστρεντερικά συμπτώματα (De Wit et al., 2016). Σε αντίθεση με τους SARS-CoV και SARS-CoV-2, ο MERS-CoV παρουσιάζει περιορισμένη μετάδοση από άνθρωπο σε άνθρωπο και συνήθως δεν προκαλεί βιώσιμες επιδημίες (Mailles et al., 2013). Ωστόσο, μια έξαρση επιδημίας MERS αναφέρθηκε στην Κορέα, από τις 20 Μαΐου έως τις 13 Ιουνίου του 2015, κατά την οποία ένα εισαγόμενο κρούσμα MERS οδήγησε σε 185 μολύνσεις και 36 θανάτους (Korean Society of Infectious Diseases & Korean Society for Healthcare-Associated Infection Control and Prevention, 2015).



Εικόνα 14: Γεωγραφική κατανομή και τρόποι μετάδοσης του MERS-CoV. Πηγή: W.H.O., 2019.

Ο MERS-CoV είναι ένας ζωνοσογόνος ιός και η μετάδοση αυτού, έχει τεκμηριωθεί πως γίνεται από τις Αραβικές καμήλες (dromedaries) στον άνθρωπο, μέσω της άμεσης ή έμμεσης επαφής με μολυσμένα ζώα (The Health Protection Agency Uk Novel Coronavirus Investigation Team, 2013; Memish et al., 2014). Κορωνοϊοί που απομονώθηκαν από dromedaries έδειξαν >99% γονιδιωματική ομολογία με τον ανθρώπινο MERS-CoV, επιβεβαιώνοντας τη μετάδοση του ιού από τις καμήλες στον άνθρωπο (Chu et al., 2014; Haagmans et al., 2014). Η ανίχνευση, η αλληλούχιση και τα φυλογενετικά στοιχεία του νουκλεϊκού οξέος, επισημαίνουν ότι ο MERS-CoV υπάρχει σε dromedaries τόσο στην Αφρική όσο και στη Μέση Ανατολή, επικυρώνοντας το γεγονός ότι ο ιός είναι διαδεδομένος σε αυτές (Reusken et al., 2014; Sabir et al., 2016). Αντισώματα κατά του MERS-CoV σε dromedaries έχουν ανιχνευθεί από τη δεκαετία του 1980, υποδεικνύοντας τη μακροχρόνια παρουσία και μόλυνση αυτών από τον MERS-CoV ή τον MERSr-CoV (Müller et al., 2014) ενώ επιπλέον, τα αντισώματα στις Αραβικές καμήλες στην Αφρική και τη Μέση Ανατολή, εμφανίζουν υψηλούς τίτλους εξουδετέρωσης έναντι του MERS-CoV (Reusken et al., 2013; Ommeh et al., 2018). Κατά συνέπεια, ο ακριβής χρόνος εξάπλωσης του MERS-CoV μεταξύ καμήλων και ανθρώπων και μεταξύ των ανθρώπων, παραμένει άγνωστος (Zhou Z. et al., 2021).

Μερικά στελέχη MERSr-CoV έχουν ανιχνευθεί και στις νυχτερίδες. Το 2014, ένας CoV νυχτερίδας που ανιχνεύθηκε στη Νοτιοαφρικανική νυχτερίδα *Neoromicia capensis* (NeoCoV), κατηγοριοποιήθηκε ως ένας βασικός κλάδος του MERS-CoV. Ο NeoCoV είχε 92,7%, 96,4%, 98,6% και 98,5% ομολογία αλληλουχίας aa με την πολυπρωτεΐνη

ORF1ab, τις πρωτεΐνες 3CLpro, RdRp και Hel του MERS-CoV, αντίστοιχα (Corman et al., 2014a). Εκτός από τον NeoCoV, MERSTr-CoVs νυχτερίδων ανακαλύφθηκαν επίσης σε νυχτερίδες *Pipistrellus* στη Ρουμανία και στην Ουκρανία, σε νυχτερίδες *Eptesicus* στην Ιταλία, σε νυχτερίδες *Nyctinomops* στο Μεξικό, σε νυχτερίδες *Vespertilio superans* στην Κίνα (BtVs-BetaCoV/SC2013), σε νυχτερίδες *Pipistrelle* στην Κίνα (HKU25), κ.λπ. Αυτοί οι MERSTr-CoVs νυχτερίδων μοιράζονται περισσότερο από 96% ομολογία αλληλουχίας aa με τον MERS-CoV στην τμηματική πρωτεΐνη RdRp (Yang Y. et al., 2014; Hu et al., 2015; Lau et al. 2018b), επομένως, αυτοί οι CoVs νυχτερίδων και ο MERS-CoV προήλθαν από το είδος MERSTr-CoV. Ωστόσο, οι MERSTr-CoVs της νυχτερίδας είναι απίθανο να είναι ο άμεσος πρόγονος του MERS-CoV λόγω της εξαιρετικά χαμηλής ομοιότητας σε ορισμένα γονίδια μεταξύ των MERSTr-CoVs και MERS-CoVs νυχτερίδων. Για παράδειγμα, ο NeoCoV και ο MERS-CoV μοιράζονται 64,3-64,6% ομολογία αλληλουχίας aa μόνο στις πρωτεΐνες S (Corman et al., 2014b). Κατά συνέπεια, η μετάδοση του MERSTr-CoVs μεταξύ νυχτερίδων, dromedaries και ανθρώπων χρήζει περαιτέρω μελέτης (Zhou Z. et al., 2021).

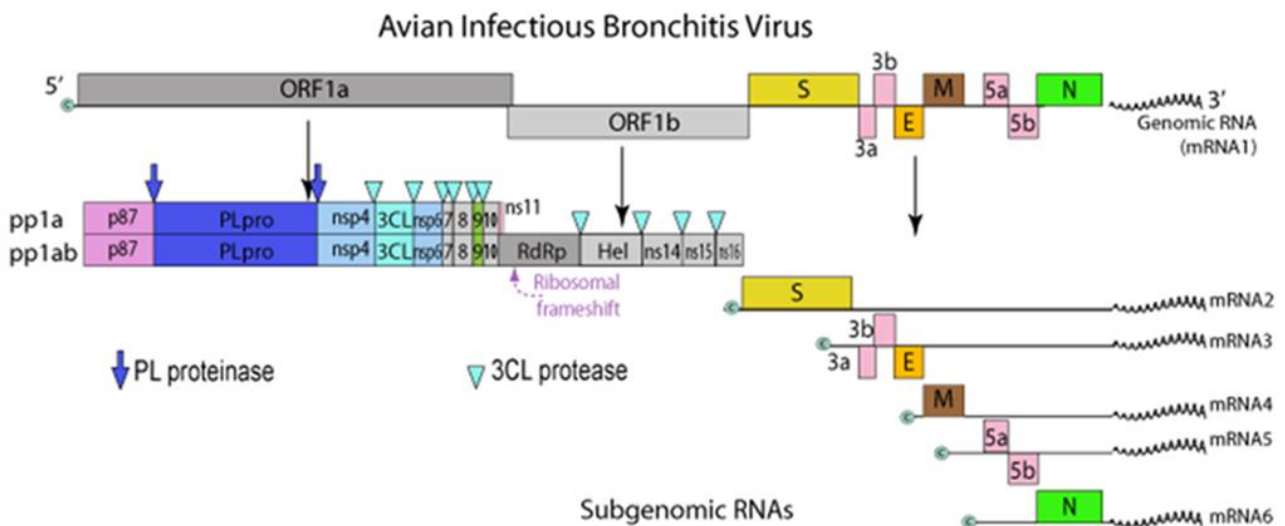
Στο υπογένος Merbecovirus, υπάρχουν άλλα 3 υικά είδη, ο Hedgehog coronavirus 1 (HedCoV1), ο *Tylonycteris bat coronavirus HKU4* και ο *Pipistrellus bat coronavirus HKU5* (Lau et al., 2019). Μετά την εμφάνιση του MERS-CoV, ο HedCoV1 εντοπίστηκε σε σκαντζόχοιρους στην Ευρώπη και την Κίνα και ονομάστηκε EriCoV και Ea-HedCoV HKU31, αντίστοιχα (Corman et al. 2014b; Lau et al., 2019). Τα EriCoV και HKU31 ταξινομούνται στο είδος HedCoV1, το οποίο είναι το πιο κοντινό είδος στον MERSTr-CoV σύμφωνα με τη γονιδιωματική ομοιότητα και τη φυλογενετική τους σχέση (Lau et al., 2019). Το 2007, πριν από την εμφάνιση του MERS-CoV, ο HKU4 και ο HKU5 εντοπίστηκαν σε νυχτερίδες *Tylonycteris pachypus* και *Pipistrellus abramus*, αντίστοιχα (Woo et al., 2007). Οι HKU4 και HKU5 προέκυψαν από δύο ανεξάρτητα αδελφά είδη, τα οποία είναι κοντά στα άλλα δύο είδη, τα HedCoV1 και MERSTr-CoV (Lau et al., 2018b). Οι αποδείξεις ότι οι CoVs νυχτερίδων, όπως ο HKU4 και ο HKU25, χρησιμοποιούν ανθρώπινη διπεπτιδυλική πεπτιδάση 4 (hDPP4), τον υποδοχέα MERS-CoV για είσοδο στα κύτταρα, υποδηλώνουν ότι ο MERS-CoV έχει προέλευση από νυχτερίδες (Yang L. et al., 2014; Lu et al., 2015; Lau et al., 2021).



## 5. Gamma-CoVs

Το γένος *Gammacoronavirus* αποτελείται από 3 υπογένη: το *Igacovirus*, το *Brangacovirus* και το *Cegacovirus* (Lefkowitz et al., 2018). Το υπογένος *Igacovirus* περιέχει 3 είδη: τον *avian coronavirus*, τον *avian coronavirus 9203* και τον *duck coronavirus 2714*. Οι ιοί του υπογένους *Igacovirus* μολύνουν κυρίως πτηνά, όπως κοτόπουλα (*Gallus gallus*), γαλοπούλες, πάπιες, χήνες, φασιανούς, πέρδικες, περιστέρια κ.ά. (Cavanagh et al., 2002; Jonassen et al., 2005; Cavanagh, 2007; Sun et al., 2007; Domanska-Blicharz et al., 2020). Ο ιός της λοιμώδους βρογχίτιδας (IBV) είναι ο πρωτότυπος ιός του υπογένους *Igacovirus* και ο αιτιολογικός παράγοντας της λοιμώδους βρογχίτιδας που είναι διαδεδομένη παγκοσμίως και μολύνει κυρίως την ανώτερη αναπνευστική οδό, με κάποιους ορότυπους του IBV να μολύνουν επίσης τους νεφρούς, το πεπτικό καθώς και το αναπαραγωγικό σύστημα (Reddy et al., 2015; Hou et al., 2020). Το γονιδίωμα του IBV (εικ. 15) περιέχει τουλάχιστον 10 ORFs που χαρακτηρίζονται από την ακόλουθη οργάνωση: 5'UTR-ORF1a/1b-S-3a-3b-E-M-5a-5b-N-3'UTR. Υψηλά ποσοστά μετάλλαξης και ανασυνδυασμού έχουν παρατηρηθεί στο γονιδίωμα του IBV και θεωρείται ότι είναι ο βασικός παράγοντας που οδηγεί στην προσαρμοστική εξέλιξη και μετατόπιση του ξενιστή σε αυτόν τον ιό (Hewson et al., 2011; Latinne et al., 2020; Marandino et al., 2017). Οι γονιδιωματικές μεταλλάξεις του IBV εντοπίζονται κυρίως στην κωδικοποιούσα περιοχή της πρωτεΐνης S, ενώ οι περισσότερες προσαρμοστικές μεταλλάξεις, συμβαίνουν στην υπομονάδα S1 (Cavanagh et al., 1988). Παρόλα αυτά, έχουν αναφερθεί ότι οι μεταλλάξεις της υπομονάδας S2 μεταβάλλουν την ικανότητα σύντηξης μεμβράνης, οδηγώντας σε πιθανή μολυσματικότητα σε είδη μη πτηνών, όπως τα θηλαστικά (Fang et al., 2005). Εκτός από την πρωτεΐνη S, οι κωδικοποιούσες περιοχές του ORF1ab, ειδικά εκείνες των NSP2, NSP3 και NSP16, περιλαμβάνουν επίσης πολλά εν δυνάμει σημεία για μετάλλαξη και ανασυνδυασμό (Thor et al., 2011). Τόσο οι μεταλλάξεις, όσο και τα περισσότερα συμβάντα ανασυνδυασμού του γονιδιώματος του IBV, τείνουν να μειώνουν τη λοιμογόνο δράση του (Huang et al., 2020).





Εικόνα 15: Γονιδίωμα IBV. Πηγή: Swiss Institute of Bioinformatics, 2020.

Το υπογένος *Brangacovirus* περιέχει μόνο ένα είδος, τον *goose coronavirus CB17*, ο οποίος πήρε το όνομά του από τον πρόσφατα εντοπισμένο γαμμα-κορωνοϊό *Canada goose coronavirus (CGCoV)* που μολύνει το είδος της χήνας *Branta canadensis* (Papineau et al., 2019). Το γονιδίωμα του CGCoV ευθυγραμμίζεται με την ακόλουθη δομή: 5'UTR-ORF1a/1b-S-ORF3-4a-E-M-5b-ORF6-7a-7b-8a-8b-N-ORF10-ORF11-3'UTR. Παρόμοια με τους κορωνοϊούς των πτηνών (ACoVs), αρκετές μεταγραφικές ρυθμιστικές ακολουθίες (TRS) βρίσκονται στο τέλος κάθε αρχικής αλληλουχίας του CGCoV, ο αριθμός ωστόσο των TRS στο CGCoV είναι διπλάσιος από αυτόν των ACoVs (Papineau et al., 2019).

Το υπογένος *Cegacovirus* αντιπροσωπεύεται από δύο ιικά στελέχη, τον *beluga whale coronavirus SW1 (BWCoV SW1)* και τον *bottlenose dolphin coronavirus HKU22 (BdCoV HKU22)*, τα οποία προσβάλλουν θαλάσσια θηλαστικά (Mihindukulasuriya et al., 2008; Woo et al. 2014a). Ο BWCoV SW1 ανήκει στο είδος του κορωνοϊού της φάλαινας *beluga SW1* που χαρακτηρίζεται από τη γονιδιωματική δομή 5'UTR-ORF1a/1b-S-E-M-5a-5b-5c-ORF6-ORF7-ORF8-ORF9-ORF10-N-3'UTR. Οι συγκριτικές γονιδιωματικές αναλύσεις έδειξαν ότι ο BdCoV HKU22 έχει την ίδια γονιδιωματική δομή με τον BWCoV SW1, ιδιαίτερα σε σχέση με τις TRS, υποδεικνύοντας ότι αυτοί οι δύο ιοί μπορούν να ταξινομηθούν σε ένα είδος. Ωστόσο, αυτή η ταξινόμηση εξακολουθεί να είναι αμφιλεγόμενη, καθώς μοιράζονται μόνο 74,3-

74,7% ομολογία αλληλουχίας aa στα γονίδια ακίδας τους (Woo et al., 2014a). Επί του παρόντος, πιστεύεται ευρέως ότι ο BWCoV SW1 και ο BdCoV HKU22 εξελίχθηκαν από τον ACoV (Woo et al., 2014a). Οι γάμμα-CoVs δεν εκφράζουν ενεργό NSP1, όπως οι Alpha-CoVs και οι Beta-CoVs, για να αναστείλουν την παραγωγή πρωτεϊνών του ξενιστή, λόγω έλλειψης θέσεων περιορισμού μεταξύ NSP1 και NSP2. Εναλλακτικά, ο IBV εκφράζει την πρωτεΐνη 5b, εκτελώντας παρόμοιες λειτουργίες με το NSP1 άλλων κορωνοϊών (Kint et al., 2016). Μεταξύ των υπογενών των Gamma-CoVs, ο Brangacovirus και ο Cegacovirus δεν έχουν τις ομόλογες βοηθητικές πρωτεΐνες 3a και 3b, οι οποίες εκφράζονται από τον Igacovirus (Papineau et al., 2019), υποδεικνύοντας υψηλή γονιδιωματική ομοιότητα μεταξύ Brangacovirus και Cegacovirus, αλλά όχι και Igacovirus. Μια πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι ο Brangacovirus είναι πιθανόν ένα μεταβατικό στάδιο στην εξέλιξη από τον Igacovirus στον Cegacovirus (Papineau et al., 2019).

## 6. Delta-CoVs

Στο γένος Deltacoronavirus υπάρχουν τρία υπογένη που φιλοξενούν CoVs και μολύνουν θηλαστικά (Asiana leopard cat, Chinese ferret badger, και porcine), καθώς και πτηνά (bulbul, thrush, munia, white eye, sparrow, magpie robin, night heron, wigeon, common moorhen, falcon, houbara, pigeon, quail κ.ά.), το Andecovirus, το Buldecovirus και το Herdecovirus (Dong et al., 2007; Woo et al., 2009; Woo et al., 2012; Lau et al., 2018a; Wang Q. et al., 2021). Μεταξύ των Delta-CoVs θηλαστικών, ο porcine deltacoronavirus (PDCoV) είναι ένα από τα κύρια παθογόνα που προκαλούν σοβαρές λοιμώξεις σε χοίρους και έχει παγκόσμια κατανομή (Li et al., 2014; Wang L.Y. et al., 2014). Συγκεκριμένα, ο PDCoV ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά το 2012 κατά τη διάρκεια μιας μελέτης επιτήρησης στο Χονγκ Κονγκ (Woo et al., 2012). Στη συνέχεια, PDCoVs αναφέρθηκαν και σε άλλες χώρες, συμπεριλαμβανομένων των Ηνωμένων Πολιτειών, της Νότιας Κορέας, της Ιαπωνίας, της ηπειρωτικής Κίνας, του Βιετνάμ και άλλων περιοχών (Lee & Lee, 2014; Li et al., 2014; Song et al., 2015; Le et al., 2018; Suzuki et al., 2018). Η τυπική γονιδιωματική οργάνωση του PDCoV είναι: 5'UTR-ORF1a/1b-S-E-M-ORF6-N-7a/b/c-3'UTR, ενώ η πλήρης ομολογία νουκλεοτιδίων του γονιδιώματος των στελεχών PDCoV σε διαφορετικές περιοχές κυμαίνεται από 97,1 έως 99,9%, υποδεικνύοντας την ύπαρξη ενός μεμονωμένου γονότυπου PDCoV σε όλο τον κόσμο (Zhang, 2016). Το PDCoV μπορεί να χωριστεί σε 4 γενετικές γενεαλογίες: τη

γενεαλογία των Ηνωμένων Πολιτειών-Ιαπωνίας-Νότιας Κορέας, την κινεζική γενεαλογία, τη γενεαλογία των Ταϊλάνδης-Λάος-Βιετνάμ και την πρώιμη κινεζική γενεαλογία (He et al., 2020). Κάθε γενεαλογία είναι σχετικά εξελικτικά ανεξάρτητη, ενώ μια πρόσφατη μελέτη διαπίστωσε ότι τα στελέχη PDCoV SD2018/10 και AH2019/H στην Κίνα, προέρχονται από τη γενεαλογία Ηνωμένων Πολιτειών-Ιαπωνίας-Νότιας Κορέας (He et al., 2020).

Επί του παρόντος, δεν υπάρχουν άμεσες ενδείξεις ότι ο PDCoV μεταδίδεται από τα πτηνά, ενώ σημαντικά συμβάντα ανασυνδυασμού παρατηρήθηκαν μόνο σε δελτακορωνοϊούς χοίρων ή πτηνών (Lau et al., 2018a; Zhang M.J. et al., 2019; He et al., 2020). Ωστόσο, ισχυρή είναι η πεποίθηση ότι τόσο ο PDCoV, όσο και ο Asian leopard cat coronavirus (AICCoV) εξελίχθηκαν από τον κορωνοϊό των πτηνών ενώ, μεταξύ των κορωνοϊών των πτηνών, το πλησιέστερο εξελικτικό είδος στον PDCoV είναι ο sparrow deltacoronavirus HKU17 (SpDCoV-HKU17) (Woo et al., 2012). Αξίζει να σημειωθεί ότι το SpDCoV-HKU17 στις Ηνωμένες Πολιτείες μοιράζεται περίπου 83,9% ομολογία νουκλεοτιδίου ολόκληρου του γονιδιώματος και μεγαλύτερη από 85% ομολογία αμινοξέων για την πρωτεΐνη S με τον PDCoV, γεγονός που παρέχει περισσότερες ενδείξεις για την προέλευση του PDCoV από τα πτηνά (Chen Q. et al., 2018). Πρόσφατα, ωστόσο, τρία παιδιά από την Αϊτή με οξεία αδιευκρίνιστη εμπύρετη νόσο βρέθηκαν θετικά στον PDCoV και αυτή είναι η πρώτη αναφορά μόλυνσης ανθρώπων από τον δέλτα κορωνοϊό (Lednicky et al., 2021). Λαμβάνοντας υπόψη τη στενή επαφή των ανθρώπων με τους χοίρους καθώς και με άλλα οικόσιτα ζώα, θα πρέπει να ληφθεί σοβαρά υπόψη η πιθανότητα μετάδοσης των δέλτα-κορωνοϊών στον άνθρωπο. Κατά συνέπεια, οφείλουμε να είμαστε προσεκτικοί σχετικά με την εξέλιξη αυτών των ιών στα θηλαστικά, προκειμένου να αποτρέψουμε σχετικές επιδημίες στο μέλλον (Zhou Z. et al., 2021).

## 2<sup>ο</sup> Μέρος

### 7. SARS-CoV-2

Το σοβαρό οξύ αναπνευστικό σύνδρομο coronavirus 2 (SARS-CoV-2) είναι ο ένατος τεκμηριωμένος κορωνοϊός που μολύνει ανθρώπους και ο έβδομος που εντοπίστηκε τα τελευταία 20 χρόνια (Lednicky et al., 2021; Vlasova et al., 2021). Πιο συγκεκριμένα, στα τέλη Δεκεμβρίου του 2019, ένας μεγάλος αριθμός υγειονομικών υπηρεσιών στη Wuhan της επαρχίας Hubei στην Κίνα, ανέφερε περιστατικά ασθενών με πνευμονία άγνωστης αιτιολογίας<sup>5</sup> (Zhu N. et al., 2020). Όπως και στην περίπτωση των ασθενών με SARS και MERS, οι ασθενείς αυτοί εμφάνισαν συμπτώματα ιογενούς πνευμονίας, συμπεριλαμβανομένου πυρετού, βήχα και δυσφορίας στο στήθος, ενώ σε σοβαρές περιπτώσεις, τα συμπτώματα αυτά περιλάμβαναν δύσπνοια καθώς και αμφοτερόπλευρη πνευμονική διήθηση (Gralinski & Menachery, 2020; Zhu N. et al., 2020). Μεταξύ των πρώτων 27 τεκμηριωμένων ασθενών που νοσηλεύτηκαν, τα περισσότερα κρούσματα συνδέθηκαν επιδημιολογικά με την Huanan Seafood Wholesale Market, μια αγορά που βρίσκεται στο κέντρο της Wuhan και στην οποία πωλούνται, όχι μόνο θαλασσινά, αλλά και διάφορα άλλα ζώντα οικόσιτα και άγρια ζώα (Deng & Peng, 2020; Jiang & Shi, 2020). Στις 31 Δεκεμβρίου, η Municipal Health Commission της Wuhan προειδοποίησε το κοινό για την ύπαρξη πιθανής επιδημίας, ενώ ενημέρωσε τον ΠΟΥ για συρροή κρουσμάτων πνευμονίας αγνώστου αιτιολογίας (Wu & McGoogan, 2020).

Με μεταγονιδιωματικό προσδιορισμό αλληλουχίας RNA και απομόνωση ιού από δείγματα βρογχοκυψελιδικού εκπλύματος (bronchoalveolar lavage, BAL) από ασθενείς με σοβαρή πνευμονία, ανεξάρτητες ομάδες Κινέζων επιστημόνων αναγνώρισαν ότι ο αιτιολογικός παράγοντας αυτής της αναδυόμενης νόσου, είναι ένας βήτα κορωνοϊός ο οποίος δεν είχε παρατηρηθεί, ούτε καταγραφεί προηγουμένως (Wu et al., 2020; Zhou, P. et al., 2020). Στις 9 Ιανουαρίου 2020, το αποτέλεσμα αυτής της αιτιολογικής ταυτοποίησης ανακοινώθηκε δημόσια. Η πρώτη αλληλουχία γονιδιώματος του νέου κορωνοϊού δημοσιεύτηκε στον ιστότοπο Virological στις 10 Ιανουαρίου, ενώ ολοκληρωμένες αλληλουχίες γονιδιώματος που καθορίστηκαν από διαφορετικά

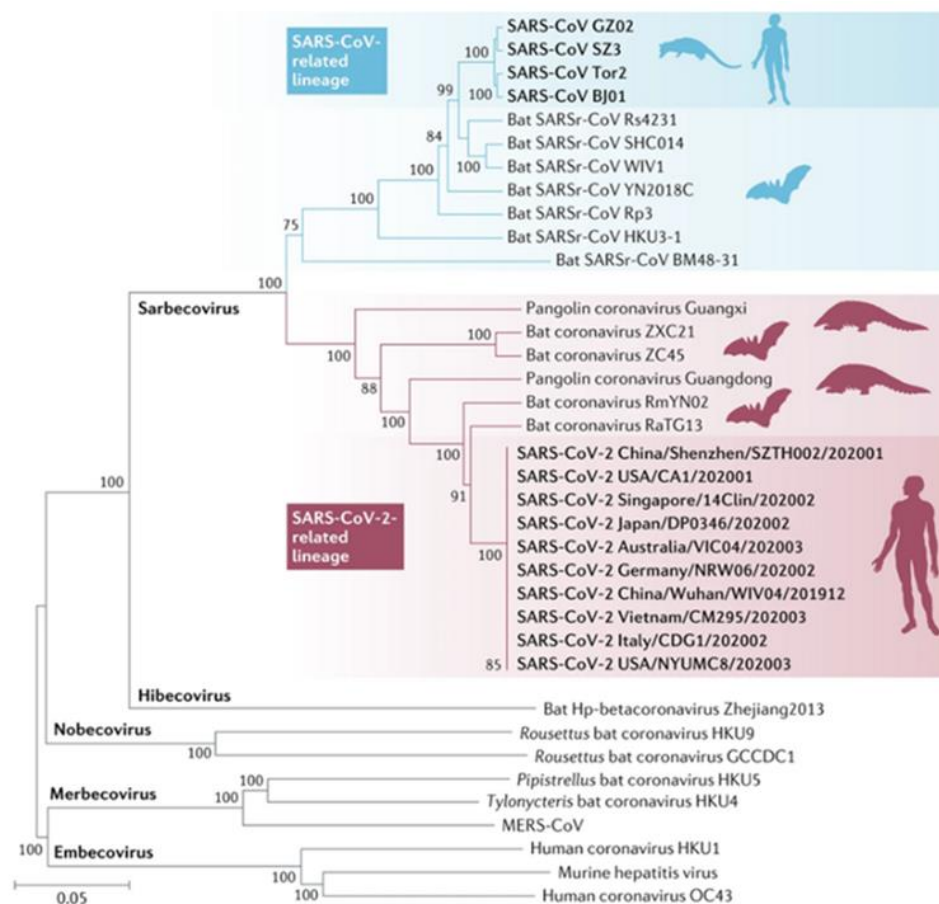
---

<sup>5</sup> Ως πνευμονία άγνωστης αιτιολογίας ορίζεται μια ασθένεια χωρίς ταυτοποιημένο αιτιολογικό παθογόνο που πληροί τα ακόλουθα κριτήρια: πυρετός ( $\geq 38^{\circ}\text{C}$ ), ακτινογραφικά στοιχεία πνευμονίας, χαμηλός ή φυσιολογικός αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων ή χαμηλός αριθμός λεμφοκυττάρων χωρίς συμπτωματική βελτίωση για 3 έως 5 ημέρες, μετά από αντιμικροβιακή θεραπεία σύμφωνα με τις τυπικές κλινικές οδηγίες (Qun et al., 2020).

ερευνητικά ιδρύματα, κυκλοφόρησαν στις 12 Ιανουαρίου, μέσω της βάσης δεδομένων GISAID (Gralinski & Menachery, 2020). Στη συνέχεια, εντοπίστηκαν ασθενείς χωρίς προηγούμενο ιστορικό έκθεσης στην αγορά της Huanan, ενώ αναφέρθηκαν αρκετές περιπτώσεις ενδοοικογενειακών καθώς και ενδονοσοκομειακών λοιμώξεων. Όλες αυτές οι περιπτώσεις παρείχαν σαφή στοιχεία για τη μετάδοση του νέου ιού από άνθρωπο σε άνθρωπο (Chan et al., 2020a; Chen N. et al., 2020; Deng & Peng, 2020; Wang R. et al., 2020). Σύντομα ο νέος αυτός κορωνοϊός εντοπίστηκε και σε άλλες πόλεις της επαρχίας Hubei, ενώ μέσα σε ένα μήνα είχε εξαπλωθεί μαζικά και στις 34 επαρχίες της Κίνας. Στις 12 Ιανουαρίου ο ΠΟΥ ονόμασε προσωρινά τον νέο ιό 2019-nCoV, ενώ στις 30 Ιανουαρίου κήρυξε το ξέσπασμα του νέου κορωνοϊού ως κατάσταση έκτακτης ανάγκης διεθνούς ενδιαφέροντος για τη δημόσια υγεία (PHEIC) (Eurosurveillance editorial team, 2020). Στις 11 Φεβρουαρίου, η Διεθνής Επιτροπή για την Ταξινόμηση των Ιών ονόμασε το νέο κορωνοϊό SARS-CoV-2 με τον ΠΟΥ στη συνέχεια να ονομάζει τη νέα ασθένεια COVID-19 (Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses Executive on Taxonomy of Viruses, 2020). Η διεθνής εξάπλωση της COVID-19 επιταχύνθηκε από τα τέλη Φεβρουαρίου, καθώς η υψηλή μεταδοτικότητα του SARS-CoV-2 σε συνδυασμό με την πληθώρα διεθνών ταξιδίων, συνέβαλαν στην ταχεία εξάπλωσή του παγκοσμίως, οδηγώντας τον ΠΟΥ στις 11 Μαρτίου του 2020, να χαρακτηρίσει επισήμως την παγκόσμια επιδημία COVID-19 ως πανδημία (WHO, 2020a).

Ο νέος betacoronavirus SARS-CoV-2, έχει 79% ταυτόσημη αλληλουχία γονιδιώματος με τον SARS-CoV και 50% με τον MERS-CoV. Η οργάνωση του γονιδιώματός του είναι κοινή με άλλους betacoronaviruses, με τα έξι λειτουργικά ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης (ORFs) να είναι διατεταγμένα με σειρά από 5' έως 3': ρεπλικάση (ORF1a/ORF1b), ακίδα (S), φάκελος (E), μεμβράνη (M) και νουκλεοκαψίδιο (N), με επιπλέον επτά υποτιθέμενα ORFs που κωδικοποιούν βοηθητικές πρωτεΐνες να παρεμβάλλονται μεταξύ των δομικών γονιδίων (Chan et al., 2020b). Οι περισσότερες από τις πρωτεΐνες που κωδικοποιούνται από τον SARS-CoV-2 έχουν παρόμοιο μήκος με τις αντίστοιχες πρωτεΐνες του SARS-CoV, ενώ από τα τέσσερα δομικά γονίδια, ο SARS-CoV-2 μοιράζεται περισσότερο από 90% ίδια αμινοξέα με τον SARS-CoV, εκτός από το γονίδιο S, το οποίο αποκλίνει (Lu R. et al., 2020; Zhou, P. et al., 2020). Το γονίδιο ρεπλικάσης καλύπτει τα δύο τρίτα του 5' γονιδιώματος και κωδικοποιεί μια μεγάλη πολυπρωτεΐνη (Pp1ab), η οποία διασπάται πρωτεολυτικά σε 16 μη δομικές πρωτεΐνες, οι οποίες εμπλέκονται στη μεταγραφή και

την αντιγραφή του ιού, με τις περισσότερες εξ αυτών να έχουν πάνω από 85% ομολογία αλληλουχίας αμινοξέων με το SARS-CoV (Chan et al., 2020b). Η φυλογενετική ανάλυση ολόκληρου του γονιδιώματος δείχνει ότι ο SARS-CoV-2 ανήκει στην ίδια συστάδα με τον SARS-CoV και κορωνοϊούς που σχετίζονται με SARS (SARSr-CoVs) που βρίσκονται σε νυχτερίδες, τοποθετώντας τον στο υπογένος Sarbecovirus του γένους Betacoronavirus. Μέσα σε αυτό το σύμπλεγμα, ο SARS-CoV-2 ομαδοποιείται σε μια ξεχωριστή γενεαλογία μαζί με τέσσερα στελέχη κορωνοϊού νυχτερίδας horseshoe (RaTG13, RmYN02, ZC45 και ZXC21) καθώς και νέους κορωνοϊούς που εντοπίστηκαν πρόσφατα σε παγκολίνους και οι οποίοι ομαδοποιούνται παράλληλοι με τον SARS-CoV και άλλους SARSr-CoVs (Hu et al., 2020) (εικ. 16). Το Coronaviridae Study Group της International Committee on Taxonomy of Viruses, εκτίμησε τις κατά ζεύγη πατερικές αποστάσεις μεταξύ του SARS-CoV-2 και των γνωστών κορωνοϊών και τον καταχώρησε στο υπάρχον είδος SARSr-CoV. Παρόλο που σχετίζεται φυλογενετικά, ο SARS-CoV-2 διαφέρει απ' όλους τους άλλους κορωνοϊούς νυχτερίδων και παγκολίνων αυτού του είδους.



Εικόνα 16: Φυλογενετικό δέντρο των αλληλουχιών γονιδιώματος των SARS-CoV-2, SARSr-CoV κι άλλων βητακορωνοϊών. Πηγή: Hu et al., 2020

Η πρωτεΐνη S του SARS-CoV-2, έχει πλήρες μέγεθος 1.273 αμινοξέων, μεγαλύτερο από αυτό του SARS-CoV (1.255 αμινοξέα) και των γνωστών SARS-CoV νυχτερίδων (1.245–1.269 αμινοξέα). Διακρίνεται από τις πρωτεΐνες S των περισσότερων μελών του υπογένους Sarbecovirus, έχοντας κοινές ομοιότητες αλληλουχίας αμινοξέων 76,7–77,0% με SARS-CoV από εϊνέτς και ανθρώπους, 75–97,7% με κορωνοϊούς νυχτερίδων στο ίδιο υπογένος και 90,7–92,6% με κορωνοϊούς πανγκολίνων (Zhou H. et al., 2020). Στον τομέα δέσμευσης υποδοχέα (RBD) της πρωτεΐνης S, η ομοιότητα αμινοξέων μεταξύ SARS-CoV-2 και SARS-CoV είναι μόνο 73%. Ένα άλλο ειδικό γονιδιωματικό χαρακτηριστικό του SARS-CoV-2, είναι η εισαγωγή τεσσάρων υπολειμμάτων αμινοξέων (PRRA) στη συμβολή των υπομονάδων S1 και S2 της πρωτεΐνης S. Η εισαγωγή αυτή δημιουργεί μια πολυβασική θέση διάσπασης (RRAR), η οποία επιτρέπει την αποτελεσματική διάσπαση από τη φουρίνη και άλλες πρωτεάσες (Coutard, et al., 2020). Αυτή η θέση διάσπασης S1-S2 δεν παρατηρείται σε άλλους σχετικούς ιούς που ανήκουν στο υπογένος Sarbecovirus, εκτός από μια παρόμοια ένθεση τριών αμινοξέων (PAA) στο RmYN02 ενός κορωνοϊού που εντοπίστηκε πρόσφατα στη νυχτερίδα *Rhinolophus malayanus* στην Κίνα (Zhou H. et al., 2020). Παρόλο που η εισαγωγή στο RmYN02 δεν αντιπροσωπεύει λειτουργικά μια πολυβασική θέση διάσπασης, υποστηρίζει ωστόσο την ιδέα ότι αυτό το χαρακτηριστικό, που αρχικά θεωρήθηκε μοναδικό στον SARS-CoV-2, έχει αποκτηθεί φυσικά (Zhou H. et al., 2020). Μια δομική ανάλυση πρότεινε ότι η θέση διάσπασης της φουρίνης μπορεί να μειώσει τη σταθερότητα της πρωτεΐνης S του SARS-CoV-2 και να διευκολύνει τη προσαρμογή διαμόρφωσης που απαιτείται για τη δέσμευση του RBD στον υποδοχέα του (Wrobel et al., 2020).

Μια επιπλέον διαφοροποίηση αποτελεί το βοηθητικό γονίδιο ORF8 του SARS-CoV-2, το οποίο κωδικοποιεί μια νέα πρωτεΐνη που δείχνει μόνο 40% ομολογία αμινοξέων με το ORF8 του SARS-CoV. Σε αντίθεση με τον SARS-CoV, αυτή η νέα πρωτεΐνη ORF8 δεν περιέχει ένα μοτίβο που ενεργοποιεί τις οδούς του ενδοκυτταρικού στρες (Chan et al., 2020b). Πιο συγκεκριμένα, μια παραλλαγή SARS-CoV-2 με απαλειφή 382 νουκλεοτιδίων που καλύπτει ολόκληρο το ORF8 έχει παρατηρηθεί σε στελέχη ιού από έναν αριθμό ασθενών στη Σιγκαπούρη, η οποία μοιάζει με τις απαλειφές 29 ή 415 νουκλεοτιδίων στην περιοχή ORF8 που παρατηρούνται σε ανθρώπινες SARS-CoV παραλλαγές από την όψιμη φάση της επιδημίας του 2002–2003 (Su et al., 2020). Αυτή η διαγραφή του ORF8 μπορεί να είναι ενδεικτική ανθρώπινης προσαρμογής, μετά από μετάδοση μεταξύ διαφορετικών ειδών από το ζώο ξενιστή (Hu et al., 2020).



## 7.1. Προέλευση

Μέχρι σήμερα, τα ακριβή γεγονότα γύρω από την προέλευση και τη διασπορά του ιού είναι συγκεχυμένα (Domingo, 2021). Σε μια σχετική έρευνα, οι Pekar et al. (2021) διαπίστωσαν ότι η γονιδιωματική ποικιλομορφία, πριν από τον Φεβρουάριο του 2020, περιελάμβανε δύο διακριτές ιογενείς γενεές, την A και τη B, με την πρώτη ζωνόσο μετάδοση πιθανότατα να αφορά ιούς της γενεαλογίας B και να λαμβάνει χώρα γύρω στις 18 Νοεμβρίου του 2019 (από 23 Οκτωβρίου έως 8 Δεκεμβρίου), ενώ η ξεχωριστή εισαγωγή της γενεαλογίας A πιθανότατα συνέβη εντός των εβδομάδων που ακολούθησαν αυτό το συμβάν. Συγκεκριμένα, η γενεαλογία B ήταν η πιο κοινή καθ' όλη τη διάρκεια της πανδημίας περιλαμβάνοντας και τα 11 γονιδιώματα αλληλουχίας από ανθρώπους που σχετίζονται άμεσα με την αγορά Huanan, συμπεριλαμβανομένου και του αρχικού γονιδιώματος του δείγματος Wuhan/IPBCAMS-WH-01/2019, καθώς και του γονιδιώματος αναφοράς Wuhan/Hu-1/2019, με δειγματοληψία στις 24 και στις 26 Δεκεμβρίου 2019 αντίστοιχα (Wu et al., 2020). Οι πρώτοι ιοί της γενεαλογίας A, ο Wuhan/IME-WH01/2019 και ο Wuhan/WH04/2020, δειγματολήφθηκαν στις 30 Δεκεμβρίου 2019 και στις 5 Ιανουαρίου 2020, αντίστοιχα (Lu R. et al., 2020). Τα ευρήματα αυτά, υποδεικνύουν ότι είναι απίθανο ο SARS-CoV-2 να κυκλοφόρησε ευρέως στους ανθρώπους πριν από τον Νοέμβριο του 2019, ενώ προσδιορίζουν το μικρό χρονικό διάστημα μεταξύ του πότε ο SARS-CoV-2 εισήλθε για πρώτη φορά στους ανθρώπους και του πότε αναφέρθηκαν τα πρώτα κρούσματα COVID-19 (Pekar et al., 2022).

Η γενεαλογία A διαφέρει από τη γενεαλογία B με δύο υποκαταστάσεις νουκλεοτιδίων, C8782T και T28144C, οι οποίες βρίσκονται επίσης σε σχετικούς κορωνοϊούς από νυχτερίδες *Rhinolophus* (Rambaut et al., 2020), την υποτιθέμενη δεξαμενή του ξενιστή (Lytras et al., 2022). Οι ιοί της σειράς B έχουν μοτίβο «C/T» σε αυτές τις βασικές τοποθεσίες (C8782 και T28144), ενώ οι ιοί της σειράς A έχουν μοτίβο «T/C» (C8782T και T28144C) (Pekar et al., 2022). Τα γονιδιώματα της αρχικής γενεαλογίας A από άνθρωπο στερούνται άμεσης επιδημιολογικής σύνδεσης με την αγορά Huanan, προέρχονται ωστόσο από δείγματα ατόμων που ζούσαν ή είχαν μείνει πρόσφατα κοντά στην αγορά (Worobey, 2021). Και ενώ εικάζεται ότι οι σειρές A και B προέκυψαν χωριστά (Garry, 2021), τα γονιδιώματα «C/C» και «T/T» που είναι ενδιάμεσα στις σειρές A και B, αποτελούν πρόκληση για αυτήν την υπόθεση, επειδή η



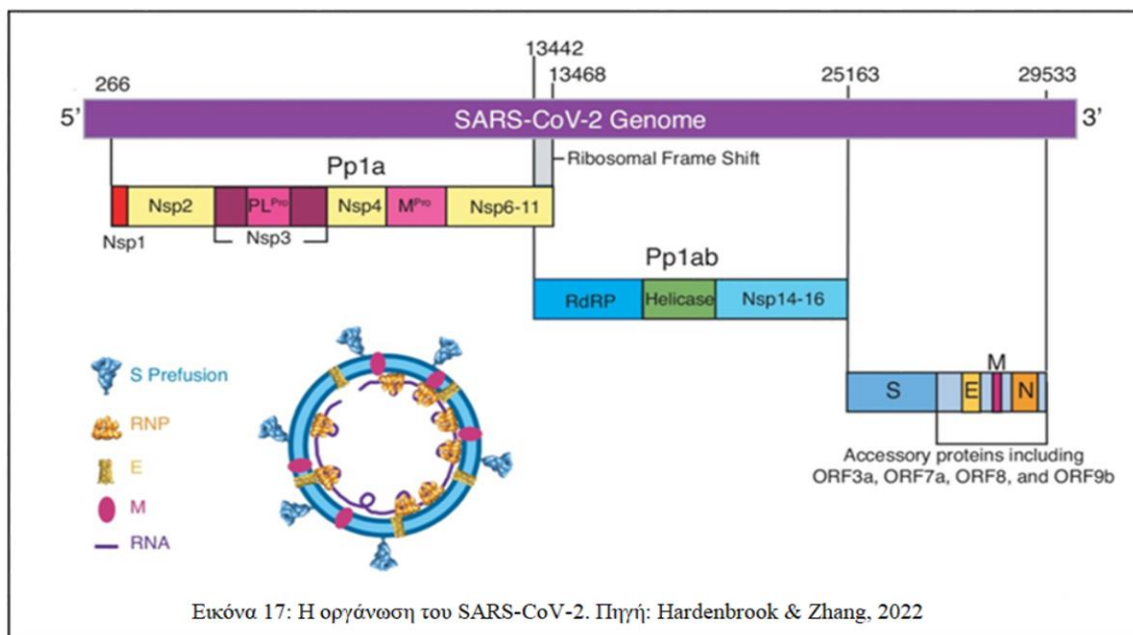
ύπαρξή τους υποδηλώνει την ενδοανθρώπινη εξέλιξη της μιας γενεαλογίας προς την άλλη, μέσω μιας μεταβατικής μορφής (Pekar et al., 2022).

Όπως και με άλλους κορωνοϊούς, η εμφάνιση του SARS-CoV-2 πιθανότατα προήλθε από πολλαπλά ζωνοσογόνα συμβάντα (Lytras et al., 2021). Η γονιδιωματική ποικιλομορφία ωστόσο του SARS-CoV-2 κατά την πρώιμη πανδημία παρουσιάζει ένα παράδοξο: οι ιοί της σειράς A είναι τουλάχιστον δύο μεταλλάξεις πιο κοντά στους κορωνοϊούς της νυχτερίδας, υποδεικνύοντας ότι ο πρόγονος του SARS-CoV-2 προέκυψε από αυτή τη γενεαλογία, εντούτοις, οι ιοί της γενεαλογίας B κυριάρχησαν πρώτοι στην πανδημία, και ιδιαίτερα στην αγορά Huanan, υποδεικνύοντας ότι αυτή η γενεαλογία άρχισε να εξαπλώνεται νωρίτερα στους ανθρώπους. Οι Pekar et al. (2022) επίλυσαν αυτό το παράδοξο δείχνοντας πως η πρώιμη γονιδιωματική ποικιλομορφία και επιδημιολογία του SARS-CoV-2 μπορεί να εξηγηθεί από την ύπαρξη τουλάχιστον δύο ξεχωριστών μεταδόσεων, κατά τις οποίες και οι δύο προγονικοί ιοί, τόσο της γενεαλογίας A όσο και της γενεαλογίας B, κυκλοφορούσαν σε μη ανθρώπινα θηλαστικά, πριν την εισαγωγή τους στον άνθρωπο. Κατά συνέπεια, η πιο πιθανή εξήγηση για την εισαγωγή του SARS-CoV-2 στον άνθρωπο περιλαμβάνει άλματα από απροσδιόριστα ακόμη, ενδιάμεσα ζώα ξενιστές στην αγορά Huanan (Holmes et al., 2021; WHO, 2021; Worobey et al., 2022). Η επιτυχής μετάδοση και των δύο ιών της γενεαλογίας A και B, δείχνει ότι για να εξαπλωθεί ο SARS-CoV-2 δεν χρειαζόταν εξελικτική προσαρμογή στους ανθρώπους (Andersen et al., 2020), ενώ σήμερα γνωρίζουμε ότι ο SARS-CoV-2 μπορεί εύκολα να εξαπλωθεί μετά από αντίστροφη ζωνόσηση σε Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*), σε American mink (*Neovison vison*) καθώς και σε ελάφια με λευκή ουρά (*white-tailed deer*, *Odocoileus virginianus*), υποδεικνύοντας την ικανότητά του ξενιστή (Chandler et al., 2021; Lu et al., 2021; Oude Munnink et al., 2021; Hale et al., 2022; Kuchipudi et al., 2022; Yen et al., 2022). Καθίσταται σαφές ότι από τη στιγμή που ένας ιός, αρχικά προσαρμοσμένος σε ζώα, αποκτήσει την ικανότητα μόλυνσης και μετάδοσης στον άνθρωπο, το μόνο εμπόδιο που απομένει για την ευρεία διασπορά του είναι η επαφή μεταξύ του ανθρώπου και του παθογόνου παράγοντα. Για παράδειγμα, υπήρξαν τουλάχιστον δύο μεταδόσεις SARS-CoV-2 σε ανθρώπους από κατοικίδια χάμστερ στο Χονγκ Κονγκ (Yen et al., 2022) και δεκάδες από βιζόν σε ανθρώπους στις ολλανδικές φάρμες γουναρικών (Lu et al., 2021; Oude Munnink et al., 2021). Μέχρι τα τέλη Δεκεμβρίου του 2019, όταν ο SARS-CoV-2 αναγνωρίστηκε ως ο αιτιολογικός παράγοντας της COVID-19 (Worobey, 2021), ο ιός

πιθανότητα είχε εισαχθεί στον άνθρωπο πολλές φορές ως αποτέλεσμα της συστηματικής επαφής με μια ιϊκή δεξαμενή (Pekar et al., 2022).

## 7.2. Μοριακή αρχιτεκτονική του ιού SARS-CoV-2

Οι πρόσφατες ανακαλύψεις στον τομέα της κρυοηλεκτρονικής τομογραφίας (cryoET) έδωσαν τη δυνατότητα για μια δομική ανάλυση των μοριακών συμπλεγμάτων στη φυσική τους κατάσταση, σχεδόν σε ατομικό επίπεδο (Zhang P., 2019). Τα ιοσωμάτια του SARS-CoV-2 έχουν σφαιρικό ή ελλειψοειδές σχήμα, με μέση διάμετρο  $108 \pm 8$  nm (Liu et al. 2020; Yao et al. 2020), ενώ η εξωτερική επιφάνεια του βιρίου καλύπτεται με επιφανειακές πρωτεΐνες ακίδας σε μια κύρια διαμόρφωση προσύντηξης, με ένα μικρό κλάσμα του S στη μορφή μετά τη σύντηξη (Ke et al., 2020; Liu et al. 2020; Turoňová et al., 2020; Yao et al. 2020). Η S προσομοιάζει ως μια εύκαμπτη κεφαλή σε μίσχο, ικανή να γέρνει έως και  $90^\circ$  σε σχέση με τη μεμβράνη, ευελιξία που παρέχεται από αρθρώσεις στην περιοχή του μίσχου, με την πλειοψηφία ωστόσο των S να φαίνεται ότι γέρνει λιγότερο από  $50^\circ$  (εικ. 16) (Ke et al., 2020; Turoňová et al., 2020; Yao et al. 2020). Η επιφάνεια της τριμερούς S είναι σε μεγάλο βαθμό γλυκοζυλιωμένη, με κάθε μονομερές S να περιέχει 22 γλυκοζυλιωμένες θέσεις (Watanabe et al., 2020). Η επίστρωση γλυκάνης, σε συνδυασμό με την ευελιξία των ακιδών SARS-CoV-2, του επιτρέπει να σαρώνει την επιφάνεια του κυττάρου-ξενιστή και να συνδέεται με τον κυτταρικό υποδοχέα ACE2, ενώ προστατεύεται από εξουδετερωτικά αντισώματα (Turoňová et al., 2020; Yao et al. 2020). Η εξωτερική μεμβράνη του ιού περιέχει την πρωτεΐνη μεμβράνης (M) και την πρωτεΐνη φακέλου (E). Μέσα στον αυλό του ιού βρίσκονται τα σύμπλοκα ριβονουκλεοπρωτεΐνης (RNP) που αποτελούνται από την πρωτεΐνη νουκλεοκαψιδίου (N) και το ιϊκό γονιδίωμα, τα οποία είναι υπεύθυνα για το πακετάρισμα του γονιδιώματος RNA του ιού τα οποία εκτιμώνται σε 30-35 RNPs ανά ιό (εικ. 17), (Yao et al. 2020). Οι μη δομικές πρωτεΐνες (Nsps) Nsp1-16 παράγονται με την αυτοδιάσπαση των πρόδρομων πολυπρωτεϊνών Pp1a και Pp1ab από τις ιϊκές πρωτεάσες (Osipiuk et al., 2021). Η PLPro (Nsp3) διασπά τρεις θέσεις, που οδηγεί στην απελευθέρωση των Nsp1-3, ενώ η MPro (Nsp5) είναι υπεύθυνη για τις υπόλοιπες 11 θέσεις διάσπασης (Osipiuk et al., 2021). Αυτό επιτρέπει στις Nsps να εκτελούν ένα εύρος λειτουργιών στο κύτταρο-ξενιστή, περιλαμβανομένων των RdRp (Nsp12) και της ελικάσης (Nsp13), της δημιουργίας κυστιδίων διπλής μεμβράνης για αντιγραφή του ιϊκού γονιδιώματος, της μεταγραφής και της μεταφοράς RNA (εικ. 17) (Hardenbrook & Zhang, 2022).



### 7.3. Γλυκοπρωτεΐνη ακίδα (S)

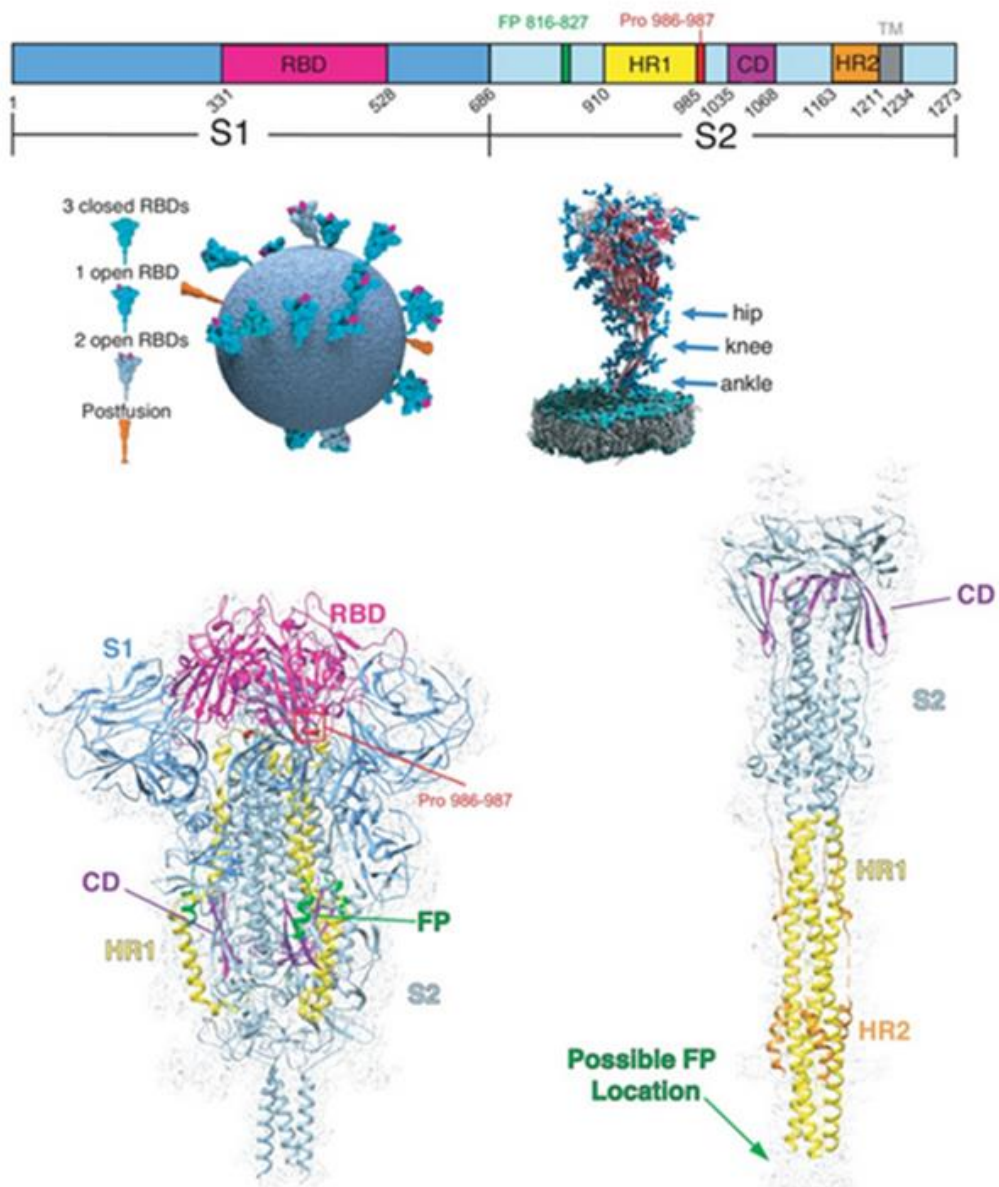
Η γλυκοπρωτεΐνη S της επιφάνειας του κορωνοϊού είναι ένα τριμερές ~600 kDa, καθώς και μία από τις μεγαλύτερες γνωστές πρωτεΐνες σύντηξης κατηγορίας 1. Τοποθετημένη στο εξωτερικό περίβλημα του βιρίου, διαδραματίζει βασικό ρόλο στην ιογενή μόλυνση αναγνωρίζοντας τους υποδοχείς του κυττάρου-ξενιστή μεσολαβώντας για τη σύντηξη των μεμβρανών του ιού και του κυττάρου-ξενιστή. Το γονίδιο S του SARS-CoV-2 κωδικοποιεί μια πρόδρομη πρωτεΐνη ~1300 αμινοξέων, η οποία στη συνέχεια ενεργοποιείται μέσω πρωτεολυτικής διάσπασης σε μια αμινική (N)-τελική υπομονάδα S1 (~700 αμινοξέα) και μια καρβοξυλική (C)-τελική υπομονάδα S2 (~600 αμινοξέα) με μονή διαμεμβρανική (TM) άγκυρα περιοχής (εικ. 18) (Hardenbrook & Zhang, 2022). Οι υπομονάδες S1 και S2 σχηματίζουν ένα ετεροδιμερές, το οποίο με τη σειρά του ολιγομερίζεται σε ένα τριμερές, με αποτέλεσμα το σχηματισμό της επιφανειακής ακίδας στο ισοστάσιο (Cai et al., 2020), (εικ. 18). Η υπομονάδα S1 αποτελείται κυρίως από μια N-τερματική περιοχή και μια περιοχή δέσμευσης υποδοχέα (RBD), καθώς και δύο C-τερματικές περιοχές (εικ. 18). Η S2 αποτελείται από ένα πεπτιδίο σύντηξης, την επανάληψη επτάδας (HR1), την περιοχή της κεντρικής έλικας, την περιοχή σύνδεσης (CD), την επανάληψη επτάδας 2 (HR2) και τη διαμεμβρανική περιοχή (Cai et al., 2020), (εικ. 18). Στη μορφή της σύντηξης, η πρωτεΐνη S φαίνεται να έχει δύο διαμορφώσεις: τη διαμόρφωση «RBD down» και τη διαμόρφωση «RBD up».

Στη μορφή της τριμερικής σύντηξης, έχουν παρατηρηθεί οι διαμορφώσεις «RBD down», ένα «RBD up» και δύο «RBD up» (Cai et al., 2020; Ke et al., 2020; Yao et al. 2020). Κατά τη διάρκεια της μόλυνσης, η RBD του SARS-CoV-2 συνδέεται με το μετατρεπτικό ένζυμο της αγγειοτενσίνης 2 (ACE2) στην επιφάνεια των κυττάρων-στόχων, πριν την πρόσληψη και σύντηξη του ιού (Lan et al., 2020; Shang J.G. et al., 2020; Xu et al., 2021; Zhu et al., 2021). Το ACE2 έχει αποδειχθεί ότι δεσμεύει την RBD μόνο στη διαμόρφωση «RBD up» (Xu et al., 2021; Zhu et al., 2021).

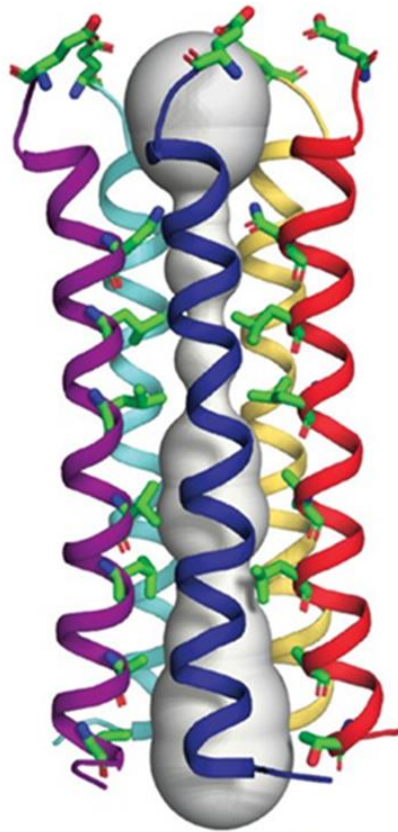
Κατά τη διάρκεια της μόλυνσης, η υπομονάδα S1 απορρίπτεται και η S2 υφίσταται μια μεγάλη αλλαγή στη διαμόρφωση, σε σύγκριση με την κατάσταση προσύντηξης (εικ. 18) (Cai et al., 2020; Fan et al. 2020). Αυτή η δομική αναδιάταξη φέρνει το πεπτιδίο σύντηξης και τη διαμεμβρανική περιοχή μαζί στο ίδιο άκρο του μορίου ακίδας, με αποτέλεσμα την εισαγωγή του πεπτιδίου σύντηξης στη μεμβράνη του ξενιστή (εικ. 18) (Cai et al., 2020; Fan et al. 2020). Η HR1 και η CD σχηματίζουν ένα εκτεταμένο, τρίκλωνο περιελιγμένο πηνίο (εικ. 18) (Cai et al., 2020). Κατά τη διάρκεια αυτής της μετάβασης, πιστεύεται ότι οι γλυκάνες καλύπτουν την προσβάσιμη επιφάνεια της υπομονάδας S2, προστατεύοντάς την από την αναγνώριση αντισωμάτων (Watanabe et al., 2020).

#### **7.4. Πρωτεΐνη φακέλου (E)**

Μαζί με την M, η πρωτεΐνη E του κορωνοϊού είναι ένα από τα κύρια συστατικά της μεμβράνης του SARS-CoV-2. Η E είναι μια μικρή πρωτεΐνη 8,5 kDa που αποτελείται από 75 κατάλοιπα αμινοξέων. Στους κορωνοϊούς, η E είναι μια κατιονική εκλεκτική πορίνη, που σχηματίζει ένα κανάλι κατά μήκος της μεμβράνης του ενδοπλασματικού δικτύου-ενδιάμεσου διαμερίσματος Golgi (ERGIC) (Hardenbrook & Zhang, 2022). Στον SARS-CoV-2, η E μεσολαβεί στην εκβλάστηση και την απελευθέρωση των ιικών σωματίων (Mandala et al., 2020). Οι διαγραφές της E έχει αποδειχθεί ότι εξασθενούν τον ιό, ενώ οι μεταλλάξεις οι οποίες καταργούν τη δραστηριότητα του καναλιού, μειώνουν την παθογένεια. Παρά τη σημασία της, η δομή της πρωτεΐνης E παρέμενε ασαφής, πρόσφατα ωστόσο ανακαλύφθηκε ότι η E αποτελείται από μια συμπαγή και άκαμπτη διαμεμβρανική περιοχή ελικοειδούς δέσμης ομοπενταμερούς (Mandala et al., 2020), (εικ. 19). Το κεντρικό τμήμα της περιοχής TM περιέχει τέσσερα υδρόφοβα κατάλοιπα τα οποία περιβάλλουν τον πυρήνα, περιορίζοντας την ακτίνα σε ~2-Å (Nieto-Torres et al., 2014).



Εικόνα 18: Οι δομές των SARS-CoV-2 spikes. Πηγή: Hardenbrook & Zhang, 2022.

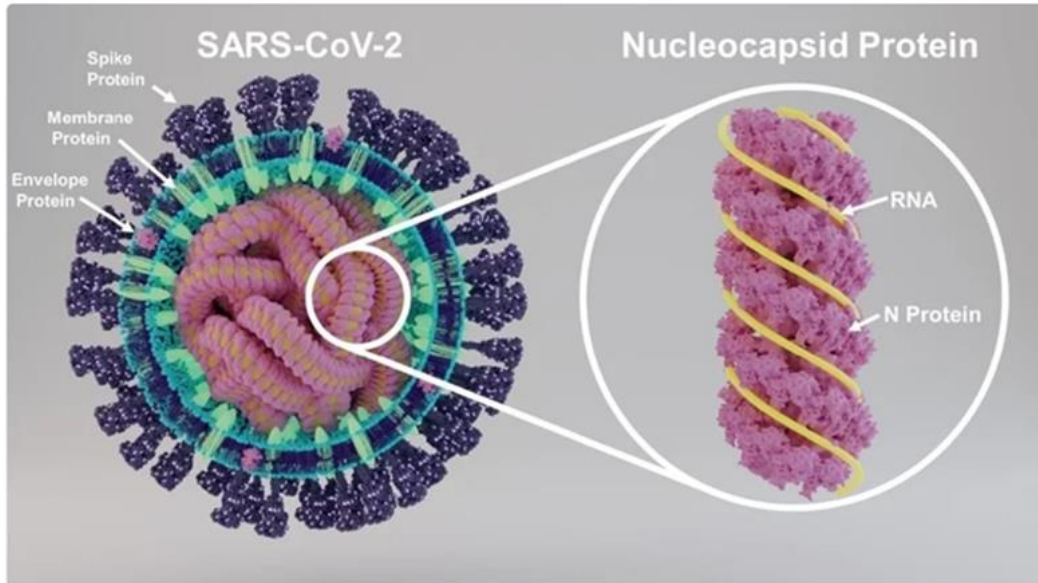


Εικόνα 19: Απεικόνιση με μοτίβο κορδέλας 5 πρωτεϊνών φακέλου του SARS-CoV-2 που σχηματίζουν έναν πόρο. Πηγή: Mandala et al., 2020.

## 7.5. Πρωτεΐνη νουκλεοκαψιδίου (N)

Το κύριο πρωτεϊνικό συστατικό του SARS-CoV-2 στο εσωτερικό του ιού είναι η πρωτεΐνη νουκλεοκαψιδίου (N). Η N είναι υπεύθυνη για τη δέσμευση του γονιδιωματικού RNA εντός του ιού και το πακετάρισμά του στο σύμπλεγμα της ριβονουκλεοπρωτεΐνης (RNP) (εικ. 20). Οι πρωτεΐνες N εκτός από το πακετάρισμα, εκτελούν μια σειρά επιπλέον λειτουργιών με κάποιες εξ αυτών να περιλαμβάνουν την παρεμβολή RNA (RNAi) (Mu et al., 2020) καθώς και τη λειτουργία ως ιϊκού καταστολέα του RNAi (VSR) στα κύτταρα. Στον SARS-CoV-2, η πρωτεΐνη N αποτελείται από τις τρεις περιοχές: τον N-βραχίονα, την κεντρική συνδετική περιοχή (LKR) και την C-ουρά, καθώς και από δύο δομικές περιοχές: την NTD η οποία χρησιμεύει ως περιοχή δέσμευσης RNA και την CTD ο οποίος λειτουργεί ως περιοχή διμερισμού (Chang et al., 2009; Peng Y. et al., 2020). Στον SARS-CoV-2, η πρωτεΐνη N σχηματίζει διμερή μέσω των αλληλεπιδράσεων CTD (Kang et al., 2020; Peng Y. et al., 2020; Ye Q. et al., 2020b; Zinzula et al., 2021). Οι N πρωτεΐνες σχηματίζουν σύμπλοκα RNP με το ιικό γονιδίωμα. Αυτά τα RNP πιστεύεται ότι συνδέονται με τα γειτονικά τους, με μοτίβο «χάντρες σε μια χορδή». Αυτός ο μηχανισμός συσκευασίας του γονιδιώματος επιτρέπει στο ασυνήθιστα μεγάλο γονιδίωμα να συσκευαστεί αποτελεσματικά μέσα στα νεοσυντιθέμενα ιοσωμάτια (Klein et al., 2020).



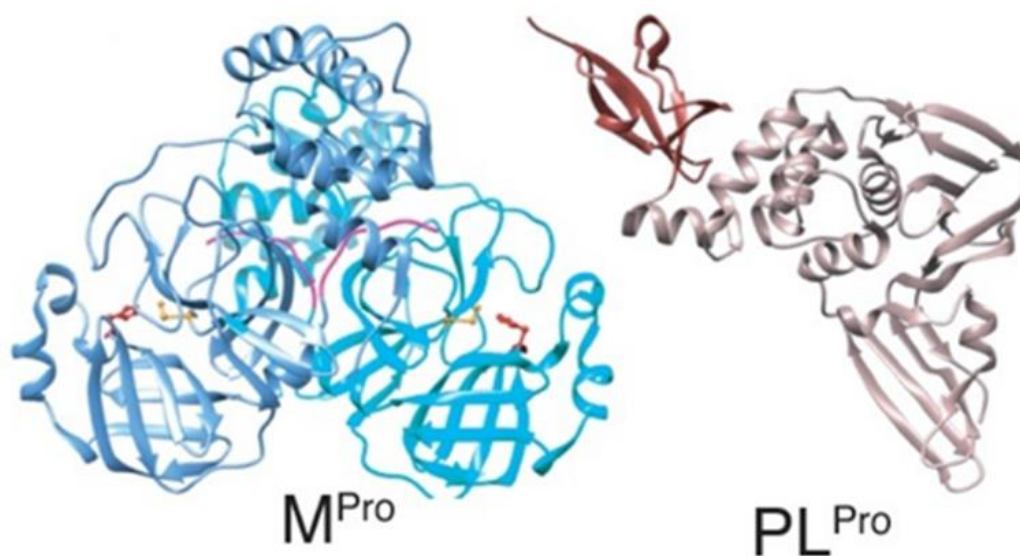


Εικόνα 20: Δομή του SARS-CoV-2, βασικές πρωτεΐνες και δομή της πρωτεΐνης του νουκλεοκαψιδίου. Πηγή: Thomas, 2020.

## 7.6. Κύρια πρωτεάση (M) και πρωτεάση παρόμοια με την παπαΐνη (PLPro)

Η M, μια πρωτεάση που μοιάζει με 3C, είναι υπεύθυνη για την επεξεργασία 11 ειδικών για αυτή θέσεων στις δύο πολυπρωτεΐνες SARS-CoV-2 Pp1a και Pp1ab σε 16 μη δομικές πρωτεΐνες (Nsp1-16) (Lee et al., 2020; Ullrich & Nitsche, 2022). Η κρυσταλλική δομή του MPro προσδιορίστηκε πρόσφατα (εικ. 21, μπλε και κυανό) (Jin Z. et al., 2020; Zhang et al., 2020). Η M αποτελείται από τρεις τομείς, τον τομέα I που μοιάζει με χυμοθρυψίνη, τον τομέα II που μοιάζει με πρωτεάση των πικρορναϊών 3C, καθώς και από τον τομέα III, που αποτελείται από 5 αντιπαράλληλες α-έλικες που ρυθμίζουν τον διμερισμό, ο οποίος είναι απαραίτητος για την ενζυματική λειτουργία της M (Douangamath et al., 2020; Zhang et al., 2020). Ο θύλακας δέσμευσης της M βρίσκεται μεταξύ των περιοχών I και II, με μια καταλυτική δυάδα Cys-His που λειτουργεί ως ενεργή θέση. Η M στοχεύει μια ακολουθία αναγνώρισης Leu-Gln↓(Ser, Ala, Gly) (με το ↓ να υποδηλώνει τη θέση διάσπασης) (Zhang et al., 2020). Μια δεύτερη, πρωτεάση τύπου παπαΐνης (PLPro), που κωδικοποιείται σε Nsp3, είναι η πρωτεάση που είναι υπεύθυνη για τη διάσπαση των υπόλοιπων τριών διασπάσεων πολυπρωτεϊνών (Klemm et al., 2020). Η κρυσταλλική δομή της PLPro έχει επίσης

προσδιοριστεί (Shin et al., 2020; Osipiuk et al, 2021), δείχνοντας ότι περιέχει δύο τομείς: μια μικρή, N-τερματική περιοχή και μια καταλυτική περιοχή με αρχιτεκτονική «αντίχειρα-παλάμης-δακτύλων» (εικ. 21). Η καταλυτική ενεργή θέση βρίσκεται μεταξύ των περιοχών του αντίχειρα και της παλάμης και περιέχει μια κανονική καταλυτική τριάδα πρωτεάσης κυστεΐνης, που αναγνωρίζει μια αλληλουχία Leu-X-Gly-Gly↓(XX) (Osipiuk et al, 2021).



Εικόνα 21: Πρωτεάση M και πρωτεάση παρόμοια με την παπαΐνη. Πηγή: Hardenbrook & Zhang, 2022.

## 7.7. Άλλες μη δομικές πρωτεΐνες

Οι πρωτεΐνες SARS-CoV-2 μπορούν να ομαδοποιηθούν σε δύο μεγάλες κατηγορίες, τις δομικές και τις μη δομικές πρωτεΐνες (NSPs). Ενώ, οι δομικές πρωτεΐνες, είτε συγκρατούν το γονιδίωμα RNA είτε είναι ενσωματωμένες στο ιϊκό περίβλημα, μια μη δομική πρωτεΐνη που κωδικοποιείται από έναν ιό εκφράζεται σε μολυσμένα κύτταρα, αλλά δεν ενσωματώνεται στο σωματίδιο του ιού. Τα NSPs περιλαμβάνουν διάφορα ένζυμα και μεταγραφικούς παράγοντες που χρησιμοποιεί ο ιός για να διπλασιαστεί, όπως μια ιϊκή πρωτεάση και μια ρεπλικάση RNA (Pellenz, 2022). Μετά τη μόλυνση του κυττάρου-ξενιστή, παράγονται οι πολυπρωτεΐνες SARS-CoV-2 Pp1a και Pp1ab οι οποίες διασπώνται από την πρωτεάση τύπου παπαΐνης (PLPro) και την πρωτεάση τύπου 3C (3CLpro). Οι διασπασμένες πρωτεΐνες είναι λειτουργικές NSPs όπως η ελικάση ή η RNA εξαρτώμενη από RNA πολυμεράση (RdRp) η οποία καταλύει την αντιγραφή του

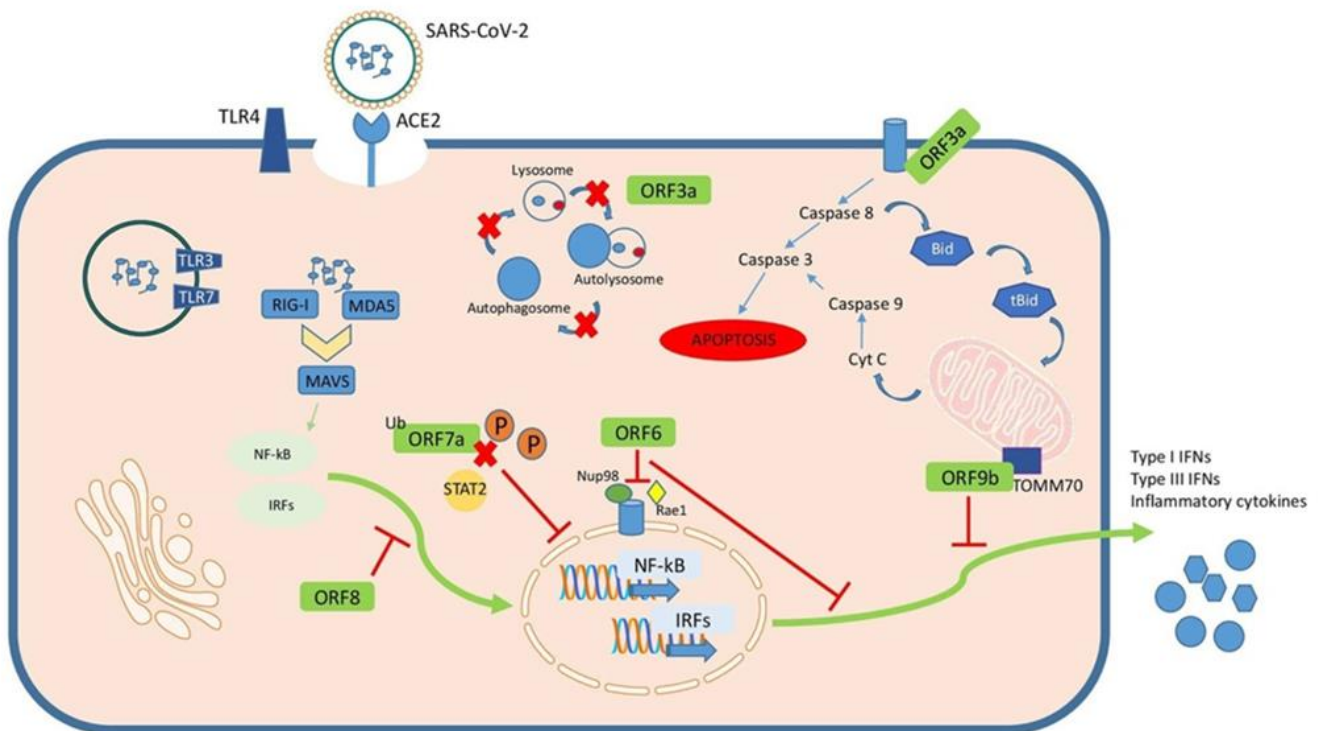


RNA από ένα πρότυπο RNA. Τέλος, η ελικάση RNA βοηθά στο ξετύλιγμα του dsRNA (Pellenz, 2022). Ενδεικτικά αναφέρεται ότι η Nsp1 λειτουργεί ως παράγοντας παύσης του ξενιστή, δεσμεύοντας το κανάλι εισόδου mRNA των ριβοσωματικών συμπλεγμάτων (Hardenbrook & Zhang, 2022). Ο ρόλος της Nsp2 στη μόλυνση από SARS-CoV-2 παραμένει άγνωστος (Ma et al., 2021). Η Nsp3 μαζί με την PLPro, περιέχει έναν τομέα υπεύθυνο για την απομάκρυνση της ADP-ριβόζης από τις θέσεις ADP-ριβοζυλίωσης κατά τη διάρκεια της μόλυνσης, παίζοντας δυνητικά σημαντικό ρόλο στη διακοπή της ADP-ριβοζυλίωσης του ξενιστή (Frick et al., 2020; Lin M.H. et al., 2020; Michalska et al., 2020). Η Nsp12, το RdRp, είναι απαραίτητη για τη σύνθεση του ιϊκού RNA ενώ με την προσθήκη των συμπαραγόντων Nsp7 και Nsp8 και τον σχηματισμό ενός συμπλόκου RdRp:RNA με ικρίωμα RNA που αποτελείται από εκμαγείο RNA (t-RNA) και RNA εκκινητών (p-RNA), η δραστηριότητα πολυμεράσης του Nsp12 βελτιώνεται σημαντικά (Peng Q. et al., 2020). Η Nsp13 είναι μια ελικάση που αλληλεπιδρά με το σύμπλεγμα RdRp:RNA, σχηματίζοντας το σύμπλοκο αντιγραφής-μεταγραφής Nsp13 (Nsp13-RTC) απαραίτητο για την αντιγραφή και τη μεταγραφή (Chen J.B. et al., 2020; Malone et al., 2021; Yan et al., 2021). Η Nsp9 στην κρυσταλλική της δομή σχηματίζει ένα διμερές, με κάθε μονομερές να περιέχει μια μοναδική πτυχή που περιορίζεται στους κορωνοϊούς (Littler et al., 2020). Η Nsp10 δρα ως συμπαράγοντας, απαραίτητος για τη διέγερση των Nsp14 και Nsp16 (Rogstam et al., 2020). Η Nsp14 είναι μια διλειτουργική πρωτεΐνη, που αποτελείται από μια N-τερματική περιοχή εξοριβουκλεάσης (ExoN) και μια O-τελική περιοχή γουανίνης-NT-MTάση που εμπλέκεται στη δημιουργία καλύμματος (Lin et al., 2021; Yan et al., 2021). Η Nsp16 είναι μεθυλτρανσφεράση που εξαρτάται από τη S-αδενοσυλμεθειονίνη (SAM-MTase) απαραίτητη για τη μεθυλίωση του καλύμματος του ιϊκού RNA (Lin S. et al., 2020; Rosas-Lemus et al., 2020). Ενώ ο ρόλος της Nsp15 (NendoU) στη μόλυνση από SARS-CoV-2 παραμένει ασαφής, μελέτες σε άλλους ιούς υποδηλώνουν ότι μπορεί να έχει πολλαπλούς στόχους διάσπασης, σημαντικούς για τη συσσώρευση ιϊκού RNA και την πρόληψη των ανοσοαποκρίσεων που ενεργοποιούνται από το RNA (Pillon et al., 2021).

## 7.8. Πρωτεΐνες ανοιχτού πλαισίου ανάγνωσης (ORFs)

Οι ORFs του SARS-CoV-2 αποτελούνται από έντεκα ιϊκές πρωτεΐνες των οποίων ο ρόλος κατά τη μόλυνση δεν είναι ακόμη πλήρως κατανοητός (Redondo et al., 2021). Οι

βοηθητικές αυτές πρωτεΐνες είναι σημαντικοί λοιμογόνιοι παράγοντες που εμπλέκονται σε διαφορετικούς μηχανισμούς παθογένεσης κατά τη διάρκεια της μόλυνσης από SARS-CoV-2. Οι περισσότεροι από τους ρόλους που τους αποδίδονται σχετίζονται με μηχανισμούς ανοσοδιαφυγής όπως η αναστολή της έκκρισης κυτοκίνης από την ORF9c ή η εξουδετέρωση της δράσης της IFN τύπου I από τις ORF3b, ORF6, ORF7a, ORF8 ή ORF9b. Επιπλέον, υπάρχουν άλλοι σημαντικοί κυτταρικοί μηχανισμοί που μεταβάλλονται από αυτές τις βοηθητικές πρωτεΐνες όπως η αυτοφαγία ή η απόπτωση από την ORF3a, η μιτοχονδριακή λειτουργία από την ORF3d ή η ενεργοποίηση της φλεγμονώδους αντίδρασης από την ORF9b (εικ. 22) (Shang et al., 2021).



Εικόνα 22: Σύνοψη των γνωστών μηχανισμών δράσης των βοηθητικών πρωτεϊνών του SARS-CoV-2 στο μολυσμένο κύτταρο. Πηγή: Redondo et al., 2021.

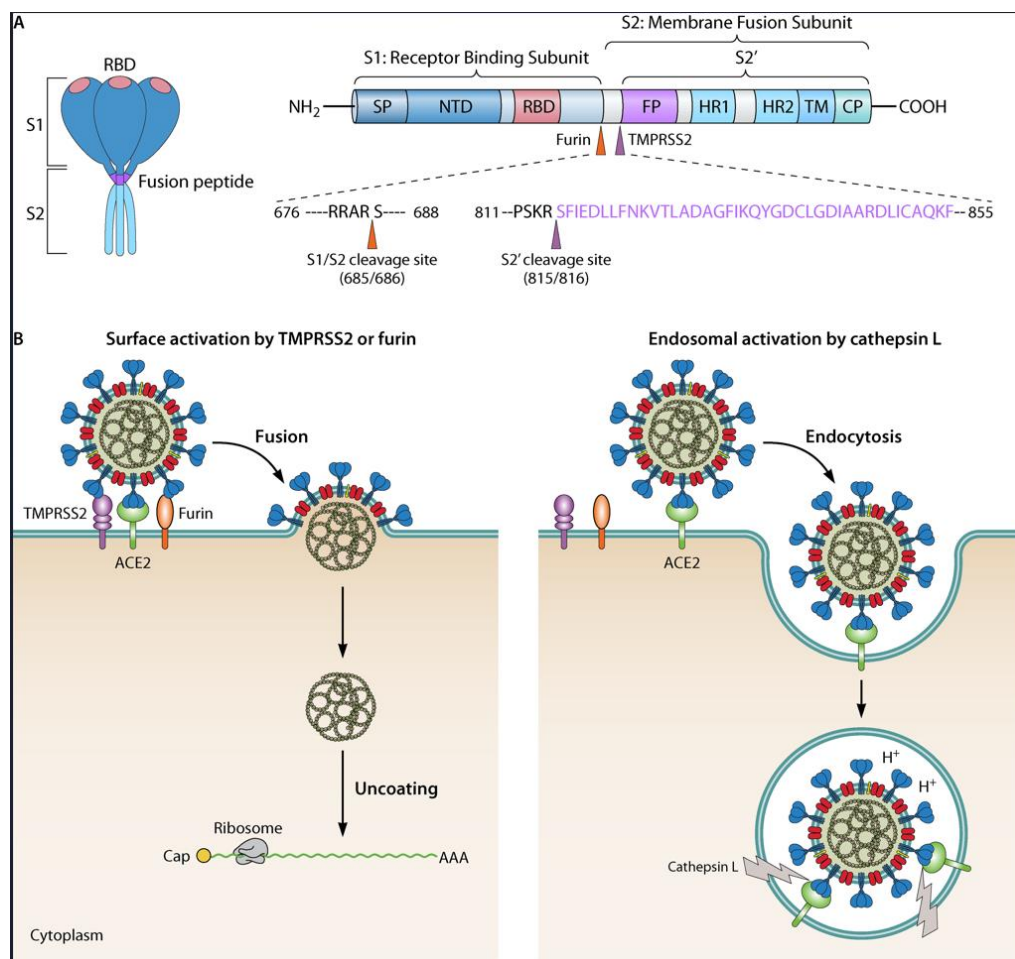
## 7.9. Μηχανισμός εισόδου του SARS-CoV-2 στα κύτταρα

Ο SARS-CoV-2 βασίζεται στον υποδοχέα του, το μετατρεπτικό ένζυμο της αγγειοτενσίνης 2 (ACE2), για να εισέλθει στα κύτταρα (Lan et al., 2020; Shang J. et al., 2020; Walls et al., 2020; Wang Q. et al., 2020b; Zhou H. et al., 2020). Το ACE2

αναγνωρίστηκε αρχικά το 2003 ως ο υποδοχέας του SARS-CoV (Li et al., 2003), ενώ είναι επίσης υποδοχέας για τους αλφακορωνοϊούς HCoV-NL63 και HCoV-229E, καθώς και τους βήτα κορωνοϊούς HCoV-OC43 και HCoV-HKU1 (Hofmann et al., 2005). Όπως αναφέρθηκε, το ιοσωμάτιο του SARS-CoV-2 αποτελείται από την πρωτεΐνη του νουκλεοκαψιδίου (N), της μεμβράνης (M), του περιβλήματος (E) και της ακίδας (S), οι οποίες είναι δομικές πρωτεΐνες. Τα στάδια εισόδου των σωματιδίων του ιού -που περιλαμβάνουν την προσκόλληση στη μεμβράνη του κυττάρου-ξενιστή και την σύντηξη- διεκπεραιώνονται από τη γλυκοπρωτεΐνη S. Η πρωτεΐνη S συναρμολογείται ως τριμερές και εισάγεται σε πολλαπλά αντίγραφα στη μεμβράνη του βιρίου δίνοντάς του την όψη που προσομοιάζει με στέμμα. Οι γλυκοπρωτεΐνες εισόδου πολλών ιών, συμπεριλαμβανομένου του HIV-1, του ιού Έμπολα και των ιών της γρίπης των πτηνών, διασπώνται σε δύο υπομονάδες - εξωκυτταρική και διαμεμβρανική - στα μολυσμένα κύτταρα (δηλαδή, η διάσπαση συμβαίνει πριν από την απελευθέρωση του ιού από το κύτταρο που τον παράγει). Ομοίως, η πρωτεΐνη S ορισμένων κορωνοϊών διασπάται σε υπομονάδες S1 και S2 κατά τη διάρκεια της βιοσύνθεσής τους στα μολυσμένα κύτταρα, ενώ η πρωτεΐνη S άλλων κορωνοϊών διασπάται μόνο όταν φτάσουν στο επόμενο κύτταρο στόχο. Ο SARS-CoV-2, όπως και ο MERS-CoV, ανήκουν στην πρώτη κατηγορία: η πρωτεΐνη S του διασπάται από κονβερτάσες όπως η φουρίνη στα μολυσμένα κύτταρα (Hoffmann et al., 2020; Shang J. et al., 2020). Επομένως, η πρωτεΐνη S στο ώριμο ιοσωμάτιο αποτελείται από δύο μη ομοιοπολικά συνδεδεμένες υπομονάδες: την υπομονάδα S1 η οποία δεσμεύει το ACE2 και την υπομονάδα S2 η οποία αγκυροβολεί την πρωτεΐνη S στη μεμβράνη. Η υπομονάδα S2 περιλαμβάνει επίσης ένα πεπτίδιο σύντηξης και άλλους μηχανισμούς, απαραίτητους για την ολοκλήρωση της σύντηξης μεμβράνης κατά τη μόλυνση ενός νέου κυττάρου (Fehr & Perlman, 2015), (εικ. 23)

Η σύνδεση του υποδοχέα με τις γλυκοπρωτεΐνες εισόδου του ιού, συνήθως σε συνεργασία με άλλους ενεργοποιητές, προκαλεί δραματικές αλλαγές στη διαμόρφωση και των δύο υπομονάδων, οι οποίες ενώνουν την ιϊκή και την κυτταρική μεμβράνη, δημιουργώντας τελικά έναν πόρο σύντηξης ο οποίος επιτρέπει στο γονιδίωμα του ιού να εισέλθει στο κυτταρόπλασμα του κυττάρου. Για τον SARS-CoV-2, ένα τέτοιο έναυσμα είναι η διάσπαση μιας επιπλέον θέσης εντός της υπομονάδας S2, που ονομάζεται «θέση S2». Η σύνδεση με το ACE2 εκθέτει την τοποθεσία S2'. Η διάσπαση της θέσης S2' -από διαμεμβρανική πρωτεάση, σερίνης 2 (TMPRSS2) (Glowacka et al., 2011; Matsuyama et al., 2011; Shulla et al., 2011) στην κυτταρική επιφάνεια ή από καθεψίνη L (Huang et al.,

2006; Simmons et al., 2005) στο ενδοσωμικό κυστίδιο μετά από ενδοκυττάρωση που προκαλείται από ACE2 (Inoue et al, 2007; Bayati et al., 2021)- απελευθερώνει το πεπτιδίο σύντηξης, ξεκινώντας με τον τρόπο αυτό, τον σχηματισμό πόρων σύντηξης. Κατά συνέπεια, κάθε βήμα αυτής της διαδικασίας είναι σημαντικό, καθώς το γονιδίωμα του ιού, προκειμένου να αποκτήσει πρόσβαση στο κυτταρόπλασμα, είναι απαραίτητο ο πόρος που διαστέλλεται και οι μεμβράνες του ιού και των κυττάρων, να συνδυάζονται άγγογα (Jackson et al., 2022), (εικ. 23).



Εικόνα 23: Α: Τρισδιάστατη δομή και τμηματική οργάνωση της πρωτεΐνης ακίδας του SARS-CoV-2. Β: Είσοδος του SARS-CoV-2 στο κύτταρο: μέσω σύνδεσης με τον υποδοχέα TMPRSS2 και είσοδος μέσω ενδοκυττάρωσης. Πηγή: Kung et al., 2022.

## 7.10. Παραλλαγές

Ο SARS-CoV-2, όπως και οι άλλοι ιοί RNA, είναι επιρρεπής στη γενετική εξέλιξη. Με την πάροδο του χρόνου, προσαρμόζεται στους νέους ανθρώπινους ξενιστές, αναπτύσσοντας μεταλλάξεις, έχοντας ως αποτέλεσμα την εμφάνιση πολλαπλών παραλλαγών, οι οποίες δύναται να έχουν διαφορετικά χαρακτηριστικά σε σύγκριση με

τα προγονικά στελέχη του ιού (Aleem et al., 2022). Κατά τη διάρκεια της ταχείας εξάπλωσής του, έχουν εμφανιστεί αρκετές παραλλαγές SARS-CoV-2. Η εμφάνιση αυτών των υπερμεταλλαγμένων ιών είχε ως αποτέλεσμα την αλλαγή στα μολυσματικά χαρακτηριστικά του παθογόνου με την αύξηση της ικανότητας μετάδοσης (Bansal & Kumar, 2022; Scrima et al., 2022). Σε μια πρόσφατη μελέτη, σχετικά με τα μοριακά εξελικτικά χαρακτηριστικά του SARS-CoV-2 στις Ηνωμένες Πολιτείες, οι Wang et al. (2022) έδειξαν ότι ο ρυθμός μετάλλαξης νουκλεοτιδίου ολόκληρου του γονιδιώματος ήταν  $6,677 \times 10^{-4}$  υποκαταστάσεις ανά θέση, ανά έτος και ο ρυθμός μετάλλαξης νουκλεοτιδίου του γονιδίου S ήταν  $8,066 \times 10^{-4}$  υποκαταστάσεις ανά θέση, ανά έτος, τοποθετώντας τον σε μεσαίο επίπεδο σε σύγκριση με άλλους ιούς RNA. Λαμβάνοντας υπόψη προηγούμενες μελέτες σχετικά με το ρυθμό εξέλιξης της μετάλλαξης του SARS-CoV-2 (Li X. et al., 2020; Motayo et al., 2021; Pereson et al., 2021; Shen et al., 2021), διαπιστώνεται ότι με την πάροδο του χρόνου, ο ρυθμός εξέλιξης του ιού σταδιακά μειώνεται πιθανώς λόγω του μηχανισμού διόρθωσής του, ο οποίος λειτουργεί κατά την αναπαραγωγή, διορθώνοντας ορισμένα σφάλματα που μπορεί να προκύψουν κατά τη διαδικασία αντιγραφής περιορίζοντας, με τον τρόπο αυτό, το ποσοστό μετάλλαξης του (Minskaia et al., 2006; Gribble et al., 2021).

Από τον Ιανουάριο του 2020 ο ΠΟΥ, σε συνεργασία με δίκτυα εμπειρογνομόνων, εθνικές αρχές, ιδρύματα καθώς και ερευνητές σε όλο τον κόσμο, παρακολουθεί και αξιολογεί την εξέλιξη του SARS-CoV-2. Η εμφάνιση ωστόσο, των παραλλαγών κατέστησε αναγκαία τη δημιουργία ονοματολογίας για τη διάκρισή τους. Για τον λόγο αυτό, ο ΠΟΥ συγκάλεσε μια ομάδα επιστημόνων αποτελούμενη από το WHO Virus Evolution Working Group (που τώρα ονομάζεται the Technical Advisory Group on Virus Evolution), το δίκτυο εργαστηρίων αναφοράς του ΠΟΥ για την COVID-19, εκπροσώπους των GISAIID, Nextstrain, Pango, καθώς και εμπειρογνώμονες στην ιολογική και μικροβιακή ονοματολογία από διάφορες χώρες, για να επιλέξουν εύκολες στην προφορά καθώς και μη στιγματικές ονομασίες για τις παραλλαγές, προκειμένου να διευκολυνθεί η δημόσια συζήτηση για το μη επιστημονικό κοινό (Berno et al., 2022). Στις 31 Μαΐου του 2021, μετά από μήνες συζητήσεων, ο ΠΟΥ ανακοίνωσε τη χρήση του ελληνικού αλφαβήτου για την ονοματολογία των σημαντικών στελεχών του ιού<sup>6</sup>.

---

<sup>6</sup> Τον Νοέμβριο του 2021 ο ΠΟΥ, αφού χρησιμοποίησε όλα τα γράμματα του ελληνικού αλφαβήτου από το Άλφα στο Μι, παρέλειψε τα επόμενα δύο, Νι και Ξι (Xi) χρησιμοποιώντας το Όμικρον, προκαλώντας εικασίες ότι το Ξι παραλείφθηκε για να αποφευχθεί η συσχέτιση με το όνομα του Κινέζου προέδρου Xi Jinping. Ο ΠΟΥ ωστόσο, έδωσε ως εξήγηση ότι το Νι (Nu) συγγέεται πολύ εύκολα με το «νέο» και το Ξι (Xi) είναι ένα κοινό επίθετο (The Associated

Τα καθιερωμένα συστήματα για την ονοματολογία και την παρακολούθηση των γενετικών διαφοροποιήσεων του SARS-CoV-2 από τα GISAID, Nextstrain και Pango είναι επί του παρόντος και θα παραμείνουν σε χρήση, για επιστημονικές έρευνες (WHO, 2022c).

Ο ΠΟΥ ταξινομεί τις παραλλαγές του SARS-CoV-2 σε τρεις κατηγορίες. Πιο συγκεκριμένα οι κατηγορίες αυτές περιλαμβάνουν τις παραλλαγές ανησυχίας (Variants of concern, VOCs), τις παραλλαγές ενδιαφέροντος (Variants of interest, VOIs) και τις παραλλαγές υπό παρακολούθηση (Variants under monitoring VUMs) (WHO, 2022c). Οι VOCs χαρακτηρίζονται από αυξημένη μεταδοτικότητα ή λοιμογόνο δράση, μείωση της εξουδετέρωσης από αντισώματα που παράγονται μέσω φυσικής μόλυνσης ή εμβολιασμού, ικανότητα αποφυγής ανίχνευσης και μείωση της αποτελεσματικότητας του εμβολιασμού (Aleem et al., 2022). Με βάση την επιδημιολογική ενημέρωση από τον ΠΟΥ, από τις 11 Δεκεμβρίου 2021 και μέχρι την στιγμή της συλλογής των δεδομένων αυτού του κειμένου, έχουν εντοπιστεί πέντε VOCs SARS-CoV-2 (WHO, 2022c):

- Alpha (B.1.1.7): η πρώτη παραλλαγή ενδιαφέροντος. Εντοπίστηκε στο Ηνωμένο Βασίλειο στα τέλη του Δεκεμβρίου του 2020.
- Beta (B.1.351): αναφέρθηκε για πρώτη φορά στη Νότια Αφρική τον Δεκέμβριο του 2020.
- Gamma (P.1): αναφέρθηκε για πρώτη φορά στη Βραζιλία στις αρχές του Ιανουαρίου του 2021.
- Delta (B.1.617.2): αναφέρθηκε για πρώτη φορά στην Ινδία τον Δεκέμβριο του 2020.
- Omicron (B.1.1.529): αναφέρθηκε για πρώτη φορά στη Νότια Αφρική τον Νοέμβριο του 2021.

Και οι πέντε προαναφερθείσες VOCs έχουν μεταλλάξεις στο RBD και το NTD, εκ των οποίων η μετάλλαξη N501Y που βρίσκεται στο RBD και είναι κοινή σε όλες τις παραλλαγές εκτός από την παραλλαγή Delta, οδηγεί σε αυξημένη συγγένεια της πρωτεΐνης ακίδας με τους υποδοχείς ACE2, ενισχύοντας έτσι την ιϊκή προσκόλληση και την επακόλουθη είσοδο του ιού στα κύτταρα-ξενιστές (Aleem et al., 2022). Μαζί με την NTD, η RBD χρησιμεύει ως ο κυρίαρχος στόχος των εξουδετερωτικών αντισωμάτων

---

Press, 2021). Σε περίπτωση που χρησιμοποιηθεί ολόκληρο το ελληνικό αλφάβητο, ο ΠΟΥ εξετάζει το ενδεχόμενο να ονομάσει τις μελλοντικές παραλλαγές με ονομασίες αστερισμών (Sky News, 2021).

που παράγονται από φυσική νόσηση ή εμβολιασμό (Chi et al., 2020). Δύο πρόσφατες δημοσιεύσεις ανέφεραν ότι μια μόνο μετάλλαξη του N501Y αυξάνει τη συγγένεια μεταξύ RBD και ACE2 περίπου δέκα φορές περισσότερο από το προγονικό στέλεχος (N501-RBD). Είναι ενδιαφέρον ότι η συγγένεια δέσμευσης της παραλλαγής Beta (B.1.351) και της παραλλαγής Gamma (P.1) με μεταλλάξεις N417/K848/Y501-RBD και ACE2 ήταν πολύ χαμηλότερη από αυτή των N501Y-RBD και ACE2. (Liu et al., 2021a; Liu et al., 2021b).

Ως VOIs ορίζονται παραλλαγές με συγκεκριμένους γενετικούς δείκτες που έχουν συσχετιστεί με αλλαγές που μπορεί να επηρεάσουν, μεταξύ άλλων, τη μετάδοση, τη διάγνωση και τη θεραπεία, ενώ χαρακτηρίζονται από περιορισμένη επικράτηση ή επέκταση σε διάφορες χώρες (CDC, 2022a). Μέχρι στιγμής από την αρχή της πανδημίας, ο ΠΟΥ έχει περιγράψει οκτώ παραλλαγές ενδιαφέροντος, δηλαδή την Epsilon (B.1.427 και B.1.429), την Zeta (P.2), την Eta (B.1.525), την Theta (Σ.3), την Iota (B.1.526), την Kappa (B.1.617.1), την Lambda (C.37) και την Mu (B.1.621) (WHO, 2022c). Ως VUMs ορίζονται οι παραλλαγές SARS-CoV-2 με γενετικές αλλαγές που πιθανολογείται ότι επηρεάζουν τα χαρακτηριστικά του ιού, φέροντας ενδείξεις ότι μπορεί να αποτελέσουν μελλοντικό κίνδυνο, αλλά τα στοιχεία φαινοτυπικού ή επιδημιολογικού αντίκτυπου είναι επί του παρόντος ασαφή, απαιτώντας επιπλέον παρακολούθηση και επαναξιολόγηση εν αναμονή νέων στοιχείων (WHO, 2022c). Επί του παρόντος, καμία παραλλαγή του SARS-CoV-2 δεν έχει οριστεί ως VOI ή VUM (CDC, 2022a).

### 7.11. Συμπτώματα και κλινική εικόνα

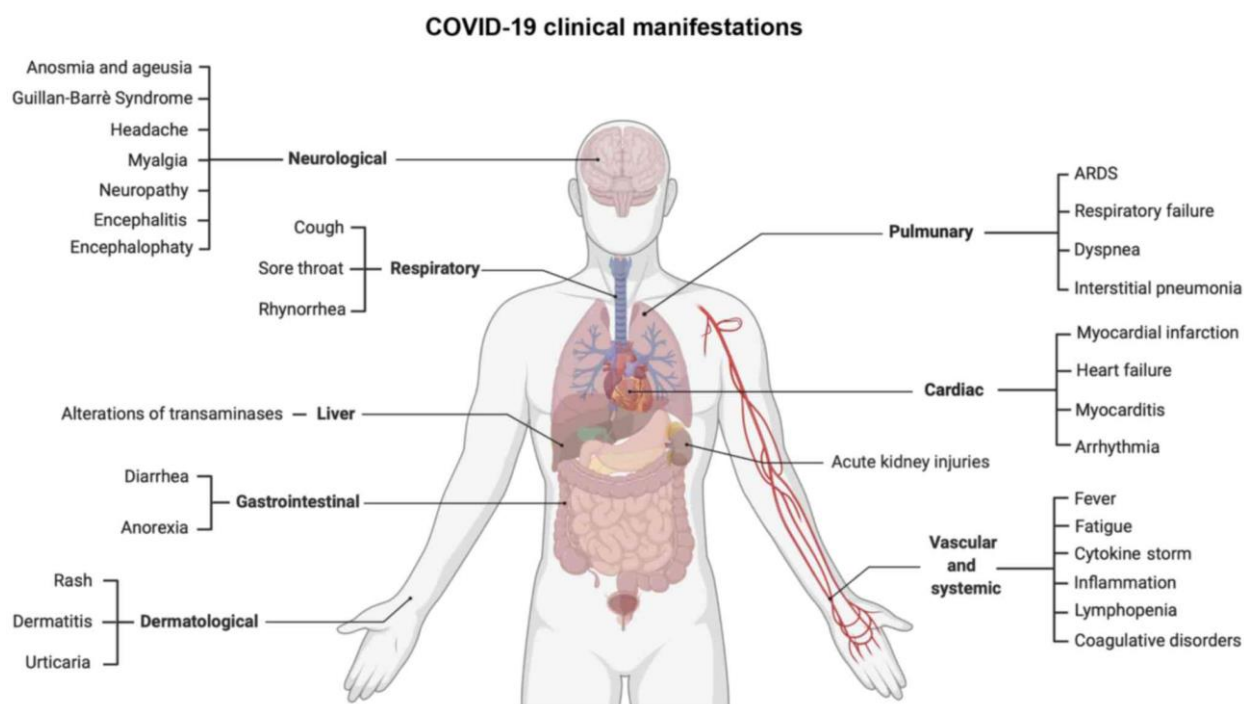
Τα συμπτώματα από τη λοίμωξη με COVID-19 ποικίλουν σημαντικά και χαρακτηρίζονται από ήπια μέχρι σοβαρά. Πιο συγκεκριμένα και σύμφωνα με μελέτες, τα κύρια αναπνευστικά συμπτώματα περιλαμβάνουν, αλλά δεν περιορίζονται σε αυτά, δύσπνοια, βήχα, ρινόρροια και πονόλαιμο, ενώ άλλα κοινά συμπτώματα είναι, ο πυρετός, οι πονοκέφαλοι, καθώς και η διάρροια (Pascarella et al., 2020). Ωστόσο, τα πιο κοινά συμπτώματα που αναφέρθηκαν από ασθενείς με COVID-19 είναι η ανοσμία και η αγευσία, σε συνδυασμό με την κόπωση (Tanasa et al., 2020; Torre et al., 2020). Εκτός αυτών, έχουν αναφερθεί μια πληθώρα κλινικών εκδηλώσεων, που κυμαίνονται από καρδιαγγειακές έως νευρολογικές διαταραχές και από γαστρεντερικά έως συστηματικά συμπτώματα (εικ. 24). Συγκεκριμένα, ο SARS-CoV-2 παρουσιάζει νευροτροπική



συμπεριφορά μέσω της ανάδρομης διασυναπτικής διείσδυσης στο κεντρικό νευρικό σύστημα, ενώ παράλληλα είναι σε θέση να δεσμεύει συγκεκριμένους υποδοχείς στα κύτταρα που αποτελούν τον οσφρητικό βολβό ή τους αισθητικούς υποδοχείς των πνευμόνων και των αεραγωγών (Falzone et al., 2021). Ανάμεσα στα πιο συχνά νευρολογικά συμπτώματα είναι οι πονοκέφαλοι, η νευροπάθεια, η μυαλγία, η εγκεφαλίτιδα, η εγκεφαλοπάθεια κ.λπ. (Pennisi et al., 2020). Άλλα κοινά συμπτώματα σχετίζονται με την συστηματική φλεγμονή που είναι υπεύθυνη για την αλλαγή των πηκτικών και αιματολογικών παραμέτρων, καθώς και για τη λεγόμενη «καταιγίδα κυτοκινών» που παρατηρείται σε ασθενείς COVID-19 με σοβαρά αναπνευστικά συμπτώματα. Στην πραγματικότητα, η φλεγμονή οδηγεί στην αύξηση των υπολειμμάτων ινώδους/ινωδογόνου και D-διμερών που σχετίζονται με την πηκτικότητα, ενώ σε σπάνιες περιπτώσεις, τέτοιες αλλαγές μπορεί να προκαλέσουν διάχυτη ενδαγγειακή πήξη που απαιτεί προφυλακτική ή θεραπευτική αντιπηκτική αγωγή (Connors & Levy, 2020). Επιπλέον, η φλεγμονή είναι επίσης υπεύθυνη για τη λεμφοπενία και την εξασθένιση των T-κυττάρων (Diao et al., 2020). Αυστηρά σχετιζόμενες με αυτές τις αιματολογικές αλλοιώσεις, είναι οι καρδιαγγειακές διαταραχές, όπως το στεφανιαίο σύνδρομο, η μυοκαρδιοπάθεια, η μυοκαρδίτιδα, οι αρρυθμίες κ.λπ. (Basu-Ray et al., 2022), ενώ μεταξύ των γαστρεντερικών διαταραχών, η μόλυνση με SARS-CoV-2 είναι υπεύθυνη για ναυτία, έμετο, απώλεια βάρους, ανορεξία και συχνότερα διάρροια. Μεταξύ αυτών των συμπτωμάτων περιλαμβάνονται επίσης ηπατικές εκδηλώσεις που αντιπροσωπεύονται κυρίως από αυξημένα επίπεδα τρανσαμινασών (Garland et al., 2021). Τέλος, η λοίμωξη μπορεί να επηρεάσει τους νεφρούς, το δέρμα, το ενδοκρινικό σύστημα κ.λπ. (Baj et al., 2022).

Συνολικά, τα συμπτώματα της COVID-19 είναι ήπια στο 80-90% των θετικών ατόμων. Ωστόσο, ένα μικρό ποσοστό ασθενών εμφανίζει σοβαρά συμπτώματα που απαιτούν νοσηλεία. Περίπου το 5% των ασθενών αναπτύσσει διάμεση πνευμονία που σχετίζεται με αναπνευστική ανεπάρκεια, «καταιγίδα κυτοκινών» και πολυοργανική ανεπάρκεια που θα μπορούσε να οδηγήσει σε θάνατο του ασθενούς (Pascarella et al., 2020; Renu et al., 2020).





Εικόνα 24: Κλινικές εκδηλώσεις της COVID-19. Πηγή: Falzone et al., 2021.

## 7.12. Μέθοδοι ανίχνευσης του SARS-CoV-2

Η πανδημία της COVID-19 έχει αναδείξει τον σημαίνοντα ρόλο, καθώς και τη βαρύνουσα σημασία της εργαστηριακής διάγνωσης στη διαχείριση των έκτακτων υγειονομικών κρίσεων. Σε πολύ σύντομο χρονικό διάστημα, επιστήμονες σε ερευνητικά εργαστήρια και βιοϊατρικές εταιρείες, κατάφεραν να μελετήσουν τα κύρια μοριακά και δομικά χαρακτηριστικά του SARS-CoV-2, βοηθώντας με τον τρόπο αυτό, τους ερευνητές παγκοσμίως, να αναπτύξουν εξαιρετικά αξιόπιστες μεθόδους ανίχνευσης (Falzone et al., 2021). Τα διαγνωστικά αυτά εργαλεία συμβάλουν στη ρεαλιστική αξιολόγηση της επιδημιολογικής κατάστασης σε εθνικό και παγκόσμιο επίπεδο, επηρεάζουν τη λήψη ιατρικών και κυβερνητικών μέτρων και αποφάσεων, ενώ είναι απαραίτητα για την αποτελεσματική διάγνωση και αντιμετώπιση της παθογένειας, περιορίζοντας έτσι την εξάπλωση της λοίμωξης (Ji et al., 2021; Yüce et al., 2021; Filchakova et al., 2022). Η διεθνής βιβλιογραφία περιλαμβάνει ένα πολυδιάστατο, πλουραλιστικό και συνάμα ευρύ σύνολο τεχνικών διάγνωσης, στην παρούσα εργασία ωστόσο, επιχειρείται μια σύντομη και περιεκτική παράθεση των σημαντικότερων εξ

αυτών, με ιδιαίτερη έμφαση σε εκείνες τις μεθόδους που αφορούν εργαστηριακές πρακτικές και περιλαμβάνουν κυρίως μεθόδους μοριακές ή ανίχνευσης νουκλεϊκού οξέος, ανοσολογικές δοκιμασίες, καθώς και μια σειρά εναλλακτικών μεθόδων.

Ο SARS-CoV-2 μπορεί να ανιχνευθεί σε διάφορα δείγματα, συμπεριλαμβανομένων των επιχρισμάτων στοματοφάρυγγα, ρινοφάρυγγα και ορθοπρωκτικού, του σιέλου και των πτυέλων. Ο ιός μπορεί επίσης να βρεθεί σε άλλα σωματικά υγρά όπως το αίμα, τα ούρα και τα κόπρανα. Αυτό οφείλεται στην υψηλή έκφραση των υποδοχέων ACE2 στα κύτταρα των αιμοφόρων αγγείων, των νεφρών και του εντέρου (Salamanna et al., 2020). Επιπλέον, η έκφραση της διαμεμβρανικής πρωτεΐνης, της σερίνης 2 (TMPRSS2), ενός ενζύμου που διασπά την πρωτεΐνη S του SARS-CoV-2 και επιταχύνει σημαντικά την είσοδο του ιού, εκφράζεται στο αναπνευστικό σύστημα, στο γαστρεντερικό σύστημα, στους νεφρούς και στην ουροδόχο κύστη (Al -Kuraishy et al., 2021).

#### **7.12.1. Μέθοδοι ανίχνευσης που βασίζονται σε PCR: Real-time RT-qPCR, ddPCR, mPCR**

Η βασική ιδέα της κλασικής PCR είναι παρόμοια με τη φυσική διαδικασία αντιγραφής του DNA, συμπεριλαμβανομένης της αποδιάταξης, του υβριδισμού και της επιμήκυνσης (εικ. 25). Στη διαδικασία ενίσχυσης, το μονόκλωνο DNA χρησιμοποιείται ως εκμαγείο και χρησιμοποιούνται ως εκκινητές ολιγονουκλεοτίδια. Υπό τη δράση της DNA πολυμεράσης, συγκεκριμένα θραύσματα DNA ενισχύονται προς την κατεύθυνση από 5'- 3', επιτρέποντας στο γονίδιο-στόχο να αντιγραφεί σε μεγάλες ποσότητες (Chen Y. et al., 2018). Δεδομένου ότι ο SARS-CoV-2 είναι ένας ιός RNA, πριν από την διαδικασία πολλαπλασιασμού PCR, περιοχές RNA-στόχου μεταγράφονται ταυτόχρονα σε συμπληρωματικό DNA (cDNA) από την αντίστροφη μεταγραφάση και στη συνέχεια, αυτά τα cDNA χρησιμοποιούνται ως πρότυπα ενίσχυσης (Chen et al., 2021).

Η PCR πραγματικού χρόνου (Real-time RT-qPCR, Real-time Quantitative Reverse Transcription PCR) είναι μια τεχνική, η οποία μπορεί ταυτόχρονα να ενισχύσει το νουκλεϊκό οξύ και να ανιχνεύσει προϊόντα νουκλεϊκών οξέων. Το RNA του ιού μεταγράφεται αρχικά σε συμπληρωματικό DNA (cDNA) από την αντίστροφη μεταγραφάση και στη συνέχεια, πραγματοποιείται η αντίδραση qPCR, χρησιμοποιώντας cDNA ως εκμαγείο. Με αυτή τη μέθοδο, χρησιμοποιούνται συνήθως τρεις γονιδιακοί τόποι: το γονίδιο E, το γονίδιο RdRp στην περιοχή Orf1ab και το γονίδιο N (Corman et al., 2020). Η RT-qPCR, μπορεί γρήγορα να επιβεβαιώσει εάν το παθογόνο είναι SARS-

CoV-2 (Lu X. et al., 2020; Pfefferle et al., 2020), ενώ σε σύγκριση με τις κλασικές μεθόδους PCR, αυτή η καινοτόμα τεχνική παρέχει, όχι μόνο ποιοτικά, αλλά και ποσοτικά αποτελέσματα, τα οποία μπορούν να ποσοτικοποιηθούν ταυτόχρονα και με υψηλότερη ευαισθησία, ειδικότητα και ακρίβεια, τα επίπεδα γονιδιακής έκφρασης. Την ίδια στιγμή, η διαδικασία ανίχνευσης είναι εντελώς «κλειστή», κατά συνέπεια η πιθανότητα μόλυνσης του δείγματος ελαχιστοποιείται, ενώ, δεν απαιτείται επακόλουθη ανάλυση, μειώνοντας σημαντικά τον χρόνο ανίχνευσης (Ng et al., 2003; Roon et al., 2004).

Η ddPCR (Droplet Digital PCR), είναι μια νέα μέθοδος για τον απόλυτο ποσοτικό προσδιορισμό του DNA ή του RNA-στόχου. Πριν από την ενίσχυση, τα δείγματα υποβάλλονται σε προεπεξεργασία έτσι ώστε το σύστημα αντίδρασης που περιέχει μόρια νουκλεϊκού οξέος, να διαιρείται σε πολλά τμήματα τα οποία λειτουργούν ως μεμονωμένος μικροαντιδραστήρας PCR, ενώ μετά την ενίσχυση PCR, δημιουργούνται θετικά σήματα στον θάλαμο αντίδρασης, ο οποίος περιέχει ένα μόνο μητρικό μόριο. Ανιχνεύοντας κάθε θάλαμο αντίδρασης, ο αριθμός των θετικών σημάτων μπορεί να διαβαστεί με απολύτως ποσοτικό τρόπο καθώς, σύμφωνα με την αρχή της κατανομής Poisson, ο αρχικός αριθμός αντιγράφων ή η συγκέντρωση του μορίου-στόχου μπορεί να υπολογιστεί με τον αριθμό και την αναλογία των θετικών σταγονιδίων (Quan et al., 2018). Κατά συνέπεια, η ddPCR είναι μια μέθοδος απόλυτης ποσοτικοποίησης για το ιικό φορτίο, ενώ δεν απαιτεί αναφορά ή τυπική καμπύλη για ποσοτικοποίηση των επιπέδων έκφρασης γονιδίου και ιικού φορτίου. Σε σύγκριση με την RT-qPCR, η ddPCR είναι ιδιαίτερα ανεκτή στους αναστολείς της αντίδρασης PCR, επομένως είναι ικανή να αναλύει πιο πολύπλοκα δείγματα, καθώς και να ανιχνεύει οποιαδήποτε αλλαγή έκφρασης σε αυτά, μειώνοντας τα ψευδώς αρνητικά και επιτυγχάνοντας υψηλή ευαισθησία και ακρίβεια (Suo et al., 2020).

Η mPCR (Multiplex PCR) και ειδικότερα η multiplex-PCR διπλού φθορισμού, είναι μια νέα τεχνική που βασίζεται στην παραδοσιακή PCR. Σε αυτή την μέθοδο, δύο ή περισσότερα ζεύγη εκκινητών που έχουν σχεδιαστεί για την ενίσχυση διαφορετικών στόχων, περιλαμβάνονται στο ίδιο μείγμα αντίδρασης (Chamberlain et al., 1988) κατά συνέπεια, μπορούν από ένα κλινικό δείγμα να ενισχυθούν ταυτόχρονα, σε ένα μόνο σωληνάριο, περισσότερες από μία αλληλουχίες στόχου. Η επιτυχία μιας αντίδρασης mPCR εξαρτάται από το σχεδιασμό των χρησιμοποιούμενων εκκινητών. Προτιμάται οι εκκινητές να έχουν παρόμοιες θερμοκρασίες υβριδισμού, ενώ πρέπει να είναι μη

συμπληρωματικοί μεταξύ τους για να αποφευχθούν τα διμερή εκκινητών και οι μη ειδικές αντιδράσεις (McPherson, 2022). Η mPCR είναι πιο περίπλοκη στην ανάπτυξη και συχνά είναι λιγότερο ευαίσθητη από την παραδοσιακή PCR με χρήση ενός ζεύγους εκκινητών, επιτρέπει ωστόσο την ανίχνευση πολλαπλών στόχων από ένα μόνο δείγμα σε μία αντίδραση (Chen et al., 2021).

#### **7.12.2. Μέθοδοι ανίχνευσης που βασίζονται στον προσδιορισμό και την ανάλυση αλληλουχιών γενετικού υλικού: mNGS, NTS**

Η mNGS (Metagenomics next-generation sequencing), είναι μια μέθοδος ανίχνευσης παθογόνων η οποία εξάγει και προσδιορίζει, απευθείας από κλινικά δείγματα, αλληλουχίες υψηλής απόδοσης DNA ή RNA, οι οποίες στη συνέχεια υποβάλλονται σε βάσεις δεδομένων βιοπληροφορικής για σύγκριση και ανάλυση πληροφοριών (Wilson et al., 2014; Wilson et al., 2019). Η mNGS ήταν εκείνη η οποία συνέβαλε στην ανακάλυψη και ταυτοποίηση του SARS-CoV-2 (Chen L. et al., 2020) καθώς και στην μετέπειτα διερεύνηση των ποικίλων παραλλαγών του ιού. Επί του παρόντος, η mNGS καλύπτει ένα ευρύ φάσμα παθογόνων μικροοργανισμών και μπορεί να προσφέρει μια βάση για ακριβή διάγνωση νέων παθογόνων και μικτών λοιμώξεων. Ωστόσο, αυτή η μέθοδος έχει μειονεκτήματα τα οποία, μεταξύ άλλων, περιλαμβάνουν την πολύπλοκη λειτουργία, τον σχετικά μεγάλο χρόνο διεκπεραίωσης, την έλλειψη τυποποίησης και το υψηλό κόστος. Ως εκ τούτου, χρησιμοποιείται για τον SARS-CoV-2 συχνά σε συνδυασμό με RT-qPCR, η οποία έχει συμπληρωματικά πλεονεκτήματα (Chen et al., 2021).

Η NTS (Nanopore targeted sequencing), είναι μια εργαστηριακή τεχνική για τον προσδιορισμό της ακριβούς αλληλουχίας νουκλεοτιδίων ή βάσεων σε ένα μόριο DNA (Viehweger et al., 2019). Ο προσδιορισμός αλληλουχίας DNA νανοπόρου, περιλαμβάνει την ανάγνωση του κώδικα μεμονωμένων κλώνων DNA καθώς περνούν μέσα από εξαιρετικά μικροσκοπικούς πόρους (νανοπόρους), οι οποίοι είναι ενσωματωμένοι σε μια μεμβράνη. Καθώς τα νουκλεϊκά οξέα διέρχονται μέσω του νανοπόρου, παράγονται ηλεκτρικά σήματα τα οποία στη συνέχεια αποκωδικοποιούνται, παρέχοντας μια συγκεκριμένη αλληλουχία DNA ή RNA. Η μέθοδος αυτή είναι ικανή να ανιχνεύει ταυτόχρονα σε ένα δείγμα εντός 6-10 ωρών, τον SARS-CoV-2 καθώς και πρόσθετους αναπνευστικούς ιούς έχοντας ειδικότητα για τον SARS-CoV-2 που φτάνει το 100%. Παράλληλα επιτρέπει τον εντοπισμό μεταλλάξεων παρέχοντας υποστηρικτικά δεδομένα για μελλοντική λοιμογόνο δράση και επιδημιολογικές αναλύσεις του ιού.

Ωστόσο, ο χρόνος ολοκλήρωσης της NTS είναι μεγαλύτερος από αυτόν της RT-qPCR ενώ η λειτουργία της απαιτεί περισσότερη δεξιότητα από αυτή της RT-qPCR. Κατά συνέπεια, η NTS και η RT-qPCR είναι συμπληρωματικές πλατφόρμες, καθώς η RT-qPCR μπορεί να διαγνώσει γρήγορα ασθενείς με υψηλή περιεκτικότητα νουκλεϊκού οξέος, ενώ η NTS μπορεί περαιτέρω να διαγνώσει ασθενείς που δεν μπορούν να αξιολογηθούν με ακρίβεια μέσω RT-qPCR (Wang M. et al., 2020; Wetterstrand, 2022).

### **7.12.3. Ανοσολογικές μέθοδοι: GICA, ELISA, FICA, CLIA**

Η GICA (Colloidal gold immunochromatography assay), είναι μια τεχνική ανοσοσήμανσης που χρησιμοποιεί κολλοειδή χρυσό ως δείκτη ιχνηθέτη για αντιγόνα και αντισώματα (εικ. 25). Χρησιμοποιείται ευρέως για τον εντοπισμό του SARS-CoV-2, καθώς είναι μια γρήγορη και απλή μέθοδος, για την ταυτόχρονη ανίχνευση αντισωμάτων IgG και IgM αλλά και αντιγόνων του ιού (Li Z. et al., 2020; Alhamid et al., 2022). Η λειτουργία αυτής της τεχνικής είναι απλή και δεν απαιτείται ειδικός εξοπλισμός ή ειδική εκπαίδευση, τα αποτελέσματα είναι ορατά δια γυμνού οφθαλμού και διαθέσιμα σε λιγότερο από 15 λεπτά, ενώ εντοπίζει ασθενείς που βρίσκονται σε διαφορετικά στάδια μόλυνσης (Li Z. et al., 2020). Ωστόσο, το γεγονός ότι τα σωματίδια κολλοειδούς χρυσού δεν έχουν ιδιότητες φωταύγειας, περιορίζει τη χρήση τους για ανίχνευση υψηλής ευαισθησίας (Chen et al., 2021).

Η FICA (Fluorescence immunochromatographic assay), όπως και η GICA, βασίζεται σε ειδική αναγνώριση αντισώματος/αντιγόνου. Η ανοσοδοκιμασία αυτή, αφενός μεν επιτρέπει την ταχεία ανίχνευση, όπως οι κολλοειδείς λωρίδες χρυσού που μπορούν να χρησιμοποιηθούν επί τόπου, αφετέρου δε, προσθέτει επίσης την υψηλή ευαισθησία της τεχνολογίας ανίχνευσης φθορισμού, για τη βελτίωση της απόδοσης ανίχνευσης της ανοσοχρωματογραφίας (Pyo & Yoo, 2012). Κατά συνέπεια η μέθοδος αυτή παρέχει έναν γρήγορο, απλό και ακριβή προσδιορισμό για τη διάγνωση της COVID-19 (Chen et al., 2021).

Η ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) είναι μια απλή, εύκολη, γρήγορη και ευαίσθητη μέθοδος, η οποία βασίζεται σε ειδική αλληλεπίδραση αντιγόνου/αντισώματος και ενζυμική ενίσχυση του σήματος αντίδρασης (εικ. 25). Το ένζυμο που είναι συζευγμένο με το αντίσωμα ή το αντιγόνο διατηρεί τη δραστηριότητά του, ενώ ταυτόχρονα, διατηρείται και η ανοσολογική αντιδραστικότητα, είτε του αντισώματος, είτε του αντιγόνου (Alhamid et al., 2022). Με τον τρόπο αυτό, το σημασμένο με ένζυμο αντιγόνο ή αντίσωμα μπορεί να συνδυαστεί με το αντίστοιχο

συγγενές του αντιγόνου ή αντίσωμα. Την ίδια στιγμή, με την προσθήκη ενός άχρωμου υποστρώματος ενζύμου, καταλύονται χημικές αντιδράσεις όπως υδρόλυση, οξείδωση ή αναγωγή, σχηματίζοντας έγχρωμα προϊόντα, τα οποία μπορούν να εκτιμηθούν είτε ποιοτικά, δια μέσου γυμνού οφθαλμού, είτε ποσοτικά, με φασματόμετρο (Rosenquist et al., 1998). Αυτό το έγχρωμο σήμα είναι ανάλογο του επιπέδου των αντισωμάτων ή των αντιγόνων στο δείγμα (Fujinami et al., 2004). Η μέθοδος χρησιμοποιείται ευρέως για ανίχνευση αντισωμάτων τόσο για διαγνωστικούς λόγους, όσο και για τον προσδιορισμό της πιθανής ανοσίας έναντι του SARS-CoV-2. Δοκιμές σε εμπορικά τεστ ELISA που ανιχνεύουν τα IgM και IgG έναντι της πρωτεΐνης S, έδειξαν μέτρια ευαισθησία και ειδικότητα (80–90%) για τη διάγνωση οξείας λοίμωξης SARS-CoV-2 (Kundu et al., 2022).

Η CLIA (Chemiluminescence immunoassay) είναι μια μέθοδος κατά την οποία απελευθερώνεται φωτεινή ενέργεια από μια ανοσοχημική αντίδραση. Ένα φωταυγές μόριο, είναι ένας δείκτης που εκπέμπει ένα σήμα ορατού φωτός, λόγω της μετάβασης των ηλεκτρονίων στη θεμελιώδη κατάσταση μετά την αντίδραση. Υπάρχουν μέθοδοι άμεσης ανίχνευσης που χρησιμοποιούν φωτοφόρα μόρια ως δείκτη ή έμμεσες μέθοδοι που χρησιμοποιούν ενζυμικούς δείκτες με τα ανάλογα υποστρώματά τους. Η ποσότητα φωτός που παράγουν αυτοί οι δείκτες, είναι ανάλογη με την ποσότητα των αντισωμάτων σε ένα δείγμα (Cinquanta et al., 2017). Η τεχνική αυτή ανιχνεύει IgG και IgM anti-SARS-CoV-2 αντισώματα σε ορούς ασθενών. Πιο συγκεκριμένα, τα δείγματα επωάζονται σε πλάκες που περιέχουν μαγνητικά σφαιρίδια συζευγμένα με αντιγόνα του ιού για να σχηματίσουν σύμπλοκα αντιγόνου-αντισώματος. Κατόπιν, προστίθενται αντι-ανθρώπινα αντισώματα σημασμένα με ένζυμο και οι πλάκες επωάζονται για να επιτραπεί η δέσμευση, ενώ στη συνέχεια, τα μη δεσμευμένα αντισώματα απομακρύνονται με διαδοχικές πλύσεις. Τέλος, προστίθεται ένα υπόστρωμα φωταύγειας για την παραγωγή φωτός που υποδεικνύει τον αριθμό των αντισωμάτων στα δείγματα μέσω φωτομέτρου (Lin D. et al., 2020).

#### **7.12.4. Άλλες μέθοδοι ανίχνευσης: LAMP, CRISPR, MS, Biosensors**

Η LAMP (Loop-mediated isothermal amplification), χρησιμοποιεί μια πολυμεράση DNA καθώς και ένα σύνολο ειδικά σχεδιασμένων εκκινήτων, οι οποίοι αναγνωρίζουν συνολικά έξι διακριτές αλληλουχίες στο DNA-στόχο (εικ. 25). Η κυκλική αντίδραση προχωρά με τη συσσώρευση 10<sup>9</sup> αντιγράφων του στόχου σε λιγότερο από μία ώρα (Notomi et al., 2000). Σε σύγκριση με την RT-PCR, η μέθοδος αυτή μπορεί να

ανιχνεύσει υπό ισοθερμικές συνθήκες, το RNA του SARS-CoV-2 σε χαμηλότερα επίπεδα, με αποτέλεσμα να επιδεικνύει υψηλή ειδικότητα, ευαισθησία, αποτελεσματικότητα και ταχύτητα, χωρίς να απαιτεί ακριβά όργανα (Kashir et al., 2020).

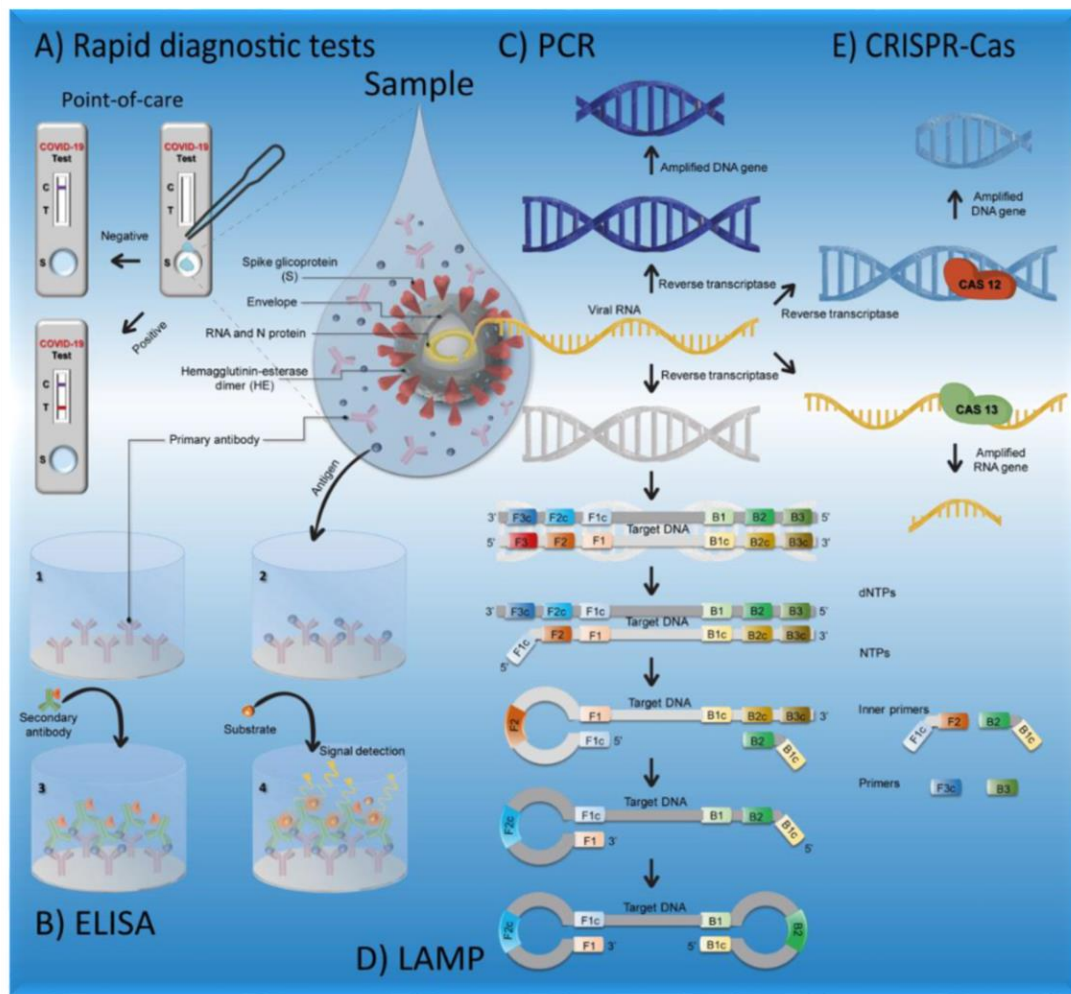
Η μέθοδος επεξεργασίας γονιδιώματος μέσω CRISPR (Clustered regularly interspaced short palindromic repeats), είναι πιθανόν η ταχύτερη όσον αφορά τον προσδιορισμό του SARS-CoV-2 (Service, 2020) (εικ. 25). Πρόσφατα, έγινε προσαρμογή της μεθόδου με σκοπό την ανίχνευση του ιού μέσω ανάλυσης πλευρικής ροής με βάση το CRISPR-Cas12. Σε αυτή τη περίπτωση, χρησιμοποιείται αντίστροφη μεταγραφάση σε συνδυασμό με ανάλυση LAMP ακολουθούμενη από ανίχνευση Cas12 προκαθορισμένων αλληλουχιών κορωνοϊού και επιβεβαίωση ανίχνευσης του ιού. Η προαναφερθείσα ανάλυση, έχει όριο ανίχνευσης 10 αντιγράφων/μL εισαγόμενου RNA και χρόνο ανίχνευσης 30 λεπτών, κατά συνέπεια, μπορεί να ανταγωνιστεί επάξια την τυπική RT-qPCR. Οι διαγνωστικές δοκιμασίες που βασίζονται στο CRISPR-Cas μπορούν επίσης να ανιχνεύσουν το γονίδιο του ιού στα αρχικά στάδια, κατά την περίοδο επώασης, η τεχνική αυτή ωστόσο, είναι περισσότερο ποιοτική παρά ποσοτική (Van Dongen et al., 2020; Safari et al., 2021).

Η MS (Mass spectrometry), είναι μια μέθοδος ανίχνευσης, η οποία βασίζεται στην κίνηση των ιόντων που ενεργοποιούνται από ηλεκτρικά και μαγνητικά πεδία και στην ανάλυση αυτών σύμφωνα με την αναλογία μάζας προς το φορτίο τους, προσφέροντας υψηλότερη απόδοση κατά την ανίχνευση ιικού αντιγόνου. Συνεπώς, θα μπορούσε να συμπληρώσει την RT-qPCR ως διαγνωστικό εργαλείο, ανιχνεύοντας συγκεκριμένες γλυκοπρωτεΐνες ή νουκλεοπρωτεΐνες του SARS-CoV-2 (Cazares et al., 2020).

Οι biosensors είναι οικονομικές, ευαίσθητες, γρήγορες, μικροσκοπικές, φορητές πλατφόρμες, οι οποίες τα τελευταία χρόνια αναπτύχθηκαν ραγδαία, προσφέροντας περισσότερες επιλογές για την ανίχνευση του SARS-CoV-2 (Samson et al., 2020). Αυτές οι συσκευές αποτελούνται από τρία κύρια τμήματα: της μεταγωγής, του βιοϋποδοχέα και του συστήματος ανίχνευσης. Ο μεταγωγέας είναι μια συσκευή, η επιφάνεια της οποίας είναι κατασκευασμένη από αγωγίμο υλικό και ποσοτικοποιεί τις βιοχημικές αντιδράσεις σε ένα μετρήσιμο σήμα εξόδου. Τα στοιχεία βιοϋποδοχέα είναι μόρια όπως αντισώματα, ένζυμα ή νουκλεϊκά οξέα, τα οποία είναι ακινητοποιημένα στην επιφάνεια του μεταγωγέα όπου οι αναλύτες ρέουν και συνδέονται με αυτά τα στοιχεία προκειμένου να προκαλέσουν μια μετρήσιμη αντίδραση. Η αλληλεπίδραση



στοιχείου αναλύτη-βιοϋποδοχέα μεταβάλλει το ηλεκτρικό σήμα το οποίο μετράται από ένα σύστημα ανίχνευσης (Alhamid et al., 2022).



Εικόνα 25: Σχηματική αποτύπωση διαφόρων μεθόδων ανίχνευσης SARS-CoV-2. Πηγή: Lino et al., 2022.

## 8. Ανοσολογική απάντηση και ανοσία στη λοίμωξη από SARS-CoV-2

### 8.1. Αντιϊκή Ανοσία

Η ανοσολογική απάντηση διακρίνεται σε φυσική (έμφυτη, εγγενής) και επίκτητη. Οι έμφυτες ανοσολογικές αποκρίσεις, είναι η πρώτη γραμμή άμυνας κατά των ιών και ενεργοποιούνται ταχέως όταν οι κυτταρικοί υποδοχείς αναγνώρισης προτύπων, όπως οι υποδοχείς τύπου toll, αναγνωρίζουν μοριακά μοτίβα που σχετίζονται με παθογόνους παράγοντες. Η έμφυτη αντιϊκή ανοσία περιλαμβάνει έκκριση ιντερφερονών (IFN) τύπου I, αντιϊκών κυτοκινών, καθώς και ορισμένες κυτταρικές αποκρίσεις,



συμπεριλαμβανομένων των ουδετερόφιλων, μονοκυττάρων και μακροφάγων, δενδριτικών κυττάρων και κυττάρων φυσικών φονέων (Gasteiger et al., 2017). Οι επίκτητες ανοσολογικές αποκρίσεις, η δεύτερη γραμμή άμυνας κατά των ιών, περιλαμβάνουν ειδική αναγνώριση ικών επιτόπων. Η επίκτητη ανοσία περιλαμβάνει δύο τύπους ειδικής ανοσιακής απάντησης: την χυμική ανοσία και την κυτταρική ανοσία. Η χυμική ανοσία στο SARS-CoV-2 περιλαμβάνει έκκριση αντισωμάτων που δεσμεύουν κυρίως την πρωτεΐνη ακίδας και είτε εξουδετερώνουν τον ιό, είτε τον εξαλείφουν μέσω άλλων μηχανισμών (Bartsch et al., 2022). Ειδικότερα, τα αντισώματα διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην προστασία από ιογενείς λοιμώξεις μέσω διαφόρων μηχανισμών, που περιλαμβάνουν αμφότερα τα τμήματα Fab και Fc. Οι μηχανισμοί που διαμεσολαβούνται από Fab περιλαμβάνουν την εξουδετέρωση, κατά την οποία η είσοδος του ιού στο κύτταρο-ξενιστή εμποδίζεται. Οι μηχανισμοί μέσω Fc περιλαμβάνουν την ενεργοποίηση του συμπληρώματος, την εξαρτώμενη από αντισώματα κυτταρική κυτταροτοξικότητα (ADCC) και την εξαρτώμενη από αντισώματα φαγοκυττάρωση (ADP). Ωστόσο, οι λειτουργίες που βασίζονται σε αντισώματα, μπορούν επίσης να επιτείνουν τη φλεγμονή και να προκαλέσουν μεγαλύτερη βλάβη, όπως στην εξαρτώμενη από αντισώματα ενίσχυση (ADE) που παρατηρείται στη νόσο του δάγκειου πυρετού (Guy et al., 2004). Η κυτταρική ανοσία, περιλαμβάνει ενεργοποίηση μετά από αναγνώριση ειδικών για τον ιό Β και Τ λεμφοκυττάρων, μέρος των οποίων παρέχουν μακροπρόθεσμη ανοσολογική μνήμη, ενώ πολλαπλασιάζονται ταχέως κατά την επανέκθεση στο αντιγόνο. Τα Β-κύτταρα παράγουν αντισώματα, τα CD8+ Τ-κύτταρα εξαλείφουν άμεσα τα μολυσμένα από ιούς κύτταρα και τα CD4+ -κύτταρα παρέχουν βοήθεια για την υποστήριξη των ανοσολογικών αποκρίσεων. Για οξείες ιογενείς λοιμώξεις, συμπεριλαμβανομένου του SARS-CoV-2, είναι πιθανό τα εξουδετερωτικά αντισώματα να είναι κρίσιμα για τον αποκλεισμό απόκτησης λοίμωξης, ενώ ένας συνδυασμός χυμικών και κυτταρικών ανοσολογικών αποκρίσεων, ελέγχει πιθανότατα τον ιικό πολλαπλασιασμό μετά τη μόλυνση και αποτρέπει την εξέλιξη σε σοβαρή νόσο, νοσηλεία, και θάνατο (Rydzynski Moderbacher et al., 2020; Bange et al., 2021; Sette & Crotty, 2021). Για μια εξαιρετικά μεταδοτική παραλλαγή SARS-CoV-2 που διαφεύγει σε μεγάλο βαθμό από τα εξουδετερωτικά αντισώματα, η κυτταρική ανοσία μπορεί να είναι ιδιαίτερα σημαντική για τη μακροπρόθεσμη προστασία έναντι σοβαρής νόσου (Barouch, 2022).

## 9. Ανοσολογική απόκριση στη λοίμωξη SARS-CoV-2

### 9.1. Έμφυτη Ανοσολογική Απόκριση στη Λοίμωξη SARS-CoV-2

Η έμφυτη ανοσολογική απόκριση είναι η πρώτη γραμμή για την ανοσολογική καταπολέμηση του SARS-CoV-2 (εικ. 26). Μετά την ιογενή μόλυνση, τα μοριακά μοτίβα που σχετίζονται με το παθογόνο (Pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) και τα μοριακά μοτίβα που σχετίζονται με τη βλάβη (Damage-associated molecular patterns, DAMPs), αναγνωρίζονται από υποδοχείς τύπου Toll (Toll-like receptors, TLRs) ή από υποδοχείς αναγνώρισης προτύπων (pattern recognition receptors, PRRs). Στη συνέχεια, ενεργοποιούνται ενδοκυτταρικοί καταρράκτες σηματοδότησης, όπως οι ρυθμιστικοί παράγοντες ιντερφερόνης (IRFs) και ο πυρηνικός παράγοντας-κΒ (NF-κΒ). Αυτό το γεγονός έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτοκινών και IFN-I (Mogensen, 2009; Tartey & Takeuchi, 2017). Τυπικά, η IFN προάγει την απόπτωση για να προστατεύσει τα κύτταρα του ξενιστή από την εξάπλωση του ιού και να παρέχει μια αντιική ανοσοαπόκριση η οποία περιορίζει την αντιγραφή του ιού στα μολυσμένα κύτταρα. Ωστόσο, ο SARS-CoV-2, εκφράζοντας αρκετούς παράγοντες, όπως το ανοιχτό πλαίσιο ανάγνωσης 6 (ORF6), καταστέλλει την παραγωγή της IFN-I (Lei et al., 2020; Xia et al., 2020). Η αρχική καθυστέρηση της απόκρισης IFN-I μαζί με την εξάπλωση του ιού στα κύτταρα-ξενιστές, οδηγεί σε εξέλιξη της νόσου και επιδεινώνει τη φλεγμονή. Επομένως, οι αποκρίσεις IFN μπορεί να διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο στην ετερογενή σοβαρότητα της νόσου σε ασθενείς με COVID-19 (Tian et al., 2020; Schultze & Aschenbrenner, 2021).

Το σύστημα συμπληρώματος είναι ένα σύστημα ταχείας ανοσολογικής επιτήρησης που γεφυρώνει τις έμφυτες και προσαρμοστικές (επίκτητες) ανοσολογικές αποκρίσεις, αποτελώντας ένα ακόμα συστατικό της έμφυτης ανοσοαπόκρισης κατά του SARS-CoV-2 (Ricklin et al., 2010). Από την άλλη πλευρά, έχει αποδειχθεί ότι σε ασθενείς με COVID-19, μια υπερβολική ενεργοποίηση του συστήματος συμπληρώματος σχετίζεται με ενδαγγειακή πήξη, δυσλειτουργία των ενδοθηλιακών κυττάρων, καθώς και φλεγμονή οξεία ή χρόνια (Jin Y. et al., 2020). Η αλληλεπίδραση της έμφυτης ανοσολογικής αντίδρασης και του συστήματος πήξης (μια διαδικασία που ονομάζεται ανοσοθρόμβωση), είναι απορυθμισμένη σε ασθενείς με σοβαρή COVID-19, προκαλώντας εντοπισμένη ή/και συστηματική διαταραχή της πήξης. Η αναγνώριση των PAMPs και των DAMPs από τα μονοκύτταρα αυξάνει την έκφραση του ιστικού παράγοντα (Tumor Factor, TF), οδηγώντας στην ενεργοποίηση της εξωγενούς οδού της

πήξης. Επιπλέον, η παραγωγή εξωκυττάρων παγίδων ουδετερόφιλων (Neutrophil extracellular traps, NETs), ενός δικτύου που αποτελείται από ακετυλιωμένες ιστόνες και DNA ουδετεροφίλων, είναι απαραίτητη για την παγίδευση και τη θανάτωση του εισβάλλοντος SARS-CoV-2. Ωστόσο, μπορεί να προάγει μια σοβαρή προπηκτική απόκριση (Loo et al., 2021). Υψηλή παραγωγή NETs έχει παρατηρηθεί συχνά σε ασθενείς με COVID-19, γεγονός το οποίο μπορεί να σχετίζεται με τη σοβαρότητα της νόσου (Ito, 2014; Fard et al., 2021).

### 9.1.1. «Καταιγίδα κυτοκινών» στην COVID-19

Ένα χαρακτηριστικό γνώρισμα της σοβαρής λοίμωξης από COVID-19 είναι η ανοσολογική απόκριση της έμφυτης ανοσίας, σε συνδυασμό με την καταιγίδα κυτοκινών, την υπερφλεγμονώδη αντίδραση, την πολυοργανική ανεπάρκεια και το σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας (Blanco-Melo et al., 2020). Η αυξημένη παραγωγή προφλεγμονωδών δεικτών σε σοβαρή COVID-19 αποτελεί τη βάση για τη δημιουργία «καταιγίδας κυτοκινών», καθώς και για την αύξηση της θνησιμότητας (Meftahi et al., 2020). Σημαντικός αριθμός μελετών αναφέρουν ότι η σοβαρότητα των συμπτωμάτων της COVID-19, συσχετίζεται με αυξημένα επίπεδα στο αίμα προφλεγμονωδών κυτοκινών και χημειοκινών, π.χ. IL-1b, IL-2, sIL-2RA, IL-6, IL-7, IL-17, IL -18, TNF-α, χημειοτακτικής πρωτεΐνης μονοκυττάρων 1 και 3 (MCP-1 και 3), κυτταροπλασματικών καρβοξυπεπτιδασών 2 και 3 (CCL2 και 3), παράγοντα διέγερσης αποικιών κοκκιοκυττάρων (G-CSF), πρωτεΐνης που ενεργοποιείται από IFN-γ 10 (IP10), παράγοντα διέγερσης αποικιών μακροφάγων (M-CSF) και μικροπρωτεΐνης 1a (MIP-1a) (Chi et al, 2019; Dęborska-Materkowska & Kamińska, 2021; Melo et al., 2021). Τα μολυσμένα πνευμονικά επιθηλιακά κύτταρα απελευθερώνουν IL-1b, IL-6 και IFN-I/III, που συμβάλλουν στην ενεργοποίηση των μακροφάγων και στη στρατολόγηση μονοκυττάρων, κοκκιοκυττάρων και λεμφοκυττάρων από το αίμα. Η παρατεταμένη απελευθέρωση IL-6 και TNF-α επαγόμενη από μονοκύτταρα προκαλεί καταρράκτες υπερφλεγμονής και σύνδρομο απελευθέρωσης κυτοκινών. Η αποκλίνουσα ανοσοαπόκριση οδηγεί σε μια δευτερογενή αντίδραση που μοιάζει με αιμοφαγοκυτταρική λεμφοϊστικοκυττάρωση ακολουθούμενη από μικροθρόμβωση, κυτταρικό θάνατο των εξωκυττάρων παγιδευμένων ουδετεροφίλων και στρατολόγηση τελεστών ανοσοκυττάρων (Vabret et al., 2020).

Κλινικά, η «καταιγίδα κυτοκινών» χαρακτηρίζεται από υψηλό πυρετό, κόπωση, κεφαλαλγία, δύσπνοια, αναπνευστική δυσχέρεια, μυοκαρδιοπάθεια, ηπατική βλάβη,

οξεία νεφρική βλάβη, σύνδρομο τριχοειδούς διαρροής, καθώς και εγκεφαλοπάθεια και θρομβωτικές επιπλοκές που εξελίσσονται σε διάχυτη ενδαγγειακή πήξη (Hamming et al., 2004). Οι συνήθεις εργαστηριακοί δείκτες αποκαλύπτουν λεμφοπενία (ιδιαίτερα εξασθένηση των Τ κυττάρων), υψηλή φερριτίνη ορού, D-διμερή, C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP) και κυτοκίνες, συμπεριλαμβανομένων των IL-1b, IL-6 και TNF-α (Gustine & Jones, 2021; Yang L. et al., 2021). Συνοπτικά, μια ανεπαρκής ισορροπία μεταξύ της παραγωγής προφλεγμονωδών κι αντιφλεγμονωδών κυτοκινών οδηγεί στη δυσλειτουργία του πολύπλοκου μηχανισμού που ευθύνεται για την ελάτωση της ανοσολογικής αντίδρασης. Η «καταιγίδα κυτοκινών» ακολουθούμενη από εξασθένηση των Τ κυττάρων οδηγεί σε μια υπερβολική και επίμονη φλεγμονώδη κατάσταση, η οποία μπορεί να εξελιχθεί σε πολυοργανική ανεπάρκεια και θάνατο (εικ. 26).

## 9.2. Επίκτητη Ανοσολογική Απόκριση στη Λοίμωξη SARS-CoV-2

Η επίκτητη ανοσοαπόκριση είναι η δεύτερη γραμμή άμυνας για την ανοσολογική κάθαρση του SARS-CoV-2 μέσω της καταστροφής μολυσμένων κυττάρων-ξενιστών και της παραγωγής ειδικών για τον ιό αντισωμάτων από ενεργοποιημένα κυτταροτοξικά Τ-κύτταρα και Β-κύτταρα, αντίστοιχα (εικ. 26). Η λεμφοπενία του αίματος είναι ένα κρίσιμο χαρακτηριστικό σε ασθενείς με COVID-19, στους οποίους τα Β-κύτταρα, τα CD4+ Τ-κύτταρα και τα CD8+ Τ-κύτταρα έχουν φθίνουσες ποσότητες. Πιο συγκεκριμένα, σε λεμφοπενία η οποία σχετίζεται με COVID-19, εμπλέκονται δυνητικά αρκετές βασικές διεργασίες όπως, πυρόπτωση κι απόπτωση λεμφοκυττάρων σχετιζόμενες με κυτοκίνες, βλάβη λεμφικών οργάνων, δέσμευση λεμφοκυττάρων στους πνεύμονες ή άλλα όργανα, μειωμένη αιμοποίηση στο μυελό των οστών, άμεση μόλυνση των Τ-κυττάρων καθώς και αιμοφαγοκυττάρωση σχετιζόμενη με MAS (Macrophage activation syndrome) (García, 2020; Vabret et al., 2020; Sette et al., 2021). Σχεδόν όλοι οι ασθενείς με ήπια και μέτρια βαρύτητα νόσου, επιδεικνύουν μια ισχυρή προσαρμοστική ανοσολογική απόκριση από Β και Τ-κύτταρα, η οποία είναι σταθερή για αρκετούς μήνες μετά την πρωτογενή μόλυνση (Zuo et al., 2021). Ο αριθμός των Τ-κυττάρων CD4+, των Τ-κυττάρων CD8+ και των Τ-κυττάρων μνήμης είναι χαμηλότερος σε ασθενείς με σοβαρή νόσο SARS-CoV-2, υποδηλώνοντας ανεπαρκή αντι-ική απόκριση έναντι της λοίμωξης (Le Bert et al., 2020). Την ίδια στιγμή, σε ασυμπτωματικούς ασθενείς σε σύγκριση με συμπτωματικούς, έχουν παρατηρηθεί εκτός από μειωμένα επίπεδα δραστηριότητας εξουδετερωτικών αντισωμάτων και χαμηλότερα επίπεδα IgG (Long et al., 2020). Συνολικά, οι ισχυρές επίκτητες ανοσολογικές

αποκρίσεις σχετίζονται με ηπιότερη και μέτρια βαρύτητα της νόσου κι είναι απαραίτητες για τον βέλτιστο έλεγχο της ιογενούς λοίμωξης (Brodin, 2023).

### 9.2.1. Χυμική ανοσία κατά του SARS-CoV-2

Μετά την πρωτογενή μόλυνση, η χυμική ανοσολογική αντίδραση ενεργοποιείται μέσω διέγερσης από τα βοηθητικά κύτταρα CD4+ T-κύτταρα ή μέσω της άμεσης αλληλεπίδρασης με τον SARS-CoV-2 (εικ. 26). Τα αντισώματα που εκκρίνονται από τα B-κύτταρα, μπορούν να συμβάλουν στην κάθαρση των μολυσμένων κυττάρων-ξενιστών μέσω της δέσμευσης σε ιικά αντιγόνα και κατευθύνοντας τα φυσικά κύτταρα φονείς (NK) να τα θανατώσουν, μέσω της ADCC (Klasse, 2014). Μετά την κάθαρση του ιού σχηματίζονται B-κύτταρα μνήμης, τα οποία αποτελούν ουσιαστικό συστατικό της μακροχρόνιας ανοσίας. Αν και τα αντισώματα είναι ζωτικής σημασίας για την κάθαρση των ικών παθογόνων, ορισμένα εξ των τελευταίων μπορεί να οδηγήσουν σε μη φυσιολογική ενεργοποίηση των B κυττάρων και στην εξέλιξη της λοίμωξης (Arvin et al., 2021). Οι αναλογίες των ολικών αντισωμάτων IgA, IgM και IgG και των ολικών υποτύπων IgG δεν τροποποιούνται μετά τη μόλυνση από SARS-CoV-2 (Smith et al., 2021).

Ωστόσο, η παραγωγή αντισωμάτων κατά του SARS-CoV-2 ποικίλλει ανάλογα με τη σοβαρότητα της νόσου και εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά του ασθενούς, όπως το φύλο και την ηλικία. Πράγματι, πολλές μελέτες έχουν αναφέρει ότι οι ειδικοί τίτλοι αντισωμάτων (ακόμη και για αντισώματα που στρέφονται εναντίον μη δομικών πρωτεϊνών και βοηθητικών πρωτεϊνών) είναι υψηλότεροι σε ασθενείς με μέτρια/βαριά νόσο, από ότι σε ασθενείς με ασυμπτωματική/ήπια νόσο κατά τη διάρκεια της λοίμωξης (Piccoli et al., 2020; Pisanic et al., 2020; Al-Mughales et al., 2021, Den Hartog et al., 2021; Legros et al., 2021; Sasson et al., 2021; Tang et al., 2021; Wu et al., 2021; Ye et al., 2021; Zervou et al., 2021; Havervall et al., 2022). Τα επίπεδα αντισωμάτων είναι επίσης υψηλότερα στους άνδρες σε σύγκριση με τις γυναίκες (Konik et al., 2021; Ye et al., 2021; Koranjia et al., 2022), μια παρατήρηση που μπορεί να εξηγηθεί από τα υψηλότερα επίπεδα έκφρασης ACE2 στους άνδρες (Patel et al., 2013), καθιστώντας τους πιο επιρρεπείς στη μόλυνση από SARS-CoV-2, σε σχέση με τις γυναίκες. Παρόμοιες διαφορές μεταξύ των φύλων έχουν αναφερθεί και για άλλους ιούς, συμπεριλαμβανομένων των MERS, SARS-CoV, ιού Epstein Barr, HBV, HCV και ιού του Δυτικού Νείλου (Jacobsen & Klein, 2021).

Η χυμική ανοσολογική απόκριση στον SARS-CoV-2 μπορεί επίσης να επηρεαστεί από την ηλικία του ασθενούς, καθώς οι ηλικιωμένοι ασθενείς με σοβαρή νόσο παρουσιάζουν περισσότερα αντισώματα IgG, IgM και IgA κατά της ακίδας, σε σχέση με νεότερους ασθενείς (Sasson et al., 2021; Weisberg et al., 2021), γεγονός το οποίο μπορεί επίσης να οφείλεται σε συγχυτικούς παράγοντες, όπως οι συννοσηρότητες (Singh A.K. et al., 2020). Επιπλέον, η γήρανση του ανοσοποιητικού (immunosenescence) (Shaw et al., 2010) και η φλεγμονή που συνδέεται με αυτή (inflammageing) (Franceschi et al., 2018) μπορεί επίσης να συμβάλλουν στην πιο σοβαρή νόσηση που παρατηρείται σε άτομα μεγαλύτερης ηλικίας. Όσον αφορά τις ορολογικές ανοσολογικές αποκρίσεις των παιδιών στον ιό SARS-CoV-2, αυτές περιορίζονται στα αντισώματα IgG κατά της ακίδας, ενώ οι ενήλικες παράγουν επίσης αντισώματα αντι-N IgG (Weisberg et al., 2021). Αυτή η παρατήρηση είναι σύμφωνη με την ηπιότερη πορεία μόλυνσης σε νεότερα άτομα, με αποτέλεσμα την απελευθέρωση μικρότερων ποσοτήτων πρωτεΐνης N από τα μολυσμένα με τον ιό κύτταρα. Στην πλειονότητα των φυσικά μολυσμένων ατόμων που δεν έχουν εμβολιαστεί, τα αντισώματα αντι-S και αντι-N είναι ανιχνεύσιμα για αρκετούς μήνες μετά τη μόλυνση, με τα αντισώματα αντι-N να έχουν μικρότερο χρόνο ημιζωής και μικρότερη παραμονή από τα αντισώματα αντι-S, χρησιμοποιώντας δοκιμασίες υψηλής ευαισθησίας και ειδικότητας (Dhakal et al., 2022). Ωστόσο, μετά από ήπια COVID-19, τα παιδιά και οι ενήλικες έχουν παρόμοια επίπεδα αντισωμάτων IgG κατά της RBD, με παρόμοια ικανότητα αναστολής των αλληλεπιδράσεων RBD-ACE2 (Koranja et al., 2022).

Τα αντισώματα IgG, IgA και IgM του ορού, στρέφονται κυρίως κατά της ακίδας (S1, S2 και RBD) και των πρωτεϊνών νουκλεοκαψιδίου (Gaebler et al., 2021; Imai et al., 2021; Legros et al., 2021; Sandberg et al., 2021; Sasson et al., 2021; Shi et al., 2021; Sterlin et al., 2021; Wang Z. et al., 2021a; Weisberg et al., 2021; Wu et al., 2021; Havervall et al., 2022; Kurano et al., 2022), ενώ ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι, τόσο οι συμπτωματικοί, όσο και οι ασυμπτωματικοί ασθενείς παράγουν αντισώματα που στρέφονται κυρίως κατά της S2 περιοχής (Ravichandran et al., 2021). Το πεπτίδιο σύντηξης (FP) είναι η περιοχή που στοχεύεται συχνότερα από συγκεκριμένα IgM, IgG και IgA και στις δύο ομάδες ασθενών, αλλά τα αντισώματα έναντι αυτής της περιοχής υποεκπροσωπούνται στα ρεπερτόρια των ειδικών επιτόπων IgG και IgA σε συμπτωματικούς ασθενείς, σε σύγκριση με τους ασυμπτωματικούς (Ravichandran et al., 2021). Αντίθετα, τα αντισώματα IgA κατά του SARS-CoV-2 στον ορό των συμπτωματικών ασθενών, αναγνωρίζουν καλύτερα την N-τερματική περιοχή (NTD) και

την RBD στην S1, από εκείνα των ασυμπτωματικών ασθενών. Αυτές οι διαφορές στο ρεπερτόριο αντισωμάτων, μπορούν να ρυθμίσουν την αποτελεσματικότητα της ανοσολογικής απόκρισης και επομένως, την έκβαση της νόσου. Επιπλέον, η συγγένεια των αντισωμάτων κατά του SARS-CoV-2 που ανιχνεύτηκαν στον ορό και τις ρινικές εκπλύσεις, είναι σημαντικά υψηλότερη σε ασυμπτωματικούς ενήλικες, από ότι σε συμπτωματικούς ασθενείς, υποδηλώνοντας, ότι η ανταπόκριση αντισωμάτων στους ασυμπτωματικούς ασθενείς είναι πιο αποτελεσματική στον έλεγχο της λοίμωξης, από ότι στους συμπτωματικούς ασθενείς (Ravichandran et al., 2021). Ορισμένες μελέτες έχουν αναφέρει υψηλότερα επίπεδα ωρίμανσης της IgG συγγένειας (avidity) σε ασθενείς με σοβαρή νόσο, υποδεικνύοντας την παρουσία μεγαλύτερου αριθμού Β κυττάρων μνήμης ή/και μακρόβιων πλασματοκυττάρων, τα οποία θα μπορούσαν να επαναδιεγερθούν άμεσα για να αποφευχθεί η επαναμόλυνση (Hartog et al., 2021; Sasson et al., 2021). Ωστόσο, οι ασθενείς με προηγούμενη σοβαρή λοίμωξη και εκείνοι άνω των 65 ετών, είναι πιο επιρρεπείς σε επαναμόλυνση (Hansen et al., 2021; Slezak et al., 2021), υποδηλώνοντας ότι δεν μπορεί να βασιστεί κανείς στη φυσική ανοσία για προστασία.

Σε αντίθεση με άλλες λοιμώξεις (Isa et al., 2002), τα IgM δεν είναι τα πρώτα αντισώματα που εμφανίζονται στο αίμα ασθενών που έχουν μολυνθεί με SARS-CoV-2 πιθανώς λόγω προηγούμενης ανοσίας σε άλλους κοροναϊούς, όπως συζητείται παρακάτω. Πράγματι, η ειδική IgA είναι ο κυρίαρχος ισότυπος την πρώτη εβδομάδα μετά την έναρξη των συμπτωμάτων (Post Symptom Onset, PSO), ενώ η μέγιστη τιμή IgM παρατηρείται μεταξύ 10<sup>7</sup> και 15<sup>7</sup> ημέρας και η μέγιστη IgG περίπου την 20<sup>η</sup> ημέρα (Wang K. et al., 2020; Al-Mughales et al., 2021; Cervia et al., 2021; Gaebler et al., 2021; Hartog et al., 2021; Shi et al., 2021; Zhang et al., 2021). Τα επίπεδα IgM μειώνονται σημαντικά ένα μήνα PSO (Gaebler et al., 2021), αλλά τα επίπεδα ειδικών IgA και IgG παραμένουν σταθερά για περισσότερο από 6 εβδομάδες (Zhang et al., 2021; Fuentes-Villalobos et al., 2022), ενώ τα IgG μπορούν να ανιχνευθούν έως και 1 έτος PSO (Hartog et al., 2021; Shi et al., 2021; Alkharaan et al., 2022; Havervall et al., 2022; Kurano et al., 2022; Noh et al., 2022; Scheiblauer et al., 2022). Ωστόσο, οι ασυμπτωματικοί ασθενείς έχουν χαμηλότερα επίπεδα αντισωμάτων και ως εκ τούτου, χάνουν τα ειδικά αντισώματα IgG γρηγορότερα και συχνότερα από τους συμπτωματικούς ασθενείς (Wu et al., 2021).



Οι ειδικές για την ακίδα υποκατηγορίες IgG1 και IgG3, κυριαρχούν έναντι των IgG2 και IgG4 (Chen Y. et al., 2020; Suthar et al., 2022; Fuentes-Villalobos et al., 2022), όπως και σε άλλες ιογενείς λοιμώξεις, για παράδειγμα τον HIV ή τον ιό της γρίπης H1N1 (Cavacini et al., 2004; Frasca et al., 2013). Η παρουσία αντι-SARS-CoV-2 IgA στον ορό, σχετίζεται με γαστρεντερικά συμπτώματα, ενώ δεν έχει βρεθεί τέτοια συσχέτιση για την IgG (Wang K. et al., 2020). Ο SARS-CoV-2, μπορεί να αναπαραχθεί σε ανθρώπινα εντεροκύτταρα (Lamers et al., 2020) και μπορεί να ενεργοποιήσει την τοπική παραγωγή αντι-SARS-CoV-2 IgA, συμβάλλοντας στην αύξηση των ειδικών επιπέδων IgA στο αίμα.

Τα αντισώματα από τον ορό ασθενών έχει αποδειχθεί ότι αντιδρούν διασταυρούμενα με τις πρωτεΐνες ακίδας των τεσσάρων εποχικών ανθρώπινων κοροναϊών (HCoV: 229E, HKU1, NL63 και OC43) (Woudenberg et al., 2021). Παραμένει θέμα συζήτησης, εάν η προηγούμενη ανοσία στους HCoVs, είναι προστατευτική έναντι της μόλυνσης από SARS-CoV-2. Αρκετές μελέτες έχουν αναφέρει ότι τα επίπεδα των ειδικών IgG και IgA έναντι των HCoVs είναι σημαντικά υψηλότερα σε ασυμπτωματικούς ασθενείς με μόλυνση SARS-CoV-2, από ότι σε συμπτωματικούς, υποδηλώνοντας ότι η προηγούμενη λοίμωξη από τους HCoVs μπορεί να επηρεάσει τη σοβαρότητα της COVID-19 (Dugas et al., 2021a; Dugas et al., 2021b; Greenbaum et al., 2021; Ortega et al., 2021). Αντίθετα, άλλες μελέτες δεν βρήκαν σημαντική συσχέτιση μεταξύ της προηγούμενης ανοσίας κατά των HCoVs και της σοβαρότητας της COVID-19 (Imai et al., 2021; Ringlander et al., 2021; Sermet-Gaudelus et al., 2021). Οι τίτλοι IgG κατά του SARS-CoV-2, είναι υψηλότεροι σε ασθενείς με προηγούμενη ανοσία σε κάποιον από τους εποχικούς κορωνοϊούς (Miyara et al., 2022), γεγονός που υποδηλώνει ότι η ειδική ανοσολογική απόκριση κατά του SARS-CoV-2 είναι απόκριση τύπου ανάκλησης και θα μπορούσε να είναι προστατευτική.

Η διασταυρούμενη αντίδραση μεταξύ των ειδικών αντισωμάτων έναντι OC43 και 229E και έναντι των πρωτεϊνών SARS-CoV-2, μπορεί να είναι υψηλότερη στα παιδιά απ' ό,τι στους ενήλικες (Tammunen et al., 2021), πιθανώς λόγω της υψηλής συχνότητας αναπνευστικών λοιμώξεων κατά την παιδική ηλικία (Dijkman et al., 2008; Friedman et al., 2018). Έχει επίσης προταθεί, ότι η προηγούμενη ανοσία από HCoVs στα παιδιά είναι προστατευτική έναντι της λοίμωξης SARS-CoV-2, καθώς τα παιδιά αναπτύσσουν λιγότερο σοβαρές μορφές COVID-19 από τους ενήλικες (Castagnoli et al., 2020). Αρκετές περιοχές στην υπομονάδα S2 της πρωτεΐνης ακίδας, είναι ομόλογες μεταξύ των

HCoV-s και του SARS-CoV-2, αλλά δεν υπάρχει ομολογία στην περιοχή RBD (Lu X. et al., 2020), ενώ τα ειδικά αντισώματα που στρέφονται κατά των HCoV-s, δεν μπορούν να εξουδετερώσουν τον SARS-CoV-2 in vitro (Miyara et al., 2022). Επιπλέον, η λοίμωξη από τον SARS-CoV-2, μπορεί να εμφανιστεί σε παιδιά ανεξάρτητα από την προηγούμενη ανοσία στους HCoV-s (Renk et al., 2022), ενώ τα ειδικά αντισώματα κατά των HCoV-s στα παιδιά δεν είναι σε θέση να εμποδίσουν την αλληλεπίδραση του SARS-CoV-2-RBD με το ACE2 (Tamminen et al., 2021). Κατά συνέπεια και καθώς οι περισσότερες από αυτές τις παρατηρήσεις έγιναν σε δείγματα ορού, είναι πολύ σημαντικό να γίνει κατανοητό, εάν η βλεννογονική απόκριση είναι παρόμοια σε όλους τους τύπους ασθενών με COVID-19.

#### **9.2.1.1. Βλεννογονική χυμική ανοσία στην COVID-19**

Ο SARS-CoV-2 εμφανίζει πνευμονικό τροπισμό, επομένως, οι ανοσοαποκρίσεις του κυρίως αναπνευστικού βλεννογόνου πιθανότατα διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην πρόληψη της εισόδου και της εξάπλωσης του ιού (Yaugel-Novoa et al., 2022). Μόνο λίγες μελέτες έχουν διερευνήσει την κινητική και την ποιότητα της ανοσοαπόκρισης του βλεννογόνου στον SARS-CoV-2.

Οι αποκρίσεις του βλεννογόνου, ιδιαίτερα η IgM κατά της ακίδας, συσχετίζονται αντιστρόφως με το ιικό φορτίο στα ρινοφαρυγγικά επιχρίσματα, υποδεικνύοντας ότι μια ισχυρή πρώιμη απόκριση ρινικού αντισώματος, μπορεί να διαδραματίσει βασικό ρόλο στον περιορισμό της νόσου, ξεκινώντας ή διευκολύνοντας την πρώιμη ιική κάθαρση (Fröberg et al., 2022). Έχει επίσης αναφερθεί συσχέτιση μεταξύ μιας ισχυρής απόκρισης, ειδικών αντι-RBD IgA ρινικών αντισωμάτων και της υποχώρησης συστηματικών συμπτωμάτων, όπως η κόπωση, ο πυρετός, ο πονοκέφαλος, η ζάλη, ο πόνος στις αρθρώσεις ή στους μύς, καθώς και η διόγκωση των λεμφαδένων (Fröberg et al., 2022). Ο πρώιμος έλεγχος της αναπαραγωγής του ιού στην ανώτερη αναπνευστική οδό, μειώνει την εξάπλωση του ιού στην περιφέρεια, περιορίζοντας με τον τρόπο αυτό τα συστηματικά συμπτώματα, γεγονός το οποίο μπορεί να οφείλεται στην προαναφερθείσα συσχέτιση (Yaugel-Novoa et al., 2022).

Ειδικά αντισώματα κατά του SARS-CoV-2 έχουν ανιχνευθεί στο σάλιο (Isho et al., 2020; Sterlin et al., 2021; Alkharaan et al., 2022), στο ρινοφάρυγγα (Cagigi et al., 2021; Cervia et al., 2021; Dos Santos et al., 2021; Fröberg et al., 2021; Smith et al., 2021; Vu et al., 2021), στις βρογχοκυψελιδικές εκπλύσεις (BAL) (Sterlin et al., 2021) και στην τραχεία των παιδιών (Tang et al., 2022), τα οποία στρέφονται έναντι πρωτεϊνών S RBD

και N (Isho et al., 2020; Fröberg et al., 2021; Smith et al., 2021; Sterlin et al., 2021; Vu et al., 2021; Alkharaan et al., 2022). Περιορισμένα δεδομένα είναι διαθέσιμα για δείγματα κοπράνων, με μόνο μία μελέτη να αναφέρει ελάχιστες διαφορές στα αντισώματα anti-S IgA και IgG μεταξύ μολυσμένων και μη μολυσμένων ασθενών (Wright et al., 2022), ενώ μια άλλη μελέτη, ανίχνευσε αντισώματα IgA κατά της RBD στο 11% των ασθενών, ιδιαίτερα σε αυτούς με πιο σοβαρή νόσο ή με διάρροια (Britton et al., 2022).

Τα συνολικά επίπεδα IgM και IgG (συμπεριλαμβανομένων των υποκατηγοριών IgG) στο ρινικό υγρό, όπως αυτά στον ορό, είναι παρόμοια σε υγιείς δότες και σε ασθενείς με COVID-19, αντίθετα, τα συνολικά επίπεδα IgA αυξάνονται με τη σοβαρότητα της νόσου (Smith et al., 2021). Όπως και στη συστηματική χυμική ανοσολογική απόκριση, κατά τη διάρκεια της λοίμωξης, οι ειδικοί τίτλοι αντισωμάτων στους ιστούς του βλεννογόνου, είναι υψηλότεροι στη μέτρια/σοβαρή νόσο σε σύγκριση με την ασυμπτωματική/ήπια νόσο (Pisanic et al., 2020; Dos Santos et al., 2021; Smith et al., 2021). Σύμφωνα με τους Cervia et al. (2021), εξαιρετικά ενδιαφέρον είναι το γεγονός ότι οι τίτλοι IgA anti-SARS-CoV-2 στους βλεννογόνιους ιστούς, σχετίζονται αντιστρόφως ανάλογα με την ηλικία, σε ασθενείς με ήπια νόσο, οι οποίοι παρουσιάζουν χαμηλή ή μηδενική απόκριση στον ορό. Αυτό συμβαίνει διότι η έκταση και η διάρκεια των κλινικών συμπτωμάτων ρυθμίζουν την ανοσολογική απόκριση, καθώς μια καλή ανοσολογική απόκριση του βλεννογόνου, μπορεί να είναι επαρκής για τον έλεγχο της ιικής αναπαραγωγής, όταν παρουσιάζεται ήπια ή ασυμπτωματική νόσος. Ωστόσο, η ανοσολογική απόκριση του βλεννογόνου παρέχει ανεπαρκή προστασία έναντι της μόλυνσης με την παραλλαγή Omicron (Yaugel-Novoa et al., 2022). Τα παιδιά που έχουν μολυνθεί από τον SARS-CoV-2, έχουν πολύ χαμηλά επίπεδα εξουδετερωτικών αντισωμάτων στην κατώτερη αναπνευστική οδό (Tang et al., 2022).

Οι Ravichandran et al. (2021), χρησιμοποιώντας την τεχνολογία genome fragment phage display library (GFPDL) για τη μελέτη της αναγνώρισης επιτόπων από ειδικά αντισώματα IgM, IgG και IgA στις ρινικές εκκρίσεις, βρήκαν ότι οι αποκρίσεις IgM, IgA και IgG στόχευαν γενικά ένα ευρύτερο φάσμα επιτόπων στις περιοχές NTD, RBD, FP, επανάληψης επταδίου 1 και 2 (HR1, HR2) κατανεμημένες σε όλες τις υπομονάδες S1 και S2 της πρωτεΐνης ακίδας, ενώ η συστηματική απόκριση περιορίζεται ουσιαστικά στην S2. Είναι ενδιαφέρον ότι τόσο μονομερής όσο και διμερής IgA ανιχνεύθηκε στο BAL ασθενών με COVID-19 (Sterlin et al., 2021), υποδηλώνοντας ότι τα αντισώματα

κατά του SARS-CoV-2 στους ιστούς του βλεννογόνου μπορεί να έχουν διαφορετική προέλευση. Το μεγαλύτερο μέρος της διμερούς IgA πιθανώς προκύπτει τοπικά, αλλά η μονομερής IgA του πλάσματος μπορεί να φτάσει στους αεραγωγούς μέσω μιας διαδικασίας μη εξαρτώμενης από υποδοχέα, που ονομάζεται διαπίδυση και η οποία είναι πιο πιθανό να συμβεί σε κατεστραμμένο πνευμονικό ιστό, όπως παρατηρείται σε ασθενείς με σοβαρή COVID-19 (Stockley et al., 1979; Burnett, 1986). Όπως περιγράφεται για άλλες λοιμώξεις (Reynolds, 1988), η αναλογία IgG/IgA ακολουθεί μια καθοδική κλίση στην αναπνευστική οδό, με υψηλότερους τίτλους IgA από άλλους ιστοτύπους στον σίελο, αλλά υψηλότερους τίτλους IgG σε σχέση με τους τίτλους IgA στο BAL (Sterlin et al., 2021). Στην αρχή της νόσου, η IgG έχει περιγραφεί ως η κυρίαρχη ανοσοσφαιρίνη στον σίελο (Pisanic et al., 2020). Πράγματι, τα ειδικά για τον SARS-CoV-2 επίπεδα IgG κορυφώνονται μεταξύ 31<sup>ης</sup> -45<sup>ης</sup> ημέρας PSO και εξαφανίζονται περίπου την 106<sup>η</sup> -115<sup>η</sup> ημέρα PSO, ενώ οι IgM και IgA εμφανίζονται περίπου την 20<sup>η</sup> ημέρα PSO, αλλά τα επίπεδά τους μειώνονται πιο γρήγορα από αυτά της IgG (Isho et al., 2020). Παράλληλα, τα ειδικά επίπεδα αντι-RBD IgA βρέθηκαν να είναι υψηλότερα στον σίελο, σε σχέση με τον ορό, μετά την 49<sup>η</sup> ημέρα PSO (Sterlin et al., 2021), ενώ τα ειδικά για τους αεραγωγούς επίπεδα IgA και IgG μειώθηκαν σημαντικά εντός τριών μηνών από τη μόλυνση (Cagigi et al., 2021), ωστόσο, αυτά τα αντισώματα παρέμειναν ανιχνεύσιμα μέχρι και εννέα μήνες PSO (Fröberg et al., 2021; Alkharaan et al., 2022). Όπως και στον ορό, όσο πιο ήπια είναι η νόσος, τόσο μικρότερη είναι η διάρκεια ζωής των ειδικών αντισωμάτων που ανιχνεύονται στους βλεννογόνιους ιστούς (Alkharaan et al., 2022). Συμπερασματικά, οι συστηματικές και οι βλεννογονικές αποκρίσεις ποικίλλουν ανάλογα με τη σοβαρότητα της νόσου και την κινητική της μόλυνσης. Κατά συνέπεια, όταν μελετάμε τη χυμική ανοσολογική απόκριση στη λοίμωξη SARS-CoV-2 για την προστασία των ασθενών από την πιο σοβαρή νόσο, παρακολουθούμε την ισχύ της ανοσολογικής απόκρισης που προκαλείται από τη λοίμωξη και όχι την ποιότητα αυτής της απόκρισης.

### 9.2.2. Κυτταρική ανοσία κατά του SARS-CoV-2

Δεδομένου του υψηλού αριθμού CD8<sup>+</sup> T κυττάρων (80%) που στρατολογούνται στη μολυσμένη περιοχή, οι ερευνητές πιστεύουν ότι η κυτταρική ανοσία είναι η πρώτη γραμμή άμυνας ενάντια στη μόλυνση από SARS-CoV-2 (Urra et al., 2020) (εικ. 26). Ωστόσο, σε ασθενείς με σοβαρή COVID-19 τα εξαντλημένα T-κύτταρα προκαλούν τη μείωση των μη εξαντλημένων CD8<sup>+</sup> T-κυττάρων (Diao et al., 2020). Η υπερέκφραση του υποδοχέα NKG2A μπορεί να είναι μία από τις κύριες αιτίες εξάντλησης των CD8<sup>+</sup>

T-κυττάρων (Yaqinuddin et al., 2020). Προηγούμενες μελέτες έχουν αναφέρει ότι το NKG2A έχει αυξανόμενη ρύθμιση στα CD8+ T κύτταρα που προέρχονται από ασθενείς με COVID-19 σε σύγκριση με υγιή άτομα, ενώ έχει φθίνουσα μορφή έκφρασης σε ασθενείς που έχουν αναρρώσει (Chen & John Wherry, 2020; Yasin et al., 2021). Επιπλέον, η λεμφοπενία είναι ένα άλλο χαρακτηριστικό της κυτταρικής ανοσίας σε ασθενείς με COVID-19 (Zhou & Ye, 2021). Τα T-κύτταρα μειώνονται σημαντικά σε ασθενείς με σοβαρή νόσηση, με λιγότερο από το 5% να συσχετίζεται με υψηλό ποσοστό θνησιμότητας (Bange et al., 2021). Είναι αξιοσημείωτο ότι το 85% των ασθενών με σοβαρή πνευμονία COVID-19 εκδηλώνουν λεμφοπενία (Bermejo-Martin et al., 2020). Επομένως, το ποσοστό των λεμφοκυττάρων μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης για την ταξινόμηση της σοβαρότητας της λοίμωξης (Tan et al., 2020). Επιπλέον, ο αριθμός των κυτταροτοξικών NK κυττάρων μειώνεται σε ασθενείς με COVID-19 και συσχετίστηκε επίσης με τη σοβαρότητα της λοίμωξης (Ahmed et al., 2020). Έρευνες υποδηλώνουν ότι ο SARS-CoV-2 αρχικά προκαλεί την ενεργοποίηση των CD8+ T-κυττάρων, η οποία με την σειρά της οδηγεί στην εξάντλησή τους. Η υπερβολική ενεργοποίηση των CD8+ T-κυττάρων προκαλεί ανεξέλεγκτες αποκρίσεις κυτταροτοξικότητας, οδηγώντας σε μερική ιστική βλάβη (De Biasi et al., 2020; Bertoletti et al., 2021). Την ίδια στιγμή, ο SARS-CoV-2 μπορεί να μολύνει και να εξαντλεί τα T-κύτταρα μέσω της δέσμευσης της ακίδας του ιού σε CD147 ή CD26 στην επιφάνεια των T-κυττάρων (Wang K. et al., 2020). Οι κυτοκίνες που προέρχονται από μονοκύτταρα μακροφάγα μαζί με την IFN-α και την IFN-β προκαλούν θάνατο των κυττάρων μέσω απόπτωσης (Ye Q. et al., 2020a). Τα ρυθμιστικά T-κύτταρα (Treg), τα οποία διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο κατά των λοιμώξεων του αναπνευστικού, επηρεάζονται επίσης σε ασθενείς με COVID-19 (Peng X. et al., 2020; Wang Y. et al., 2021). Από την άλλη πλευρά, τα βοηθητικά κύτταρα T (Th1 και Th17) υπερενεργοποιούνται, διεγείροντας τα B-κύτταρα να παράξουν ειδικά αντισώματα κατά του SARS-CoV-2 (Costela-Ruiz et al., 2020; Apostolidis et al., 2021). Κατά τη διάρκεια της ιογενούς μόλυνσης, τα ανώριμα CD8+ T κύτταρα αναγνωρίζουν τα ιικά αντιγόνα που παρουσιάζονται στο σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας I (MHC I) μέσω των TCRs υποδοχέων τους και στη συνέχεια, ενεργοποιούνται και υφίστανται κλωνική επέκταση και διαφοροποίηση σε κυτταροτοξικά CD8+ T κύτταρα (Sigal et al., 2016). Αυτά τα CD8+ T κύτταρα εκκρίνουν αρκετές κυτοκίνες, όπως TNF και IFN-γ θανατώνοντας άμεσα παθογόνους ιούς (Cox et al., 2013). Ένα μεγάλο ποσοστό κυτταροτοξικών T-κυττάρων οδηγείται σε απόπτωση μετά την κάθαρση των αντιγόνων, ενώ στη συνέχεια,

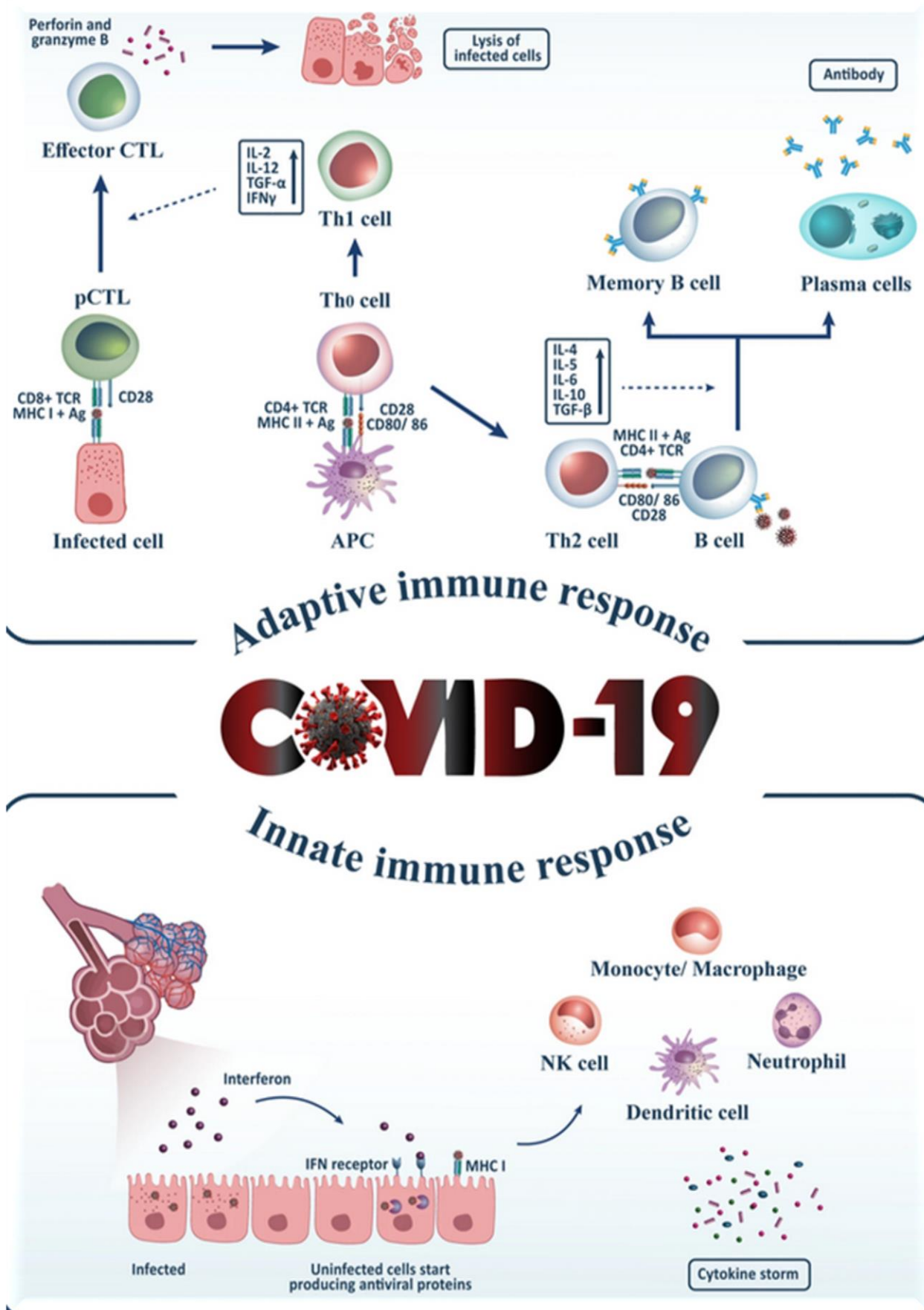
ένας πληθυσμός T-λεμφοκυττάρων μνήμης αποθηκεύεται για την καταπολέμηση της επαναμόλυνσης από τον ιό στο μέλλον. Τα CD4+ T κύτταρα μνήμης, κατά την επαναδιέγερση, πυροδοτούν B-κύτταρα και άλλα ανοσοκύτταρα μέσω της παραγωγής κυτοκινών, ενώ τα κυτταροτοξικά T-κύτταρα μνήμης συμβάλλουν στην καταστροφή των μολυσμένων κυττάρων-ξενιστών, κατά τη διάρκεια επαναμόλυνσης από COVID-19 (Wherry & Kurachi, 2015; Peng X. et al., 2020). Σε αντίθεση με τα B-κύτταρα μνήμης, τα T-κύτταρα μνήμης διατηρούνται για μεγάλο χρονικό διάστημα έναντι του SARS-CoV-2. Συγκεκριμένα, τόσο τα T-κύτταρα μνήμης CD4+ όσο και CD8+ είναι αποτελεσματικά για την ανοσολογική απόκριση για περίπου 3 έως 6 χρόνια χωρίς την παρουσία ικών αντιγόνων (Le Bert et al., 2020).

### 9.3. Διάρκεια ανοσίας μετά από φυσική λοίμωξη

Μεγάλος αριθμός βιβλιογραφικών ανασκοπήσεων έχουν διερευνήσει την αποτελεσματικότητα της φυσικής προστασίας μετά από μόλυνση (Petráš, 2021; Chivese et al., 2022; Mao et al., 2022; Pilz et al., 2022; Sotoodeh et al., 2022). Συγκεκριμένα, μετά-αναλύσεις καταδεικνύουν σταθερά υψηλά επίπεδα προστασίας (81–87%) ύστερα από προηγούμενη μόλυνση ακόμη και μετά την πάροδο 7 μηνών (Petráš, 2021; Mao et al., 2022;) (Chivese et al., 2022). Άλλη έρευνα αξιολόγησε την προστασία που παρέχεται είτε από προηγούμενη μόλυνση είτε από επαναμόλυνση και βρήκε παρόμοια επίπεδα προστασίας (~ 87%) (Mao et al., 2022). Μελέτες οι οποίες διερεύνησαν τον κίνδυνο επαναμόλυνσης με την πάροδο του χρόνου, δεν βρήκαν στατιστικά σημαντική μείωση της προστασίας από επαναμόλυνση (Hansen et al., 2021; Sheehan et al., 2021; Cowger et al., 2022; Nordström et al., 2022) με την προστασία να εκτιμάται ότι κυμαίνεται από 69-93%. Στην μελέτη με την μεγαλύτερη διάρκεια παρατήρησης, η προστασία έναντι της επαναμόλυνσης σε > 1 έτος εκτιμήθηκε ότι ήταν 69% (Cowger et al., 2022). Μετά την επικράτηση της παραλλαγής Delta, οι Hall et al. (2022) παρατήρησαν, μείωση της προστασίας η οποία ωστόσο δεν ήταν στατιστικά σημαντική (Cowger et al., 2022). Ορισμένα προκαταρκτικά στοιχεία κλινικών δοκιμών θέτουν αμφιβολίες σχετικά με την ικανότητα μιας προηγηθείσας μόλυνσης με μια παλαιότερη παραλλαγή του SARS-CoV-2 να παρέχει προστασία έναντι μιας διαφορετικής, νεότερης παραλλαγής (Shinde et al., 2021). Μια κλινική δοκιμή για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας του εμβολίου NVX-CoV2373 έναντι της παραλλαγής B.1.351, διαπίστωσε, κατά τους πρώτους 2 μήνες παρακολούθησης μεταξύ των ληπτών εικονικού φαρμάκου, ότι η προηγούμενη μόλυνση με ιό προ-B.1.351 δεν φάνηκε να μειώνει τον κίνδυνο επαναμόλυνσης, λόγω επακόλουθης μόλυνσης με παραλλαγή

B.1.351 (Shinde et al., 2021). Μελέτη από το Κατάρ διαπίστωσε ότι η αποτελεσματικότητα μιας προηγούμενης μόλυνσης στην πρόληψη επαναμόλυνσης κυμαινόταν από 90,2% έναντι της παραλλαγής Alpha, 85,7% έναντι της παραλλαγής Beta και 92% έναντι της παραλλαγής Delta, ενώ έναντι της παραλλαγής Omicron, η προστασία μειώθηκε στο 56%. Προηγούμενη μόλυνση παρείχε ισχυρή προστασία έναντι νοσηλείας ή θανάτου, ανεξάρτητα από την παραλλαγή, συμπεριλαμβανομένης της προστασίας από νοσηλεία λόγω της παραλλαγής Omicron κατά 87,8% (Altarawneh et al., 2022). Τέλος, άλλη έρευνα διαπίστωσε ότι προηγηθείσα μόλυνση με ένα διάμεσο διάστημα 324 ημερών πριν από την επαναμόλυνση, παρείχε 50,8% προστασία έναντι συμπτωματικών λοιμώξεων καθώς και 71,6% προστασία από σοβαρή ή θανατηφόρα νόσηση από την παραλλαγή Omicron (Chemaitelly et al., 2022).

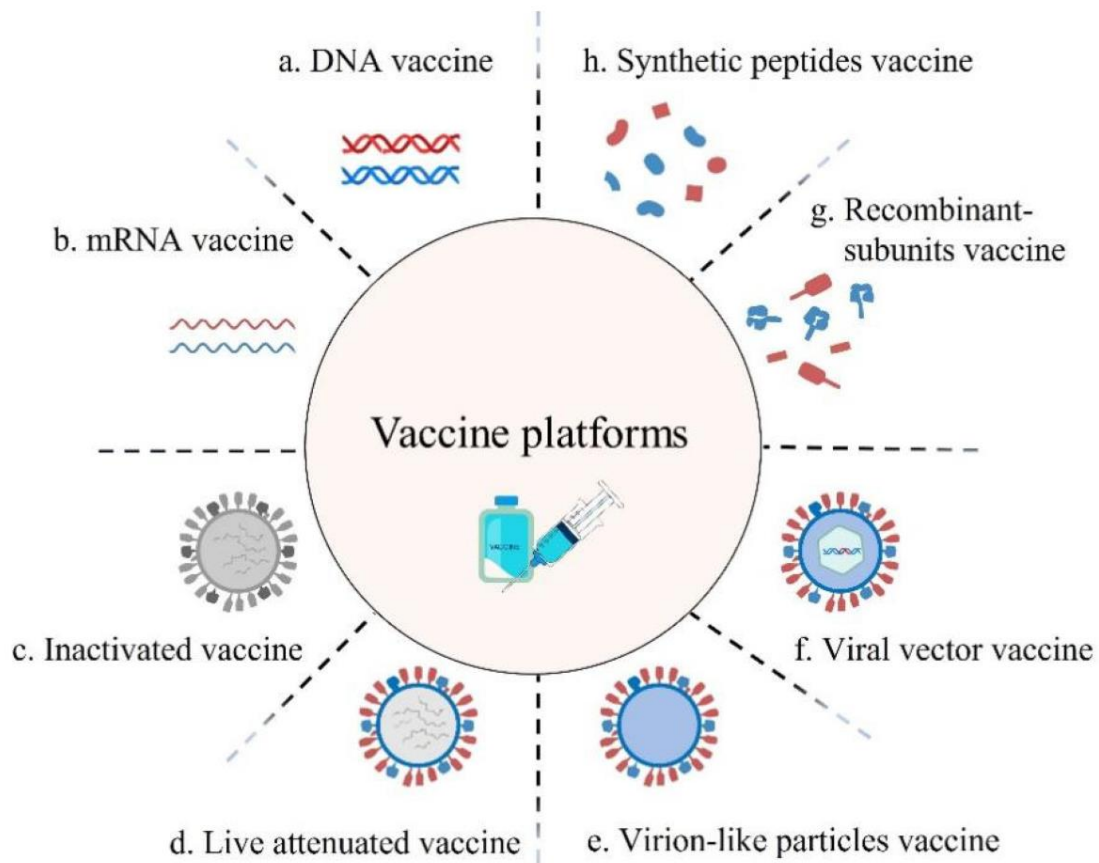




Εικόνα 26: Ανασκόπηση της ανοσολογικής απόκρισης έναντι της COVID-19. Πηγή: Mohammed et al., 2022.

## 10. Ανοσολογική απάντηση μετά από εμβολιασμό

Το σημαντικότερο όπλο για την υπέρβαση της τρέχουσας πανδημίας, καθώς και για τη μείωση του αριθμού των θυμάτων της, είναι η παγκόσμια προσπάθεια εμβολιασμού. Τα εμβόλια για την COVID-19 αναπτύχθηκαν σε αξιοσημείωτο χρονικό διάστημα. Η πρώτη φάση ολοκληρώθηκε σε 6-9 μήνες, σε σύγκριση με το κανονικό χρονικό πλαίσιο των 3-9 ετών για άλλα εμβόλια (Wellcome, 2021) ενώ, για να επιταχυνθεί επιπλέον η διαδικασία, επικαλύφθηκαν τρεις φάσεις ανάπτυξης (CDC, 2021b). Επί του παρόντος, υπάρχει μια σειρά εμβολίων για τα οποία ο ΠΟΥ έχει εκδόσει εσπευσμένη άδεια κυκλοφορίας (Emergency Use Listing EUL; WHO, 2022a). Το χαρτοφυλάκιο περιλαμβάνει, μεταξύ άλλων, εμβόλια mRNA (τροποποιημένου νουκλεοσιδίου), φορέα αδενοϊού, ανασυνδυασμένης πρωτεΐνης καθώς και σκευάσματα αδρανοποιημένου ιού (εικ. 27). Τα προαναφερθέντα εμβόλια ωστόσο, προκαλούν ποικίλους τύπους ανοσολογικών αποκρίσεων που έχουν ως συνέπεια διαφορετικές αποτελεσματικότητες. Εκτός των αδρανοποιημένων, όλα τα εμβόλια EUL προκαλούν την έκφραση πλήρους μήκους πρωτεΐνης S του SARS-CoV-2, είτε στην επιφάνεια της μεμβράνης του κυττάρου που προσλαμβάνει τα νανοσωματίδια που περιέχουν mRNA, είτε μέσω της μόλυνσης του κυττάρου με τον φορέα του αδενοϊού (Kamińska et al., 2022). Πιο συγκεκριμένα, στην αρχή της προσπάθειας ανάπτυξης των εμβολίων, η πρωτεΐνη ακίδας του κορωνοϊού αναγνωρίστηκε ως ένας πολλά υποσχόμενος στόχος λόγω της ικανότητάς της να πυροδοτεί σημαντικές ανοσοαποκρίσεις των Β-κυττάρων και των Τ-κυττάρων (Le et al., 2020; Grifoni et al., 2020; Arbeitman et al., 2021). Άλλες πρωτεΐνες του κορωνοϊού, όπως οι πρωτεΐνες του νουκλεοκαψιδίου (N), ερευνώνται επίσης για την ανάπτυξη εμβολίων, καθώς είναι σε θέση να δημιουργήσουν μια ισχυρή απόκριση των Τ-κυττάρων, ενώ τα γονίδιά τους συχνά είναι διατηρημένα και λιγότερο επιρρεπή σε ανασυνδυασμό σε σύγκριση με τις πρωτεΐνες ακίδας (Dutta et al., 2020; Nikolaidis et al., 2022). Προκειμένου να αποτραπεί η μετατροπή των πρωτεϊνών ακίδας προσύντηξης στην επιμήκη μορφή τους, χρησιμοποιείται η μετάλλαξη 2P για τη σταθεροποίηση της μορφής της πρωτεΐνης. Αυτή η τροποποιημένη πρωτεΐνη εξακολουθεί να πυροδοτεί μια επίκτητη ανοσολογική απόκριση των ανθρώπινων κυττάρων στον ιό, προτού η πρωτεΐνη συνδεθεί με το κύτταρο (McLellan, 2020).



Εικόνα 27: Διάφορες πλατφόρμες ανάπτυξης εμβολίων. Πηγή: Deng et al., 2022.

### 10.1. Εμβόλια mRNA

Τα εμβόλια mRNA μελετώνται για πάνω από τρεις δεκαετίες και ήταν τα πρώτα εμβόλια κατά της COVID-19 που εγκρίθηκαν στο Ηνωμένο Βασίλειο, στις Ηνωμένες Πολιτείες και στην Ευρωπαϊκή Ένωση (CDC, 2022b). Αποτελούνται από αυτοαναπαράγόμενο RNA ή αγγελιοφόρο RNA, το οποίο οδηγεί τα κύτταρα στην έκφραση αντιγόνου που μπορεί να προκαλέσει κυτταροτοξικές αποκρίσεις λεμφοκυττάρων. Η πρόκληση παροδικής έκφρασης και παραγωγής ειδικών αντιγονικών πρωτεϊνών που προκαλούν την παρουσίαση μέσω του MHC-1, αποτελεί ένα από τα βασικά οφέλη των mRNA (Verbeke et al., 2019), γεγονός το οποίο τα έχει κάνει μια δημοφιλή επιλογή σε πολλά εμβόλια COVID-19, συμπεριλαμβανομένων των εγκεκριμένων εμβολίων Pfizer–BioNTech και Moderna. Τα εμβόλια αυτά, χρησιμοποιούν mRNA για να προκαλέσουν την έκφραση της πρωτεΐνης ακίδας SARS-CoV-2, η οποία στη συνέχεια αναγνωρίζεται και καταστρέφεται, επιτρέποντας στον οργανισμό να δημιουργήσει ανοσοκύτταρα μνήμης. Τα μόρια mRNA συνδυάζονται με λιπιδικά νανοσωματίδια τα οποία βελτιώνουν την απορρόφησή του στα κύτταρα και

προστατεύουν τον κλώνο κατά τη μεταφορά (Kowalski et al., 2019; Krammer, 2020; Park et al., 2021).

### **10.1.1. Μηχανισμός δράσης**

Ο σκοπός ενός εμβολίου είναι να ωθήσει τον οργανισμό να παράγει ειδικά για το παθογόνο αντισώματα ως επίκτητη ανοσολογική απάντηση. Αυτά τα αντισώματα έχουν ως στόχο τα αντιγόνα επιφανείας του παθογόνου ή τα αντιγόνα που παράγονται από αυτό (Batty et al., 2021). Τα εμβόλια mRNA χρησιμοποιούν ένα συνθετικό, παροδικό τμήμα RNA το οποίο κωδικοποιεί ένα ιικό αντιγόνο (Hajj & Whitehead, 2017). Τα δενδριτικά κύτταρα, συλλαμβάνουν αυτά τα τμήματα mRNA μέσω της φαγοκυττάρωσης (Schlake et al., 2012), ενώ στη συνέχεια «διαβάζουν» το mRNA και παράγουν τα ιικά αντιγόνα που αυτό κωδικοποιεί, χρησιμοποιώντας τον δικό τους μηχανισμό (ριβοσώματα). Μέσα σε λίγες ημέρες από την εισαγωγή τους, τα θραύσματα mRNA αποικοδομούνται από το σώμα (Karamloo & König, 2020). Τα δενδριτικά κύτταρα προσλαμβάνουν τα σφαιρίδια mRNA του εμβολίου πολύ πιο γρήγορα από τα μη ανοσοκύτταρα, τα οποία μπορούν επίσης να απορροφήσουν το mRNA του εμβολίου παράγοντας και εμφανίζοντας αντιγόνα στις επιφάνειές τους. Τα θραύσματα mRNA μεταφράζονται στο κυτταρόπλασμα και δεν έχουν καμία επίδραση στο γονιδιωματικό DNA που είναι αποθηκευμένο στον πυρήνα του κυττάρου (Xu et al., 2020). Αφού το κύτταρο-ξενιστής παράξει ιικά αντιγόνα, το επίκτητο ανοσοποιητικό σύστημα ανταποκρίνεται. Τα αντιγόνα διασπώνται από τα πρωτεοσώματα και στη συνέχεια προσκολλώνται σε μόρια MHC τα οποία μετακινούνται στην κυτταρική μεμβράνη, ενεργοποιώντας τα δενδριτικά κύτταρα. Εν συνεχεία, τα δενδριτικά κύτταρα μετά την ενεργοποίηση, μεταναστεύουν στους λεμφαδένες και παρουσιάζουν το αντιγόνο στα T και B κύτταρα, με αποτέλεσμα κυρίως την παραγωγή αντισωμάτων που στοχεύουν το αντιγόνο (εικ. 28) (Kyriakidis et al., 2021).

### **10.1.2. Απόκριση B-κυττάρων και αντισωμάτων**

Τα περισσότερα αδειοδοτημένα εμβόλια προστατεύουν από ιογενή μόλυνση μέσω της επαγωγής μακροχρόνιων αποκρίσεων προστατευτικών αντισωμάτων (Ab) από ενεργοποιημένα B-κύτταρα (Plotkin, 2010). Η ενεργοποίηση των B-κυττάρων από ένα αντιγόνο που παρουσιάζεται από ένα μόριο MHC οδηγεί στην παραγωγή πλασμαβλαστών (PB) σε εξωθυλακικές (EF) θέσεις στους λεμφαδένες, ως μέρος της βραχυπρόθεσμης ανοσολογικής απόκρισης. Μετά από αυτό, τα βλαστικά κέντρα (GCs), οι μικροανατομικές δηλαδή θέσεις των δευτερογενών λεμφικών οργάνων, παράγουν

ώριμα και με συγγένεια, εμμένοντα αντισώματα κατά του ιού (Mesin et al., 2016). Το GC είναι το σημείο όπου τα ενεργοποιημένα B-κύτταρα υφίστανται τυχαίες μεταλλάξεις. Με τον τρόπο αυτό, παράγονται Abs με υψηλότερη συγγένεια για το αντιγόνο, διαδικασία η οποία οδηγεί στην επιλογή B-κυττάρων με ισχυρότερες συγγένειες, έχοντας ως αποτέλεσμα υψηλότερες συγκεντρώσεις ειδικότερων B-κυττάρων. Αυτή η διαδικασία δημιουργεί πλασματοκύτταρα υψηλής συγγένειας και μακράς διάρκειας ζωής (LLPC), καθώς και B-κύτταρα μνήμης (MBCs). Τα LLPC παράγουν αντισώματα, μερικά από τα οποία είναι εξουδετερωτικά (nAbs) και τα οποία μπορεί να παίζουν ρόλο στην αποστειρωτική ανοσία (Sallusto et al., 2010). Επιπλέον, τα LLPCs έχουν την αξιοσημείωτη ικανότητα, σε ορισμένες καταστάσεις, να επιβιώνουν για πολλά χρόνια, εκκρίνοντας Abs ακόμη και χωρίς πρόσθετη ενεργοποίηση αντιγόνου (Amanna et al., 2007), ενώ επίσης, σε περίπτωση μελλοντικής επαφής με το παθογόνο, τα MBCs ενεργοποιούνται και αυξάνουν την παραγωγή κυττάρων που εκκρίνουν αντισώματα υψηλής συγγένειας. Μελέτες έχουν δείξει ότι τα εμβόλια mRNA που κωδικοποιούσαν μόνο την περιοχή δέσμευσης του υποδοχέα (RBD) ήταν πιο αποτελεσματικά στη δημιουργία αντισωμάτων που δεσμεύουν SARS-CoV-2, σε σύγκριση με αυτά που κωδικοποιούσαν όλη την περιοχή S1 της ακίδας. Από την άλλη, μελέτες άλλων ερευνητών κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα εμβόλια mRNA που κωδικοποιούν την πλήρους μήκους πρωτεΐνη S επάγουν ισχυρότερες χυμικές αποκρίσεις (Tai et al., 2020).

Η αποτελεσματικότητα των εμβολίων mRNA κατά του SARS-CoV-2 έχει προσδιοριστεί προκλινικά σε ποντίκια, εστιάζοντας στην ικανότητά τους να προκαλούν την παραγωγή αντισωμάτων, τα οποία δεσμεύουν και εξουδετερώνουν τον ιό. Οι ερευνητές ανακάλυψαν ότι οι αποκρίσεις Abs που προκλήθηκαν από αυτά τα εμβόλια mRNA (mRNA-1273 Moderna, BNT162b2 BioNTech/Pfizer και CVnCoV CureVac) ήταν σε θέση να εξουδετερώσουν τον ιό *in vitro*, όπως αξιολογήθηκε και από τις δοκιμασίες εξουδετέρωσης που βασίζονται σε ψευδοϊό, καθώς και στον SARS-CoV-2 (Corbett et al., 2020; Laczko et al., 2020; Lederer et al., 2020; Vogel et al., 2020; Rauch et al., 2021). Σε άτομα που δεν είχε προηγηθεί μόλυνση, τα εμβόλια mRNA προκάλεσαν αποτελεσματικές αποκρίσεις B κυττάρων καθώς και την παραγωγή αντισωμάτων, ενεργοποιώντας την επίκτητη ανοσία έναντι της λοίμωξης SARS-CoV-2 (Röltgen et al., 2020; Goel et al., 2021a; Wang Z. et al., 2021b). Τα μισά από τα εμβολιασμένα άτομα ανέπτυξαν ανιχνεύσιμα nAbs με μία εμβολιαστική δόση, ενώ η πλειοψηφία δημιούργησε επαρκή αντισώματα ενισχύοντας τη μνήμη των B-κυττάρων μετά από μια

δεύτερη δόση (Goel et al., 2021b; Wang Z. et al., 2021b). Ωστόσο, οι τίτλοι anti-S IgG που προκλήθηκαν μετά την πρώτη δόση mRNA εμβολίων μειώθηκαν μετά την πάροδο 6 εβδομάδων, επιβεβαιώνοντας έτσι την αναγκαιότητα μιας δεύτερης δόσης (Röltgen et al., 2020).

### **10.1.3. BNT162b2/Comirnaty (Pfizer/BioNTech)**

Το Comirnaty (Pfizer/ BioNTech) είναι παράδειγμα εμβολίου που βασίζεται σε τεχνολογία mRNA, το οποίο δρα με έγχυση της αλληλουχίας RNA που κωδικοποιεί την τροποποιημένη πρωτεΐνη S για να προκαλέσει ανοσοαπόκριση (Pormohammad et al., 2021). Τα εμβόλια mRNA χρησιμοποιούν τεχνολογία λιπιδικών νανοσωματιδίων (LNP), η οποία αναπτύχθηκε αρχικά από την Canadian Acuitas Therapeutics Inc και στη συνέχεια η Pfizer και η BioNTech χρησιμοποίησαν αυτήν την τεχνολογία στην ανάπτυξη των εμβολίων mRNA BNT162b1 και BNT162b2, τα οποία αργότερα επιλέχθηκαν ως εμβόλια (Khehra et al., 2021).

Τα εμβόλια mRNA κωδικοποιούν την τροποποιημένη πρωτεΐνη ακίδας που έχει σταθεροποιηθεί σε διαμόρφωση προσύντηξης, επιτρέποντας στο ανοσοποιητικό σύστημα να αποκρίνεται έναντι του SARS-CoV-2 στο στάδιο της προσύντηξης, πριν από την είσοδο του στα κύτταρα. Σε μια μελέτη φάσης I/II αξιολογήθηκαν αρχικά οι συγκεντρώσεις IgG που δεσμεύουν την RBD, καθώς και οι τίτλοι εξουδετέρωσης του SARS-CoV-2 σε ορούς (n= 45) (Mulligan et al., 2020). Τα αντισώματα IgG βρέθηκαν να αυξάνονται ανάλογα με τη δόση, ενώ φάνηκε ότι τα επίπεδα IgG που δεσμεύουν την RBD της πρωτεΐνης S1, ήταν ξεκάθαρα υψηλότερα, σε σχέση με τους αναρρώσαντες από φυσική νόσηση (Sahin et al., 2020). Σε κλινικές δοκιμές φάσης III, τα εμβόλια mRNA έδειξαν 95% αποτελεσματικότητα (Kalimuddin et al., 2021). Μετά την έγκρισή τους τον Δεκέμβριο του 2020, η Pfizer και η BioNTech άρχισαν να διανέμουν το BNT162b2 σε όλο τον κόσμο (Lamb, 2021). Στη συνέχεια, μελέτες με λήπτες εμβολίων άρχισαν να στρατολογούν μεγαλύτερες κοόρτες, χαρακτηρίζοντας λεπτομερώς τις ανοσοαποκρίσεις που προκαλούνται από το BNT162b2, περιγράφοντας με σαφήνεια την αποτελεσματικότητα και προστασία του εμβολίου.

Καθώς η μετάδοση του SARS-CoV-2 συμβαίνει κυρίως μέσω των αναπνευστικών οδών, είναι σημαντικό να διερευνηθεί εάν η IgA παράγεται επίσης μετά από μόλυνση ή εμβολιασμό, λόγω του ρόλου της στην βλεννογονική άμυνα (Azzi et al., 2022). Μια μελέτη (n= 108) διαπίστωσε ότι η IgA έναντι της πρωτεΐνης S (S1) και της περιοχής δέσμευσης υποδοχέα (RBD) παρήχθη στον ορό ένα μήνα μετά από μία και δύο δόσεις



BNT162b2 αντίστοιχα, χωρίς να είναι μετρήσιμη ως εκκριτική IgA, με την IgG ορού και την IgA να μειώνονται μετά από 6 μήνες, ενώ άλλες μελέτες (n= 27) επαλήθευσαν τη σύγκριση των IgA και IgG ορού σε πρωτογενείς/μολυσμένους λήπτες εμβολίου (Piano Mortari et al., 2021).

Οι αποκρίσεις αντισωμάτων και κυτταροκινών έναντι της υπομονάδας RBD της S1 και της ολικής πρωτεΐνης ακίδας, έδειξαν ότι τα ειδικά B-κύτταρα μνήμης για τον SARS-CoV-2, προκάλεσαν μια προσαρμοστική απάντηση με παραγωγή κυτοκινών όπως IL-2, IL-4, IL6, IL-10 και TNF-α, καθώς και παραγωγή χημειοκινών (CCL2, CXCL10), επαγόμενη από T-κύτταρα (Lozano-Rodríguez et al., 2022). Άλλες μελέτες, μετά τη χορήγηση δεύτερης δόσης με BNT162b2, έδειξαν ότι η έκφραση των T κυττάρων, όπως μετρήθηκε από ομάδες δεικτών διαφοροποίησης (CD4+/CD8+) σε συμμετέχοντες στο εμβόλιο, παρήγαγε επίσης IFN-γ, η οποία είναι ενδεικτική χυμικής και κυτταρικής απόκρισης έναντι των επιτόπων του SARS-CoV-2 (Cho et al., 2021). Μια μελέτη (n= 20), που ερεύνησε ειδικά τις πρώιμες ανοσολογικές αποκρίσεις των T-κυττάρων και των αντισωμάτων, μετά από μία δόση BNT162b2, κατέληξε στην ότι την 10<sup>η</sup> ημέρα, το 50% (10/20), 85% (17/20) και 80% (16/20) των αποκρίσεων των IgM, IgA και IgG αντίστοιχα, είχαν αξιοσημείωτη αύξηση της τάξεως του 4×, ενώ το 20% (4/20) των συμμετεχόντων, είχαν μετρήσιμα IgG anti-S, τα οποία απέκλειαν πλήρως τον υποδοχέα ACE2 (Al-Shelboul et al., 2023). Άλλες αντίστοιχες μελέτες κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι άτομα που δεν είχαν προσβληθεί από τον ιό, καθώς και άτομα που είχαν νοσήσει εμφάνισαν, 12 ημέρες μετά από μία δόση BNT162b2, σημαντικά υψηλότερα επίπεδα αποκρίσεων IgG (Padoan et al., 2021). Μια πλήρης μελέτη σε συμμετέχοντες (n= 871) που έλαβαν δύο δόσεις BNT162b2, ποσοτικοποίησε τις ολικές αποκρίσεις πρωτεΐνης IgG anti-S, οι οποίες αξιολογήθηκαν σε δείγματα ορού σε διαφορετικά χρονικά σημεία για 3 μήνες, για να καταστεί σαφές ότι μεταξύ των φύλων, τα επίπεδα πρωτεΐνης IgG anti-S αυξάνονταν συνεχώς, χωρίς διακυμάνσεις στα επίπεδα των αποκρίσεων κατά του SARS-CoV-2. Η IgG ωστόσο, κορυφώθηκε μετά τη δεύτερη δόση του εμβολίου BNT162b2, αλλά παρουσίασε σημαντική μείωση στους ηλικιωμένους συμμετέχοντες, 3 μήνες μετά (Salvagno et al., 2021), μία διαπίστωση η οποία ταυτίζεται με αποτελέσματα και άλλων μελετών (Favresse et al., 2021).

Έρευνα που διεξήχθη για την αξιολόγηση της απόκρισης της πρωτεΐνης IgG anti-S, 6 μήνες μετά το BNT162b2, διαπίστωσε ότι η IgG που παράγεται ως απόκριση στο εμβόλιο, άρχισε να μειώνεται μετά τον δεύτερο μήνα (Ponticelli et al., 2021). Η



πρωτεΐνη IgG anti-S εμφάνισε μέγιστη απόκριση 2 μήνες μετά τον εμβολιασμό και άρχισε να μειώνεται τους επόμενους 4 μήνες, με το μέσο όρο μέγιστου τίτλου 6,3%, να παραμένει στους 6 μήνες. Αυτές οι σημαντικές διαφορές εμφανίστηκαν σε συμμετέχοντες όλων των ηλικιών (Grupel et al., 2021; Khoury et al., 2021). Μια μελέτη (n= 92) που έλαβε χώρα την ίδια περίοδο, ανέλυσε την πρωτεΐνη IgG anti-S, 7 μήνες μετά τη δεύτερη δόση του BNT162b2, διαπιστώνοντας ότι οι τίτλοι IgG μειώθηκαν κατά 92% σε κοόρτες που είχαν προηγουμένως επιβεβαιωμένη λοίμωξη από SARS-CoV-2, καθώς και σε εκείνες που δεν είχαν. Οι τίτλοι, ωστόσο, IgG παρέμειναν ανιχνεύσιμοι καθ' όλη τη διάρκεια της ερευνητικής περιόδου (Olariu et al., 2021). Κλινικές δοκιμές φάσης III έδειξαν αποτελεσματικότητα 95,3% στην πρόληψη των λοιμώξεων SARS-CoV-2 μετά από μια τρίτη δόση BNT162b2 (Thomas et al., 2021). Άλλη έρευνα (n= 550.232), υπέδειξε αναλογία κινδύνου 0,1428 στις 65 ημέρες ή μείωση κινδύνου 86% μετά τη δεύτερη ή την τρίτη δόση (Al-Sheboul et al., 2023).

Πρόσφατη μελέτη διευκρίνισε ότι, μετά την χορήγηση της πρώτης δόσης, οι συμμετέχοντες με προηγούμενη μόλυνση οι οποίοι είχαν ήδη αντισώματα πρωτεΐνης IgG anti-S πριν από τον εμβολιασμό, εμφάνισαν ανταπόκριση αντισωμάτων υψηλότερη σε σχέση με τους συμμετέχοντες που δεν είχαν μολυνθεί. Αυτό το εύρημα ήταν αναμενόμενο, με την επαγόμενη από το εμβόλιο ανοσία να λειτουργεί ως ενισχυτικό της φυσικής ανοσίας. Επομένως, αυτά τα αποτελέσματα υποδηλώνουν την πιθανότητα ότι η καθυστέρηση της δεύτερης δόσης του εμβολίου για όσους είχαν προηγούμενη λοίμωξη από COVID-19 μπορεί να είναι ευεργετική (Azzi et al., 2021; Kontopoulou et al., 2021; Lombardi et al., 2021; Ontañón et al., 2021; Padoan et al., 2021; Lozano-Rodríguez et al., 2022). Μία δόση BNT162b2 αναφέρεται ότι είναι προστατευτική έναντι της επαναμόλυνσης SARS-CoV-2 σε άτομα που είχαν μολυνθεί στο παρελθόν (Hammerman et al., 2022). Το BNT162b2 φαίνεται να επάγει μια ισχυρή συστηματική χυμική απόκριση ποσοτικοποιημένη σε δείγματα ορού, αλλά χαμηλή IgG σιέλου και ακόμη χαμηλότερη εκκριτική IgA. Τα επίπεδα IgA στον ορό φαίνεται να κορυφώνονται μετά από μία μόνο δόση του εμβολίου και δεν αυξάνονται μετά από μια δεύτερη δόση (Azzi et al., 2022). Επιπλέον, 8 μήνες μετά τον εμβολιασμό, άτομα με ή και χωρίς προηγούμενη μόλυνση από SARS-CoV-2, εμφάνισαν παρόμοια επίπεδα B κυττάρων μνήμης, ειδικών για τον SARS-CoV-2 (Sokal et al., 2021; Lozano-Rodríguez et al., 2022). Τούτων λεχθέντων καθίσταται σαφές ότι η IgG αντι-S ορού είναι ανοσολογικά ενεργή από τις 12 ημέρες, κορυφώνεται μετά από 2-3 μήνες και μειώνεται στους 6

μήνες, με χαμηλά επίπεδα IgM (δείκτης πρώιμης μόλυνσης) και ομοίως χαμηλά επίπεδα εκκριτικής IgA, μετά από φυσική λοίμωξη ή εμβολιασμό.

Μεταλλάξεις σε επιτόπους πρωτεΐνης S, συμπεριλαμβανομένων των E484K και K417T/N, έχουν οδηγήσει σε αυξημένη μεταδοτικότητα. Πρόσφατα στοιχεία έδειξαν, ότι οι παραλλαγές Alpha και Delta είχαν μικρότερη ικανότητα διαφυγής από τα nAbs, σε σύγκριση με τις παραλλαγές Beta και Omicron. Πιο συγκεκριμένα, οι Kotaki et al. (2022), διαπίστωσαν ότι δύο δόσεις των εμβολίων mRNA SARS-CoV-2 είναι λιγότερο αποτελεσματικές στην επαγωγή εξουδετερωτικών αντισωμάτων κατά της παραλλαγής Omicron, αλλά μια τρίτη δόση ή μια breakthrough λοίμωξη ενισχύει αυτές τις φτωχές αποκρίσεις. Την ίδια στιγμή, επιβεβαίωσαν προηγούμενα συμπεράσματα ερευνών, καθώς βρήκαν μειωμένα εξουδετερωτικά αντισώματα κατά της Omicron. Ωστόσο, διαπίστωσαν επίσης ότι τα B-κύτταρα μνήμης, εξακολουθούσαν να είναι σε θέση να δημιουργούν ισχυρές αποκρίσεις εξουδετερωτικών αντισωμάτων έναντι της Omicron *ex vivo*, λόγω του διευρυμένου, με την πάροδο του χρόνου, εύρους τους. Αυτά τα δεδομένα υποδεικνύουν ότι τα ειδικά B-κύτταρα μνήμης για τον SARS-CoV-2, συμβάλλουν στην αύξηση των εξουδετερωτικών αντισωμάτων έναντι της Omicron μετά από breakthrough λοίμωξη ή ενισχυτική δόση εμβολίου mRNA.

#### 10.1.4. mRNA-1273/Spikevax (MODERNA/NIH)

Η αμερικανική εταιρεία Moderna Therapeutics, σε συνεργασία με το National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID), δημιούργησε σε 63 ημέρες από τον προσδιορισμό της αλληλουχίας του γονιδιώματος SARS-CoV-2, το πρώτο υποψήφιο εμβόλιο για κλινικές δοκιμές. Η αρχική φάση χορήγησης του mRNA 1273 ξεκίνησε με 45 υγιείς εθελοντές ηλικίας 18-55 ετών, κατά την οποία τους χορηγήθηκαν δόσεις των 25 μg, 100 μg και 250 μg. Η δεύτερη δόση δόθηκε 28 ημέρες μετά την αρχική. Οι αναφορές, από τη μελέτη φάσης I, έδειξαν ότι η παραγωγή εξουδετερωτικών αντισωμάτων, καθώς και οι δοσοεξαρτώμενες χυμικές ανοσολογικές αποκρίσεις, ήταν παρόμοιες με αυτές των αναρρωσάντων ασθενών (Jackson et al., 2020). Δόσεις 25 μg και 100 μg αναφέρθηκε ότι επάγουν απόκριση των CD4<sup>+</sup> T κυττάρων, αλλά τα επίπεδα των κυτοκινών που εμπλέκονται στην έκφραση των κυττάρων Th 2 ήταν σε χαμηλή συγκέντρωση (η οποία βρέθηκε ότι ήταν επιζήμια κατά τη διάρκεια των προσπαθειών ανάπτυξης εμβολίων SARS και MERS) (Houser et al., 2017; Liu et al., 2019). Επιπλέον, τα CD8<sup>+</sup> T λεμφοκύτταρα ενεργοποιήθηκαν μόνο με δόση 100 μg. Διεξήχθη επίσης μια μικρή δοκιμή φάσης I που περιελάμβανε 40 ηλικιωμένους σε δύο ηλικιακές ομάδες (56-

70 ετών και 71 ετών και άνω), οι οποίοι έλαβαν τις υψηλότερες ανεκτές δόσεις, δηλαδή 25 μg ή 100 μg Spikevax. Αυτοί οι εθελοντές δημιούργησαν παρόμοια ανοσολογική απόκριση με αυτή της ηλικιακής ομάδας 18-55. Κατά συνέπεια, το Spikevax μπορεί να προκαλέσει ανοσογονικότητα ακόμη και στις λιγότερο ανοσοεπαρκείς και πιο ευάλωτες ηλικιακές ομάδες (Upreti & Samant, 2022). Κατά την χρήση της σε μελέτες εμβολίων φάσης IV, μια δόση 100 μg έχει αποδειχθεί ότι προκαλεί ισχυρές κυτταρομεσολαβούμενες και χυμικές ανοσολογικές αποκρίσεις ενώ, η αποτελεσματικότητα και η ασφάλεια αυτού του εμβολίου επιβεβαιώθηκε ότι είναι 94,1% (Moderna, 2020). Επιπλέον, όταν χορηγήθηκε η τρίτη δόση ως αναμνηστική στους εργαζόμενους στον τομέα της υγείας, 6 έως 9 μήνες μετά τη δεύτερη δόση, το spikevax αναφέρθηκε ότι είναι αποτελεσματικό έναντι της Omicron και των άλλων παραλλαγών του SARS-CoV-2, ενώ η συγκέντρωση των αντισωμάτων διασταυρούμενης εξουδετέρωσης, ήταν υψηλότερη σε άτομα που εμβολιάστηκαν με mRNA-1273, σε σύγκριση με εκείνη των ατόμων που εμβολιάστηκαν με το BNT162b2 (Haveri et al., 2022; Pajon et al., 2022).

## 10.2. Εμβόλια ικών φορέων (Viral Vector)

Ένα Viral Vector εμβόλιο χρησιμοποιεί έναν τροποποιημένο ιικό φορέα για την παροχή γενετικού υλικού (DNA), το οποίο μπορεί να μεταγραφεί από τα κύτταρα-ξενιστές του δέκτη ως mRNA που κωδικοποιεί μια επιθυμητή πρωτεΐνη (ή αντιγόνο) για να προκαλέσει μια ανοσοαπόκριση (εικ. 29) (Sasso et al., 2020). Από τον Απρίλιο του 2021, έξι εμβόλια ικών φορέων έχουν εγκριθεί για χρήση σε ανθρώπους, τέσσερα εμβόλια κατά του SARS-CoV-2 και δύο εμβόλια κατά του Έμπολα (Wang et al., 2019). Τα εμβόλια ικού φορέα δεν προκαλούν μόλυνση, ούτε από τον ιό που χρησιμοποιείται ως φορέας, ούτε από την πηγή του αντιγόνου (Deng et al., 2022) ενώ, το γενετικό υλικό που παρέχει, δεν ενσωματώνεται στο γονιδίωμα του ατόμου (CDC, 2021b). Παράλληλα, αυτά τα εμβόλια επιτρέπουν την έκφραση αντιγόνου εντός των κυττάρων και επάγουν μια ισχυρή απόκριση κυτταροτοξικών Τ-κυττάρων, σε αντίθεση με τα εμβόλια υπομονάδας που προσδίδουν μόνο χυμική ανοσία (εικ. 29) (Ura et al., 2014; Li et al., 2017). Οι περισσότεροι ιικοί φορείς έχουν σχεδιαστεί ώστε να μην μπορούν να αναπαραχθούν επειδή αφαιρούνται τα απαραίτητα για τον διπλασιασμό γονίδια. Προκειμένου να γίνει ευρέως αποδεκτή και να εγκριθεί για ιατρική χρήση, η ανάπτυξη ικού φορέα απαιτεί υψηλό επίπεδο βιολογικής ασφάλειας. Κατά συνέπεια, συχνά επιλέγονται ιοί χαμηλής ή ανύπαρκτης παθογονικότητας. Στις περισσότερες περιπτώσεις, οι ιοί είναι γενετικά κατασκευασμένοι ώστε να είναι ελαττωματικοί στην

αναπαραγωγή (Ura et al., 2014). Παρά το γεγονός ότι οι ιικοί φορείς με ανεπάρκεια αναπαραγωγής είναι γενικά ασφαλέστεροι από τους ιικούς φορείς με ικανότητα αναπαραγωγής, μπορεί να απαιτούν υψηλότερη δόση ή ένα θεραπευτικό σχήμα αρχικής ενίσχυσης, για να προκληθεί επαρκής ανοσία (Travieso et al., 2022). Οι αναπαραγόμενοι φορείς μιμούνται τη φυσική μόλυνση, η οποία διεγείρει την απελευθέρωση κυτοκινών και συν-διεγερτικών μορίων, τα οποία παράγουν ισχυρό ανοσοενισχυτικό αποτέλεσμα. Όταν ένας ιικός φορέας με ανεπάρκεια αντιγραφής δεν προκαλεί τις καταλληλότερες αποκρίσεις, μπορεί να απαιτείται η ενσωμάτωση ενός ανοσοενισχυτικού για την ενίσχυση της ανοσολογικής απόκρισης έναντι του κωδικοποιημένου αντιγόνου (Robert-Guroff et al., 2007). Σε σύγκριση, τέλος, με τις άλλες πλατφόρμες εμβολίων, τα εμβόλια ιικών φορέων είναι πιο σταθερά, κατά συνέπεια απαιτούν λιγότερο αυστηρές συνθήκες αποθήκευσης και χειρισμού.

### **10.2.1. ChAdOx1/AZD1222 (Oxford-AstraZeneca)**

Το εμβόλιο της Oxford–AstraZeneca (AZ) αναπτύχθηκε από έναν φορέα αδενοϊού χιμπατζή με ανεπάρκεια αντιγραφής, ο οποίος κωδικοποιεί την πρωτεΐνη S του SARS-CoV-2 διεγείροντας την ανάπτυξη ειδικών Β κυττάρων για την παραγωγή αντισωμάτων και Τ κυττάρων (Ewer et al., 2021; Pormohammad et al., 2021; Wibawa, 2021). Αυτό το ανοσογόνο, γνωστό και ως ChAdOx1 και αργότερα ως AZD1222, αναπτύχθηκε από το Πανεπιστήμιο της Οξφόρδης σε συνεργασία με την AstraZeneca. Σε ένα δείγμα κοόρτης (n= 380), η απόκριση της πρωτεΐνης IgG anti-S έναντι της λοίμωξης COVID-19 ήταν επαρκής, με το μέγιστο των IgG anti-S να εμφανίζεται στις 107, 101,5 και 70,2 ημέρες σε ηλικιακές ομάδες 18-55 ετών, 56–69 και άνω των 70 ετών αντίστοιχα. Σε κλινικές δοκιμές φάσης I/II, αποδείχθηκε ότι τα ειδικά για IgG αντισώματα SARS-CoV-2, που προκλήθηκαν μετά τον εμβολιασμό AZD1222, κορυφώθηκαν στις 14–28 ημέρες (Falsey et al., 2021b; Knoll et al., 2021; Ramasamy et al., 2021; Asano et al., 2022), ενώ δοκιμές φάσης II/III του AZD1222 έδειξαν συνολική αποτελεσματικότητα 70,4% (Falsey et al., 2021b; Knoll et al., 2021; Francis et al., 2022).

Στη συνέχεια, η αποτελεσματικότητα του εμβολίου AZD1222 μετρήθηκε μετά την εφαρμογή του και οι πρώτες δόσεις του αναφέρθηκαν ότι παράγουν ισοδύναμα επίπεδα αποκρίσεων αντισωμάτων και Τ-κυττάρων με το BNT162b2. Ως εκ τούτου, τα ποσοστά νοσηλείας COVID-19 μειώθηκαν σημαντικά μετά από μία δόση (Jeewandara et al., 2021). Στη συνέχεια, σε κλινικές δοκιμές πραγματικού περιβάλλοντος, οι Müller et al. (2022) παρατήρησαν ότι οι κύριοι ισότυποι αντισωμάτων που παρήχθησαν ήταν IgM

και IgG. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε αξιολόγηση των αποκρίσεων IgG και IgA ορού, έναντι καθενός από τους τομείς υπομονάδας SARS-CoV-2 (πρωτεΐνες S1, S2, RBD και N) τριών παραλλαγών SARS-CoV-2 (Alpha, Beta και Gamma) και διαπίστωσαν ότι η IgG, σε καθεμία από αυτές τις τέσσερις πρωτεΐνες SARS-CoV-2, αυξήθηκε από την 4<sup>η</sup> έως τη 12<sup>η</sup> εβδομάδα, με τα αντισώματα κατά της S2 να έχουν σημαντικά χαμηλότερες αποκρίσεις IgA σε κάθε παραλλαγή, γεγονός που συμφωνεί με προηγούμενες ερευνητικές μελέτες. Διαπιστώθηκε επίσης ότι η πρώτη δόση του εμβολίου AZD1222 αύξησε την IgA ορού μεταξύ 4 και 12 εβδομάδων (Jayathilaka et al., 2022). Άλλες μελέτες διαπίστωσαν ότι, μετά τη μόλυνση, μια μόνο δόση AZD1222 ήταν αρκετή για να προστατεύσει τους ασθενείς με SARS-CoV-2 από επαναμόλυνση, ενώ λειτούργησε ως αναμνηστική δόση (Havervall et al., 2021; Jamiruddin et al., 2021; Parai et al., 2021). Σε όσους είχαν ιστορικό μόλυνσης πριν από την πρώτη δόση, οι αυξημένοι τίτλοι μειώθηκαν σταδιακά μεταξύ 56<sup>ης</sup> και 76<sup>ης</sup> ημέρας (Amirthalingam et al., 2021). Σε πρωτογενείς λήπτες εμβολίων, ανεξαρτήτου φύλου, οι αποκρίσεις πρωτεΐνης IgG anti-RBD/S1 μετά την αρχική δόση ήταν 99,9%, ενώ μετά την δεύτερη δόση, η οποία χορηγήθηκε 74 ημέρες μετά, ήταν 100% (Hoque et al., 2021). Κατά συνέπεια, το διευρυμένο αυτό διάστημα μεταξύ των δύο δόσεων φαίνεται να λειτούργησε καλύτερα σε σύγκριση με το τυπικό διάστημα των 3 με 4 εβδομάδων εβδομάδων (Amirthalingam et al., 2021; Flaxman et al., 2021; Hung & Poland, 2021; Jeewandara et al., 2022). Παράλληλα, έρευνα έδειξε ότι μετά την πρώτη δόση, το εμβόλιο AZD1222 παρήγαγε μια ισχυρή χυμική απόκριση, η οποία παρέμεινε και μετά τη δεύτερη δόση του εμβολίου. Σε αυτή τη μελέτη, πραγματοποιήθηκε σύγκριση ευαισθησίας μεταξύ διαφορετικών ανιχνευτικών μεθόδων μετά την πρώτη δόση του AZD1222, παρουσιάζοντας ένα εύρος οροθετικότητας από 75,4% έως 89,3% (Nam et al., 2021; Silva et al., 2021). Οι αποκρίσεις αυτές δεν συσχετίστηκαν με την ηλικία ή το φύλο, αλλά επέδειξαν δραματική μείωση στα nAbs από 70,1% στις 4 εβδομάδες, σε 49,2% στις 8 εβδομάδες (Lee et al., 2021). Μετά τη δεύτερη δόση AZD1222, τα επίπεδα πρωτεΐνης αντι-S IgG κορυφώθηκαν ύστερα από 21 ημέρες, ενώ μειώθηκαν σταδιακά μετά το πέρας αυτών, ωστόσο ήταν ανιχνεύσιμα στον ορό για έως και έξι μήνες (Choudhary et al., 2021; Mishra et al., 2021; Shrotri et al., 2021; Robertson et al., 2022; Wei et al., 2022). Ομοίως, τα nAbs που προκλήθηκαν από την ανοσοποίηση AZD1222 άρχισαν να μειώνονται (Lim et al., 2022; Terpos et al., 2022). Τα αντισώματα IgG έναντι της RBD από άτομα που εμβολιάστηκαν με AZD1222, προκαλούσαν μια ευρέως διασταυρούμενη αντίδραση έναντι πολλαπλών VOCs και ήταν δραστικά έναντι των

παραλλαγών Beta και Delta (Chibwana et al., 2022). Μια άλλη αναφορά έδειξε ότι αυτή η απόκριση παρατηρήθηκε ακόμη και ένα μήνα μετά την πρώτη δόση του εμβολίου AZD1222, αλλά δεν απέτρεψε την ήπια ή μέτρια νόσηση COVID-19 από την παραλλαγή Beta (Madhi et al., 2021). Αντίθετα, ο εμβολιασμός AZD1222, απέτρεψε τη μόλυνση και τη μετάδοση από τον SARS-CoV-2 των παραλλαγών Alpha και Delta (Wall et al., 2021; Emary et al., 2021; Eyre et al., 2022). Τέλος, παρά την ικανότητα της παραλλαγής Omicron να διαφεύγει τα nAbs, το AZD1222 (n= 3513) αποδείχθηκε ότι μειώνει την πιθανότητα εμφάνισης πνευμονίας σε άτομα που έλαβαν δύο δόσεις εμβολίου, για έως και 6 μήνες (Murillo-Zamora et al., 2022).

#### **10.2.2. JNJ-78436725/Ad.26.COV2.S (Janssen)**

Η Janssen Pharmaceuticals (Johnson & Johnson, Η.Π.Α.) έχει αναπτύξει ένα μονοδοσικό εμβόλιο το JNJ-78436725, ή Ad.26.COV2.S, το οποίο δεν απαιτεί την αποθήκευση σε συνθήκες ακραίου ψύχους, όπως άλλα εμβόλια, καθιστώντας το κατάλληλο για χώρους χωρίς προηγμένη ψύξη. Αυτό το εμβόλιο χρησιμοποιεί έναν φορέα αδενοϊού για την παροχή ενός γονιδίου που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη ακίδας SARS-CoV-2. Στις 27 Φεβρουαρίου 2021, η Food and Drug Administration στις Ηνωμένες Πολιτείες (FDA) χορήγησε άδεια χρήσης έκτακτης ανάγκης (EUA) για χρήση του εμβολίου σε άτομα ηλικίας 18 ετών και άνω (Bellamkonda et al., 2022). Στις 12 Μαρτίου 2021, η Ιταλία ενέκρινε το εμβόλιο με βάση την αποτελεσματικότητά του στην πρόληψη σοβαρών συμπτωμάτων και στη μείωση των νοσηλείων και των θανάτων.

Συγκεκριμένα, το εμβόλιο επέδειξε 77% αποτελεσματικότητα έναντι της νόσου μετά από 14 ημέρες και 85% μετά από 28 ημέρες, ενώ τα διαθέσιμα δεδομένα υποδεικνύουν ότι η αποτελεσματικότητά του είναι ίδια και για άτομα άνω των 65 ετών (Sadoff et al., 2021; Bellamkonda et al., 2022). Το εμβόλιο συνδυάζει τα γονίδια για τις πρωτεΐνες της ακίδας του SARS-CoV-2 με τροποποιημένο DNA του αδενοϊού 26, ενός αναπνευστικού ιού ο οποίος έχει αποδειχθεί ότι δεν βλάπτει τον άνθρωπο. Το DNA εισέρχεται στο κυτταρόπλασμα και στη συνέχεια μεταναστεύει στον πυρήνα, όπου και μεταγράφεται σε mRNA, το οποίο στη συνέχεια μπορεί να μεταφραστεί ώστε ο ξενιστής να δημιουργήσει πρωτεΐνες ακίδας, ενώ το DNA του αδενοϊού παραμένει διακριτό από το DNA του κυττάρου-ξενιστή. Οι ιικές πρωτεΐνες ακίδας εμφανίζονται στην επιφάνεια των κυττάρων-ξενιστών, γεγονός που οδηγεί σε ανοσολογική αναγνώριση και πυροδοτεί τον σχηματισμό T-κυττάρων CD4+ και CD8+, πλασματοκυττάρων, ιντερλευκίνης (IL) και

B-κυττάρων (Grifoni et al., 2020). Τα T-κύτταρα στοχεύουν τα μολυσμένα κύτταρα του ξενιστή, ενώ τα αντισώματα στοχεύουν ελεύθερα ιικά σωματίδια, αποτρέποντας περαιτέρω μόλυνση. Το εμβόλιο Johnson & Johnson βρέθηκε ότι είναι 66% αποτελεσματικό στην πρόληψη της μέτριας και σοβαρής νόσου 28 ημέρες μετά τον εμβολιασμό. Το 2021, η Janssen Pharmaceuticals ανέφερε ότι το εμβόλιο ήταν 85% αποτελεσματικό στην πρόληψη σοβαρής νόσησης και 100% αποτελεσματικό στην πρόληψη του θανάτου από την COVID-19, ενώ σε διάστημα 49 ημερών από τη λήψη της δόσης, παρατηρήθηκαν αντισώματα και δεν σημειώθηκαν θάνατοι ή νοσηλεία στους λήπτες του εμβολίου (Inside precision medicine, 2021; National Institutes of Health, 2021).

### **10.2.3. Sputnik V (Gamaleya Research Institute of Epidemiology and Microbiology)**

Το εμβόλιο παρήχθη από το Ερευνητικό Ινστιτούτο Gamaleya στη Ρωσία και είναι το πρώτο στον κόσμο, που χρησιμοποιήθηκε κατά του SARS-CoV-2 στις 11 Αυγούστου του 2020. Χρησιμοποιήθηκε κυρίως στη Ρωσία καθώς και σε άλλες χώρες μεταξύ των οποίων η Σερβία, η Αργεντινή, η Αλγερία, η Βολιβία, η Βενεζουέλα, η Αρμενία, η Παραγουάη, τα Ηνωμένα Αραβικά Εμιράτα, η Τυνησία, το Ιράν, ενώ η Ουγγαρία ήταν η πρώτη ευρωπαϊκή χώρα που ενέκρινε το εμβόλιο για επείγουσα χρήση. Το Sputnik V χρησιμοποιεί δύο ξεχωριστούς φορείς αδενοϊού (Ad 26 και Ad 5), οι οποίοι πιθανολογείται ότι μπορεί να παράγουν καλύτερη και πιο εκτενή ανοσολογική απόκριση, σε σχέση με τα εμβόλια ενός φορέα και στις δύο δόσεις τους. Το Sputnik V δύο δόσεων περιέχει δύο διακριτούς αδενοϊούς, τον φορέα αδενοϊού 26 στην πρώτη δόση και του αδενοϊού 5 στη δεύτερη δόση. Το εμβόλιο λειτουργεί παρόμοια με τα εμβόλια Johnson & Johnson και AstraZeneca, με τον φορέα αδενοϊού να μολύνει τα κύτταρα με ένα κατασκευασμένο θραύσμα DNA που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη S του SARS-CoV-2, η οποία είναι ικανή να προκαλέσει ανοσολογική απόκριση μέσω ενεργοποίησης των T-κυττάρων, καθώς και την παραγωγή αντισωμάτων, τα οποία δύναται να προστατεύσουν τους ανθρώπους από επαναλοιμώξεις. Ο φορέας αδενοϊού δεν μπορεί να πολλαπλασιαστεί στα ανθρώπινα κύτταρα (Sputnik Vaccine, 2023).

Σε δοκιμές φάσης III (n=19866), 14.964 εθελοντές έλαβαν δύο δόσεις εμβολίου και 4902, ή περίπου το ένα τέταρτο, έλαβαν εικονικό εμβόλιο (Jones & Roy, 2021). Συμπτωματική λοίμωξη COVID-19 βρέθηκε σε 16 περιπτώσεις στην ομάδα του εμβολίου, 21 ημέρες μετά την πρώτη δόση, σε σύγκριση με 62 περιπτώσεις στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου, με αποτέλεσμα το ποσοστό αποτελεσματικότητας να



ανέρχεται στο 91,6%. Ωστόσο, η ισχυρή αυτή ανοσολογική απόκριση θα μπορούσε να είναι αποτέλεσμα της χρήσης δύο διαφορετικών φορέων αδενοϊού σε καθεμία από τις δύο δόσεις (Logunov et al., 2021).

### 10.3. Αδρανοποιημένα εμβόλια

Τα αδρανοποιημένα εμβόλια χρησιμοποιούν μια μη βιώσιμη μορφή του παθογόνου και είναι γενικά η ταχύτερη επιλογή για ανοσοποιήσεις κατά των ιών (εικ. 29). Οι αδρανοποιημένοι ιοί είναι πολλά υποσχόμενοι επειδή εμφανίζουν πολυάριθμες ικές πρωτεΐνες για ανοσολογική ταυτοποίηση, έχουν σταθερή έκφραση αντιγονικών επιτόπων, ενώ μπορούν να παραχθούν γρήγορα και μαζικά. Ιστορικά, οι αδρανοποιημένοι ιοί έχουν χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή εμβολίων και έχουν συμβάλει στην πρόληψη ιογενών λοιμώξεων, όπως η πολιομυελίτιδα (Dong et al., 2020). Μέχρι σήμερα, έχουν χρησιμοποιηθεί διαφορετικές χημικές και φυσικές μέθοδοι για την αδρανοποίηση των κορονοϊών, συμπεριλαμβανομένης της χρήσης φορμαλίνης, φορμαλδεΰδης, προπιολακτόνης και υπεριώδους ακτινοβολίας, μόνο ή ενός μείγματος αυτών των τεχνικών (Fathizadeh et al., 2021). Ο μηχανισμός δράσης με τον οποίο δημιουργείται η ανοσολογική απόκριση από αδρανοποιημένο εμβόλιο απεικονίζεται στην εικόνα 28. Τα ανοσοενισχυτικά είναι απαραίτητα για την πρόκληση μιας αποτελεσματικής και ισχυρής ανοσολογικής απόκρισης, επειδή αυτά τα εμβόλια παρέχουν ασθενέστερη ανοσία από τα «ζωντανά» εμβόλια, ενώ την ίδια στιγμή για την εξασφάλιση μακροπρόθεσμης προστασίας, απαιτούνται περιοδικές αναμνηστικές δόσεις, γεγονός που αποτελεί το βασικό μειονέκτημα των αδρανοποιημένων εμβολίων (Bellamkonda et al., 2022).

#### 10.3.1. CoronaVac/ Sinovac (Sinovac)

Το CoronaVac, ή Sinovac COVID-19, είναι ένα αδρανοποιημένο εμβόλιο, το οποίο δημιουργήθηκε από την κινεζική εταιρεία βιοτεχνολογίας Sinovac. Ένα στέλεχος SARS-CoV-2 από την Κίνα επιλέχθηκε και αναπτύχθηκε σε κύτταρα Vero. Ο ιός απενεργοποιήθηκε χρησιμοποιώντας βήτα-προπιολακτόνη, η οποία προσκολλάται στα γονίδια-γενετικές περιοχές και αφήνει, σε μεγάλο βαθμό ανέπαφα, τον ιό και τις πρωτεΐνες του. Στον απενεργοποιημένο ιό προστέθηκε υδροξείδιο του αργιλίου ως ανοσοενισχυτικό. Οι δοκιμές φάσης II του Sinovac που περιελάμβαναν 600 ασθενείς στους οποίους χορηγήθηκαν δόσεις είτε 3 μg, είτε 6 μg ακολουθούμενες από αναμνηστική δόση, δύο είτε τέσσερις εβδομάδες μετά την πρώτη, αποκάλυψαν ότι το εμβόλιο ήταν ασφαλές σε υγιείς ενήλικες, με τη δόση των 3 μg να προκαλεί 92,4%

ορομετατροπή και παραγωγή αντισωμάτων μετά από 14 ημέρες και 97,4% μετά από 28 ημέρες (Fathizadeh et al., 2021).

### **10.3.2. BBIBP-CorV (Sinopharm's Beijing Institute of Biological Products)**

Το BBIBP-CorV ή Sinopharm BIBP COVID-19 είναι επίσης ένα αδρανοποιημένο εμβόλιο, το οποίο δημιουργήθηκε από το Sinopharm's Beijing Institute of Biological Products στην Κίνα. Για την ανάπτυξή του, χρησιμοποιήθηκε παρόμοια τεχνολογία όπως του CoronaVac, δηλαδή ανάπτυξη σε κύτταρα Vero, αδρανοποίηση με βήτα-προπιολακτόνη και προσθήκη υδροξειδίου του αργιλίου ως ανοσοενισχυτικό (Wang H. et al., 2020). Έρευνα έχει αποδείξει ότι είναι ασφαλές και καλώς ανεκτό για όλες τις δόσεις που δοκιμάστηκαν σε διάφορες ηλικιακές ομάδες. Συγκεκριμένα, την 42<sup>η</sup> ημέρα, όλοι οι λήπτες του εμβολίου είχαν χυμικές ανοσολογικές αποκρίσεις κατά του SARS-CoV-2, ενώ παράλληλα διαπιστώθηκε ότι το εμβολιαστικό σχήμα δύο δόσεων με 4g τις ημέρες 0 και 21 ή τις ημέρες 0 και 28, οδήγησε σε ισχυρότερους τίτλους εξουδετερωτικών αντισωμάτων, σε σχέση με μία εφάπαξ δόση των 8g ή μια δόση των 4g τις ημέρες 0 και 14 (Dong et al., 2020).

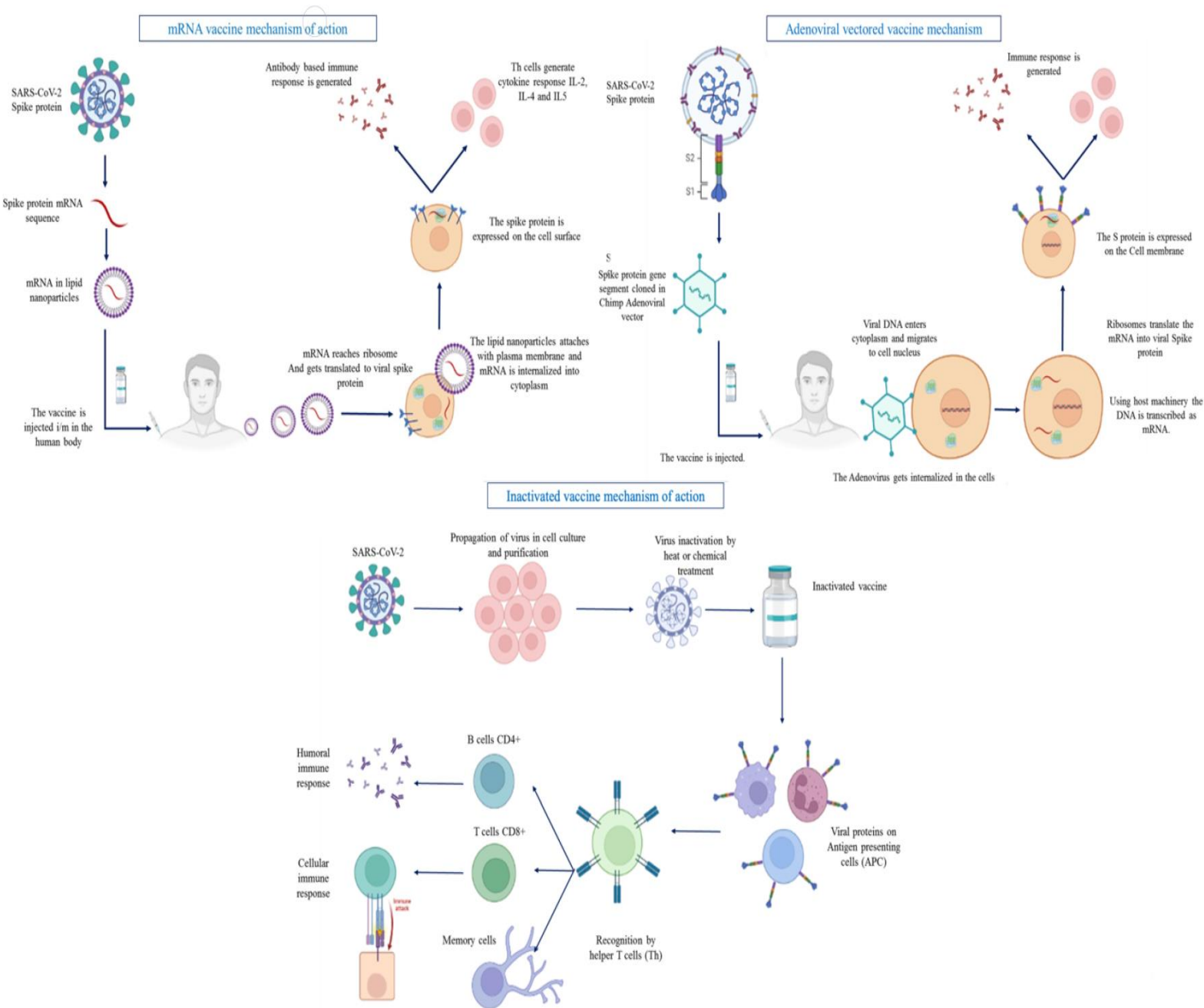
### **10.3.3. WIBP-CorV (Sinopharm)**

Το WIBP-CorV SARS-CoV-2 είναι ένα ακόμη εμβόλιο που παράγεται από τη Sinopharm, το οποίο παρήχθη παρόμοια με τα άλλα προαναφερθέντα αδρανοποιημένα εμβόλια. Οι κλινικές δοκιμές φάσης I και II έδειξαν ότι μέχρι τη 14<sup>η</sup> ημέρα μετά τη δεύτερη δόση, το 100% των ατόμων είχαν δεσμευτικά αντισώματα έναντι ολόκληρου του απενεργοποιημένου SARS-CoV-2, ενώ το 98% είχε εξουδετερωτικά αντισώματα, με μικρές μόνο παρενέργειες (Dong et al., 2020).

### **10.3.4. Covaxin (Bharat Biotech)**

Το εμβόλιο Covaxin που αναπτύχθηκε από την Bharat Biotech σε συνεργασία με το Council of Medical Research της Ινδίας, είναι ένα εμβόλιο δύο δόσεων αδρανοποιημένου ιού κατά της COVID-19. Με τρόπο παρόμοιο με τα εμβόλια Sinopharm και Sinovac, ένα στέλεχος SARS-CoV-2 αναπτύσσεται σε μεγάλες ποσότητες κυττάρων Vero. Ο ιός στη συνέχεια καθαρίζεται και βυθίζεται σε βήτα-προπιολακτόνη για να αδρανοποιηθεί, επιτρέποντας στον ιό να παραμείνει ανέπαφος, ενώ τέλος, στον αδρανοποιημένο ιό προστίθεται Alhydroxiqum-II. Η Bharat Biotechnology υποστηρίζει συνολική αποτελεσματικότητα 65% έναντι της παραλλαγής Delta, με 98% αποτελεσματικότητα στην πρόληψη σοβαρών συμπτωμάτων COVID-19

(Talukder et al., 2022). Μετά την πρώτη δόση, το 48% είχε nAbs, τα οποία αυξήθηκαν σε 97% μετά τη δεύτερη δόση (Ella et al., 2021).



Εικόνα 28: Μηχανισμός δράσης και ανοσοαπόκριση από εμβόλια mRNA, εμβόλια αδενοϊών και αδραντοποιημένα εμβόλια. Πηγή: Bellamkonda et al., 2022.

#### 10.4. Εμβόλια DNA, ZyCoV-D

Το ZyCoV-D είναι ένα εμβόλιο που βασίζεται σε DNA πλασμίδιο, το οποίο αναπτύχθηκε από την ινδική φαρμακευτική εταιρεία Cadila Healthcare, με την υποστήριξη του Biotechnology Industry Research Assistance Council ενώ, έχει εγκριθεί για χρήση έκτακτης ανάγκης στην Ινδία. Το εμβόλιο περιέχει έναν πλασμιδιακό φορέα DNA που φέρει το γονίδιο που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη ακίδας του SARS-CoV-2. Όπως και με άλλα εμβόλια DNA, τα κύτταρα του δέκτη στη συνέχεια παράγουν την πρωτεΐνη ακίδας, προκαλώντας μια προστατευτική ανοσοαπόκριση (εικ. 29). Το πλασμίδιο περιέχει επίσης μη μεθυλιωμένα μοτίβα CpG για την ενίσχυση των ανοσοδιεγερτικών ιδιοτήτων του, ενώ παράγεται χρησιμοποιώντας κύτταρα *E. coli* (Dey et al., 2021). Το εμβόλιο χορηγείται ως ενδοδερμική ένεση με χρήση ελατηριωτοποιημένου jet injector (Raghavan, 2021). Αυτό συμβαίνει διότι η επιτυχής μόλυνση μέσω του εμβολίου απαιτεί τη διάβαση του DNA, τόσο διαμέσου της κυτταροπλασματικής μεμβράνης, όσο και της πυρηνικής μεμβράνης, καθώς η χρήση συμβατικής βελόνας δίνει φτωχά αποτελέσματα και οδηγεί σε χαμηλή ανοσογονικότητα (Rauch et al., 2018; Jiang et al., 2019). Την 1<sup>η</sup> Ιουλίου του 2021, η Cadila Healthcare ανέφερε ότι η αποτελεσματικότητα του εμβολίου ήταν 66,6% έναντι του συμπτωματικού COVID-19 και 100% έναντι της μέτριας ή σοβαρής νόσου στην ενδιάμεση ανάλυση των δεδομένων της δοκιμής φάσης III (Chandra Sharma, 2021; Khobragade et al., 2022).

#### 10.5. Εμβόλια πρωτεϊνικής υπομονάδας

Τα εμβόλια υπομονάδας βασίζονται σε πρωτεΐνες και για να παράγουν με ασφάλεια μια ανοσολογική απόκριση, χρησιμοποιούν αβλαβή θραύσματα πρωτεϊνών τα οποία μοιάζουν με την πρωτεΐνη S. Παρόμοια με άλλους μηχανισμούς εμβολίων για την COVID-19, τα εμβόλια υπομονάδας προκαλούν ανοσολογικές αποκρίσεις στην πρωτεΐνη S του SARS-CoV-2 (εικ. 29). Η πρωτεΐνη S, πριν από τη δέσμευση των υποδοχέων στην κυτταρική μεμβράνη, βρίσκεται σε μια διαμόρφωση προ-σύντηξης, η οποία υφίσταται σημαντική αναδιάταξη κατά τη σύντηξη ιού-κυττάρου. Οι ανοσοαποκρίσεις που δημιουργούνται από το εμβόλιο στοχεύουν την πρωτεΐνη S πριν από τη σύντηξή της, γεγονός το οποίο λειτουργεί προστατευτικά, περιορίζοντας την μετάδοση. Η πρωτεΐνη S αποτελείται από μια αμινοτελική περιοχή σύνδεσης υποδοχέα S1 (RBD) και μια καρβοξυτελική υπομονάδα S2. Η υπομονάδα S1 είναι ένας δημοφιλής στόχος για την ανάπτυξη των εμβολίων, καθώς αυτή είναι η κύρια περιοχή που εμπλέκεται κατά την είσοδο του ιού στο κύτταρο. Για παράδειγμα, ένα πολυκλωνικό

αντίσωμα που κατευθύνεται ενάντια σε διάφορους άλλους επιτόπους της πρωτεΐνης S, εκτός από την RBD, μπορεί να είναι αποτελεσματικό στην παρεμπόδιση της ιικής προσκόλλησης, προσφέροντας επιπλέον εξουδετερωτική ικανότητα ή/και προλαμβάνοντας την σύντηξη μετά τη σύνδεση. Ένα εμβόλιο που στοχεύει πολλούς επιτόπους μπορεί επίσης να μειώσει τον κίνδυνο ανοσολογικής διαφυγής μέσω μετάλλαξης. Για να ενισχυθεί η σταθερότητα αυτών των εμβολίων, οι πρωτεΐνες, οι οποίες είναι συχνά ασταθείς, συσκευάζονται μέσα σε νανοσωματίδια και προσροφώνται σε ανοσοενισχυτικά (Sadarangani et al., 2021). Τα γενετικά τροποποιημένα εμβόλια υπομονάδων, αλλιώς γνωστά ως εμβόλια ανασυνδυασμένης πρωτεΐνης, κατασκευάζονται με ενσωμάτωση γονιδίων-στόχων παθογόνων μικροοργανισμών σε έναν φορέα, ο οποίος στη συνέχεια εγχέεται σε έναν βιομηχανικό οργανισμό προκειμένου να εκφραστεί το αντιγόνο που ενδιαφέρει. Στη συνέχεια, αυτές οι πρωτεΐνες εξάγονται από τους οργανισμούς και χρησιμοποιούνται σε εμβόλια για να προκαλέσουν μια ανοσολογική απόκριση. Η αντιγονικότητα αυτών των εμβολίων είναι στενά συνδεδεμένη με τους μηχανισμούς έκφρασής τους. Επί του παρόντος, ζυμομύκητες, κύτταρα εντόμων, κύτταρα θηλαστικών και βακτήρια είναι οι πιο κοινές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την έκφραση του αντιγόνου για τη δημιουργία εμβολίων υπομονάδας. Τα εμβόλια ανασυνδυασμένων πρωτεϊνών παρέχουν υψηλό επίπεδο εγγενούς ασφάλειας και σταθερότητας. Επιπλέον, μπορούν να κατασκευαστούν σε μεγάλες ποσότητες, καθιστώντας τα ιδανικά για προγράμματα μαζικού εμβολιασμού. Ωστόσο, τα συγκεκριμένα εμβόλια έχουν έναν αριθμό μειονεκτημάτων, συμπεριλαμβανομένης της κακής ανοσογονικότητας, του σύντομου χρόνου ανοσοποίησης, της εξάρτησης από το χρόνο ανοσοποίησης καθώς και του τύπου του ανοσοενισχυτικού. Επί του παρόντος, τα εμβόλια ανασυνδυασμένης πρωτεΐνης COVID-19 χρησιμοποιούν την επιφανειακή πρωτεΐνη S του SARS-CoV-2 ως αντιγόνο-στόχο. Ειδικότερα, τα εμβόλια ανασυνδυασμένης πρωτεΐνης έχουν την ικανότητα να δημιουργούν, τόσο βλεννογονική, όσο και χυμική ανοσία. Η αποτελεσματικότητα της ανοσοποίησης μπορεί να βελτιωθεί με το συνδυασμό εμβολίων DNA και εμβολίων ανασυνδυασμένης πρωτεΐνης (Peng et al., 2021).

#### **10.5.1. NVX-CoV2373 (Novavax)**

Το εμβόλιο NVX-CoV2373 της Novavax, αποτελείται από μία πλήρους μήκους ανασυνδυασμένη γλυκοπρωτεΐνη σχεδιασμένη με μεταλλάξεις, ώστε να είναι ανθεκτική στην πρωτεάση στις θέσεις διάσπασης S1/S2, έχοντας δύο υποκαταστάσεις προλίνης για τη σταθεροποίηση της πρωτεΐνης σε διάταξη προσύντηξης, καθιστώντας την ανθεκτική

έναντι της πρωτεολυτικής αποικοδόμησης. Οι μεταλλάξεις αυτές παρέχουν αφενός μεν, αντίσταση στην πρωτεάση, αφετέρου δε, ισχυρή σύνδεση με υψηλή συγγένεια με τον ACE2 υποδοχέα, σε συνδυασμό με ανοσοενισχυτικό με βάση τη σαπωνίνη (Matrix-M1). Η προσθήκη ανοσοενισχυτικού είναι απαραίτητη ώστε το κύτταρο-ξενιστής να προσλαμβάνει περισσότερη πρωτεΐνη διασφαλίζοντας μακροπρόθεσμη ανοσοποιητική απόκριση. Είκοσι μία ημέρες μετά την πρώτη δόση παρατηρήθηκαν δεσμευτικά αντισώματα έναντι της πρωτεΐνης S, τα οποία αυξήθηκαν σημαντικά μετά τη δεύτερη δόση ενώ, την ίδια στιγμή, μετά την πρώτη δόση ανιχνεύθηκαν nAbs, τα οποία αυξήθηκαν 7 ημέρες μετά τη δεύτερη δόση (Fathizadeh et al., 2021). Το Novavax αναφέρθηκε ότι είχε 89,7% αποτελεσματικότητα σε μια δοκιμή που αφορούσε το στέλεχος B.1.1.7 στο Ηνωμένο Βασίλειο. Ωστόσο, σε ένα μικρότερο και λιγότερο στοιχειωθετημένο πείραμα στη Νότια Αφρική, όπου η μεγάλη πλειονότητα των λοιμώξεων προκλήθηκε από τον τύπο B.1.351, η αποτελεσματικότητά του έπεσε κατακόρυφα στο 60% (Mascellino et al., 2021).

#### **10.5.2. EpiVacCorona (State Research Center of Virology and Biotechnology VECTOR)**

Το EpiVacCorona αναπτύχθηκε από το Ρωσικό Κέντρο Ιολογίας VECTOR. Είναι ένα εμβόλιο το οποίο βασίζεται σε πεπτίδια και αποτελείται από τρία χημικά παραγόμενα πεπτίδια ενωμένα με μια μεγάλη πρωτεΐνη φορέα. Συγκεκριμένα, επιλέχθηκαν διατηρημένοι επίτοποι της πρωτεΐνης S, οι οποίοι συζεύχθηκαν με μια χημική ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη φορέα. Μια κλινική δοκιμή φάσης II στη Ρωσία, έδειξε αντισώματα στο 100% των συμμετεχόντων μετά τον εμβολιασμό ενώ, έχουν πραγματοποιηθεί κλινικές δοκιμές τρίτης φάσης, χωρίς ωστόσο τα αποτελέσματα αυτών, να έχουν δημοσιοποιηθεί (Ryzhikov et al., 2021).

#### **10.5.3. MVC COVID-19/ Medigen COVID-19**

Το MVC COVID-19, ή Medigen COVID-19, είναι ένα εμβόλιο πρωτεϊνικής υπομονάδας, το οποίο παράγεται από κοινού από την Medigen Vaccine Biologics Corporation στην Ταϊβάν, την Dynavax Technologies και τα National Institutes of Health (NIH) στις Ηνωμένες Πολιτείες. Η ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη ακίδας S-2P χρησιμοποιείται για την παρασκευή αυτού του εμβολίου. Είναι ενισχυμένο με το CpG 1018 της Dynavax, το οποίο χρησιμοποιήθηκε παλαιότερα σε εγκεκριμένο από τον FDA εμβόλιο κατά της ηπατίτιδας Β ενηλίκων (Hsieh et al., 2021).



#### **10.5.4. Zifivax/ZF2001/ ZF-UZ-VAC-2001 (Anhui Zhifei Longcom Biopharmaceutical)**

Το Zifivax, γνωστό και ως ZF2001 ή ZF-UZ-VAC-2001, είναι ένα ανοσοενισχυμένο εμβόλιο πρωτεϊνικής υπομονάδας, το οποίο αναπτύχθηκε από την κινεζική εταιρεία Anhui Zhifei Longcom Biopharmaceutical. Το ZF2001 βασίζεται στην ίδια τεχνολογία με άλλα πρωτεϊνικά εμβόλια και χορηγείται σε τρεις δόσεις σε διάστημα δύο μηνών. Η εταιρεία Longcom ανακοίνωσε ότι τα πρώιμα δεδομένα από μια κινεζική μελέτη φάσης ΙΙΙ με n=28.500 άτομα τον Αύγουστο του 2021, έδειξαν συνολική αποτελεσματικότητα 82% έναντι οποιασδήποτε σοβαρότητας νόσησης. Η παραλλαγή Alpha είχε ποσοστό αποτελεσματικότητας 93%, ενώ η παραλλαγή Delta είχε ποσοστό αποτελεσματικότητας 78% (Yang S. et al., 2021).

#### **10.5.5. Corbevax**

Το Corbevax είναι ένα εμβόλιο πρωτεϊνικής υπομονάδας, το οποίο αναπτύχθηκε σε συνεργασία μεταξύ της ινδικής φαρμακευτικής εταιρείας Biological, του Baylor College of Medicine στο Χιούστον του Τέξας και της Dynavax. Το εμβόλιο περιέχει μια παραλλαγή της περιοχής δέσμευσης υποδοχέα της πρωτεΐνης ακίδας του SARS-CoV-2 (RBD), καθώς και τα ανοσοενισχυτικά γέλη υδροξειδίου του αργιλίου και CpG 1018 (Bellamkonda et al., 2022).

#### **10.5.6. Soberana 02/ PastoCovac/ FINLAY-FR-2**

Το Soberana 02, PastoCovac ή FINLAY-FR-2 είναι ένα εμβόλιο το οποίο αναπτύχθηκε από το Ινστιτούτο Finlay στην Κούβα και το Ινστιτούτο Παστέρ του Ιράν. Είναι διδοσικό, χορηγείται με διάστημα 28 ημερών, ενώ υπάρχει μια τρίτη επιλογή αναμνηστικής δόσης 56 ημέρες μετά την πρώτη δόση. Αποτελείται από τον τομέα δέσμευσης υποδοχέα της πρωτεΐνης S του SARS-CoV-2, ο οποίος συζεύγνυται χημικά με τοξοειδές του τετάνου. Στο Ιράν εγκρίθηκε για επείγουσα χρήση τον Ιούνιο του 2021, ενώ στην Κούβα επετράπη για παιδιά άνω των δύο ετών τον Αύγουστο του 2021. Μετά από δύο μόνο δόσεις, οι κλινικές δοκιμές φάσης ΙΙΙ με 44.000 συμμετέχοντες έδειξαν ότι το εμβόλιο είχε 92,45% αποτελεσματικότητα (Mallapaty et al., 2021).

### **10.6. Κινητική των αντισωμάτων μετά τον εμβολιασμό**

Η κινητική των αντισωμάτων μετά τον εμβολιασμό εξαρτάται από το είδος του εμβολίου που χρησιμοποιείται. Τα εμβόλια mRNA, BNT162b2 και mRNA-1273, προκαλούν υψηλή απόκριση εξουδερωτικών αντισωμάτων, τα οποία ωστόσο μειώνονται εντός 6-8 μηνών μετά τον εμβολιασμό (Collier et al., 2021; Falsey et al., 2021a; Pegu et al., 2021; Brunner et al., 2022), ενώ τα εμβόλια φορέα αδενοϊού έχουν

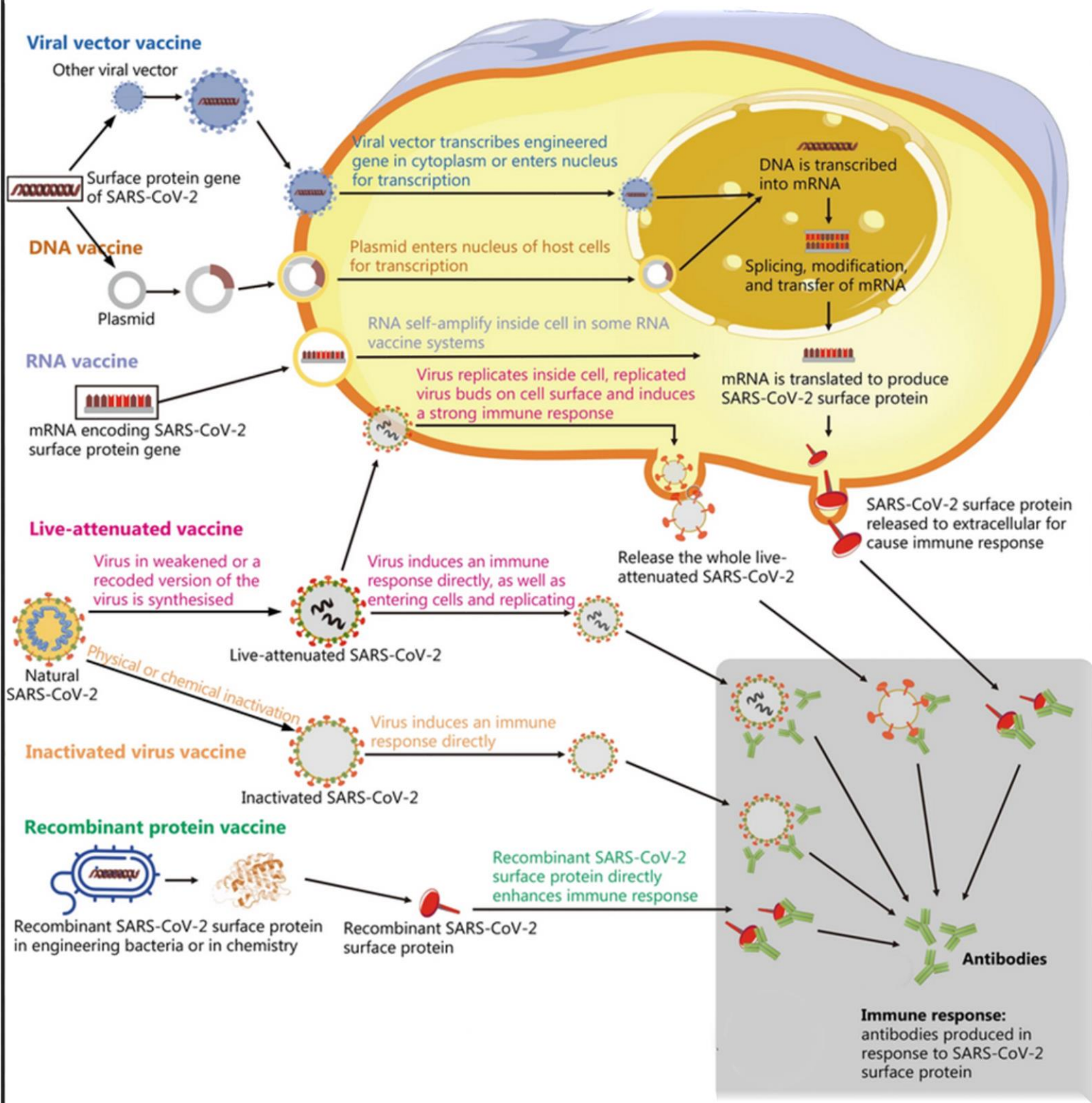


χαμηλότερη αρχική απόκριση αντισωμάτων (Shrotri et al., 2021). Το εμβόλιο αδρανοποιημένου ιού CoronaVac, προκαλεί επίσης χαμηλότερη αρχική απόκριση αντισωμάτων σε σχέση με τα εμβόλια mRNA, με το επίπεδό τους να πέφτει κάτω από το όριο θετικότητας 4 μήνες μετά τον εμβολιασμό (Kwok et al., 2022). Πολλοί παράγοντες, συμπεριλαμβανομένης της ηλικίας και των υποκείμενων παθήσεων, μπορούν να επηρεάσουν τα επίπεδα αντισωμάτων μετά τον εμβολιασμό, καθώς και τη μακροπρόθεσμη δυναμική τους (Levin et al., 2021). Ο αντίκτυπος της ηλικίας στα επίπεδα των αντισωμάτων μετά τον εμβολιασμό έχει διαπιστωθεί ότι ποικίλλει ανάλογα με το εμβόλιο. Λήπτες άνω των 50 ετών του εμβολίου BNT162b2 παρουσίασαν χαμηλότερα επίπεδα IgG σε σύγκριση με εκείνους που έλαβαν το εμβόλιο mRNA-1273 (Keshavarz et al., 2022). Η ανοσοκαταστολή αποτελεί επίσης ένα σημαντικό παράγοντα ο οποίος επηρεάζει αρνητικά την αντισωματική απάντηση (Pooley et al., 2023). Τα αντισώματα που παράγονται από τα εμβόλια που σχεδιάστηκαν έναντι του αρχικού στελέχους, παράγουν αντισώματα με σημαντικά μειωμένη ικανότητα αναγνώρισης και δράσης έναντι νέων παραλλαγών και ιδιαίτερα της Omicron (Jalkanen et al., 2021; Hoffmann et al., 2022). Συλλογή ορού και πλάσματος εντός 1 μηνός μετά τον εμβολιασμό με BNT162b2 έδειξε 34 φορές χαμηλότερη αποτελεσματικότητα στην αναστολή της εισόδου της πρωτεΐνης ακίδας της Omicron, σε σχέση με την ακίδα της B.1. και 12 φορές χαμηλότερη από την ακίδα της Delta (Hoffmann et al., 2022). Επιπλέον, ο ορός και το πλάσμα που συλλέχθηκαν 1 μήνα μετά τον ετερόλογο εμβολιασμό με μια πρώτη δόση ChAdOx1 και μια δεύτερη δόση BNT162b2 ήταν 14 φορές λιγότερο αποτελεσματικά σε σύγκριση με την ακίδα της B.1., αλλά μόνο τρεις φορές λιγότερο αποτελεσματικά σε σχέση με την ακίδα της Delta (Hoffmann et al., 2022). Οι αναμνηστικές δόσεις ομόλογων και ετερόλογων εμβολίων φαίνεται να είναι αποτελεσματικές για την ανάκτηση των επιπέδων των εξουδετερωτικών αντισωμάτων, τόσο σε πλήρως εμβολιασμένα άτομα όσο και σε άτομα με προηγηθείσες λοιμώξεις από SARS-CoV-2 έναντι νέων παραλλαγών, συμπεριλαμβανομένης της παραλλαγής Omicron (Pooley et al., 2023). Μια πρόσφατη μετα-ανάλυση κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η ετερόλογη ανοσοποίηση ήταν πιο αποτελεσματική από την ομόλογη ανοσοποίηση στην αύξηση των επιπέδων αντισωμάτων (Cheng et al., 2022).

### **10.7. Διάρκεια αποτελεσματικότητας των εμβολίων**

Είναι πλέον αποδεδειγμένο ότι η αποτελεσματικότητα του εμβολιασμού φθίνει με την πάροδο του χρόνου με αποτέλεσμα αυξημένο κίνδυνο breakthrough λοίμωξης. Δύο συστηματικές ανασκοπήσεις και μετα-αναλύσεις, συνόψισαν τον ρυθμό με τον οποίο η

προστασία έναντι της μόλυνσης (τόσο ασυμπτωματικής όσο και συμπτωματικής) μειώθηκε μετά τον εμβολιασμό, ανεξάρτητα από την πλατφόρμα εμβολίου (Pooley et al., 2023). Οι Feikin et al.(2022) διαπίστωσαν μείωση 23% στην προστασία σε διάστημα 6 μηνών μετά τον εμβολιασμό, ενώ οι Ssentongo et al. (2022) διαπίστωσαν μείωση της προστασίας από 83 σε 21% σε διάστημα 5 μηνών. Παρά τη σημαντική φθίνουσα προστασία έναντι της συμπτωματικής λοίμωξης SARS-CoV-2, τα περισσότερα εμβόλια εξακολουθούν να είναι εξαιρετικά αποτελεσματικά στην πρόληψη σοβαρής ασθένειας, νοσηλείας και θανάτου με την πάροδο του χρόνου (Pooley et al., 2023). Οι Feikin et al.(2022) παρατήρησαν επίσης ότι όσον αφορά την σοβαρή νόσηση, η αποτελεσματικότητα του εμβολίου μειώθηκε μόνο κατά 9% τους πρώτους 6 μήνες μετά τον πλήρη εμβολιασμό, ενώ οι Ssentongo et al. (2022) δεν βρήκαν στοιχεία μείωσης 5 μήνες μετά τον εμβολιασμό. Αμφότερες οι μετα-αναλύσεις ωστόσο βασίστηκαν σε μελέτες οι οποίες έλαβαν χώρα πριν την εμφάνιση της Omicron και ενώ κυκλοφορούσαν πολλαπλές παραλλαγές μεταξύ των οποίων και η Delta (Feikin et al.2022; Ssentongo et al. 2022). Σε ορισμένες μελέτες, ομάδες υψηλού κινδύνου, συμπεριλαμβανομένων των ηλικιωμένων και των ατόμων με ανοσοκαταστολή (Levin et al., 2021; Andrews et al., 2022b; Rosenberg et al., 2022), παρατηρήθηκε ότι η προστασία φθίνει με μεγαλύτερο ρυθμό (Andrews et al., 2022b). Η εμφάνιση και η ευρεία κυκλοφορία μιας δυνητικά νέας VOC παρουσιάζει μια πρόσθετη μεταβλητή που θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη όταν συζητείται η ανθεκτικότητα της προστασίας που παρέχουν τα εμβόλια, ιδιαίτερα στην περίπτωση της παραλλαγής Omicron, όπου η δραστηριότητα εξουδετέρωσης του ιού από τα αντισώματα που παράγονται ύστερα από τον εμβολιασμό, είναι σημαντικά χαμηλότερα σε σύγκριση με τις προηγούμενες παραλλαγές (Accorsi et al., 2022; Regev-Yochay et al., 2022). Για τα εμβόλια ChAdOx1, BNT162b2 και mRNA-1273 έχει αναφερθεί αποτελεσματικότητα 2,7%, 8,8% και 14,9% αντίστοιχα, έναντι της Omicron στις 25+ εβδομάδες μετά τον πλήρη εμβολιασμό (Andrews et al., 2022a). Μια άλλη μελέτη έδειξε ότι η αποτελεσματικότητα έναντι της συμπτωματικής λοίμωξης από Omicron μετά από τρεις δόσεις εμβολίου mRNA είναι 54%. Παρά το μειωμένο επίπεδο προστασίας έναντι της συμπτωματικής λοίμωξης, η αποτελεσματικότητα έναντι σοβαρής, κρίσιμης ή θανατηφόρας λοίμωξης από την Omicron παρέμεινε αξιοσημείωτα υψηλή στο 92,5% (Altarawneh et al., 2022).



Εικόνα 29: Σχηματική απεικόνιση τρόπου δράσης εμβολίων έναντι του SARS-CoV-2. Πηγή: Peng et al., 2021.

## 11. Υβριδική Ανοσία

Σύμφωνα με τον ΠΟΥ (WHO, 2022c), ως υβριδική ανοσία ορίζεται η ανοσολογική προστασία σε άτομα που έχουν κάνει μία ή περισσότερες δόσεις εμβολίου COVID-19 και έχουν παρουσιάσει τουλάχιστον μία λοίμωξη SARS-CoV-2, πριν ή μετά την έναρξη του εμβολιασμού. Η επαγόμενη υβριδική ανοσία προκαλεί μια ισχυρή ανοσολογική απόκριση, καθώς η αύξηση των εξουδετερωτικών αντισωμάτων έναντι διάφορων παραλλαγών μετά τον εμβολιασμό ατόμων που είχαν μολυνθεί προηγουμένως, ανακαλεί διαφορετικά και υψηλής ποιότητας Β-κύτταρα μνήμης, τα οποία δημιουργήθηκαν μετά την αρχική μόλυνση. Επίσης, τα Β-κύτταρα μνήμης αυξάνονται 5 έως 10 φορές στην υβριδική ανοσία, σε σύγκριση με τη φυσική ανοσία ή τον εμβολιασμό μόνο και έχουν παρατηρηθεί ενισχυμένες αποκρίσεις εμβολίου μετά από ασυμπτωματικές και συμπτωματικές λοιμώξεις SARS-CoV-2 (Spinardi & Srivastava, 2023). Η υβριδική ανοσία έχει ως αποτέλεσμα ισχυρή εξουδετερωτική δράση έναντι των Omicron BA.1 και BA.2 στο πλάσμα και οι λοιμώξεις από την Omicron μετά τον εμβολιασμό, επάγουν εξουδετερωτική δραστηριότητα στον ρινικό βλεννογόνο, η οποία δεν παρατηρείται μόνο με τον εμβολιασμό (Park et al., 2022). Οι πρωτογενείς λοιμώξεις με την Omicron προκαλούν περιορισμένη εξειδίκευση των Β-κυττάρων μνήμης, ενώ παράλληλα, μόλυνση με την Omicron BA.1 μετά τον εμβολιασμό, ανακαλεί κυρίως τη χυμική ανοσολογική μνήμη έναντι της πρωτεΐνης ακίδας (Cao et al., 2022). Ωστόσο, ο εμβολιασμός, μαζί με τη λοίμωξη από Omicron BA.1, ενίσχυσαν την εξουδετέρωση της BA.1 και τη διασταυρούμενη εξουδετέρωση της D614G και της Omicron BA.2 (Spinardi & Srivastava, 2023).

## Συμπεράσματα

Από την ανακάλυψή τους τη δεκαετία του 1960 μέχρι τις μέρες μας, έχουν ταυτοποιηθεί 9 συνολικά τύποι κορωνοϊών που μολύνουν ανθρώπους, με τον SARS-CoV-2 να είναι ο έβδομος που εντοπίστηκε τα τελευταία 20 χρόνια και ο περισσότερο επιβλαβής για τον άνθρωπο. Μέχρι σήμερα, τα ακριβή γεγονότα γύρω από την προέλευση και τη διασπορά του είναι συγκεχυμένα, ωστόσο, όπως και με άλλους κορωνοϊούς, η εμφάνιση του πιθανότατα προήλθε από πολλαπλά ζωονοσογόνα συμβάντα. Η έγκαιρη και άμεση ταυτοποίηση του γονιδιώματος του ιού λίγους μόνο μήνες μετά την εμφάνισή του, βοήθησε την επιστημονική κοινότητα, αφενός μεν να

αναπτύξει εξαιρετικά αξιόπιστες μεθόδους ανίχνευσης, αφετέρου δε, ώθησε ερευνητικά εργαστήρια και βιοϊατρικές εταιρείες να αναπτύξουν, σε εξαιρετικά μικρό χρονικό διάστημα, μια σειρά εμβολίων. Αναφορικά με τα διαγνωστικά εργαλεία, εκείνες με ευρεία χρήση και αποτελεσματικότητα περιλαμβάνουν κυρίως μεθόδους μοριακής ή ανίχνευσης νουκλεϊκού οξέος καθώς και ανοσολογικές δοκιμασίες, ενώ τα εμβόλια για τα οποία ο ΠΟΥ έχει εκδόσει εσπευσμένη άδεια κυκλοφορίας περιλαμβάνουν, μεταξύ άλλων, εμβόλια mRNA (τροποποιημένου νουκλεοσιδίου), φορέα αδενοϊού, ανασυνδυασμένης πρωτεΐνης καθώς και σκευάσματα αδρανοποιημένου ιού.

Στα τρία χρόνια που έχουν μεσολαβήσει από την εμφάνιση του SARS-CoV-2 ένα σημαντικό ποσοστό του ανθρώπινου πληθυσμού έχει ανοσία από μόλυνση ή/και εμβολιασμό. Η διεθνής βιβλιογραφία περιλαμβάνει ένα πολυδιάστατο και συνάμα ευρύ σύνολο ερευνών αναφορικά με την ανοσολογική απόκριση έπειτα από φυσική μόλυνση ή εμβολιασμό ή συνδυασμό των δύο. Συγκεκριμένα, μετά τη μόλυνση από τον SARS-CoV-2 και την ενεργοποίηση της χυμικής ανοσολογικής αντίδρασης, παράγονται ειδικά IgA, IgM και IgG αντισώματα τα οποία στρέφονται κυρίως κατά της πρωτεΐνης ακίδας S και της πρωτεΐνης του νουκλεοκαψιδίου N του ιού. Η παραγωγή αυτή εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως η ηλικία και το φύλο του ασθενούς, η ύπαρξη συννοσηροτήτων, η σοβαρότητα της νόσου καθώς και η παρουσία συμπτωμάτων ή όχι. Η IgA και η IgM ανιχνεύονται από την 1<sup>η</sup> εβδομάδα μετά την μόλυνση και φτάνουν τη μέγιστη τιμή μεταξύ 10<sup>ης</sup> και 15<sup>ης</sup> ημέρας, ενώ η IgG ακολουθεί, με μέγιστη τιμή την 20<sup>η</sup> ημέρα. Τα IgM ωστόσο μειώνονται σημαντικά ένα μήνα μετά την εμφάνιση συμπτωμάτων, ενώ τα IgG παραμένουν σταθερά για περισσότερο από 6 εβδομάδες και μπορούν να ανιχνευθούν έως και ένα έτος μετά. Όσον αφορά την επαγόμενη από τον εμβολιασμό ανοσία, τα mRNA εμβόλια, τα οποία είναι τα πλέον διαδεδομένα, παρουσιάζουν υψηλότερα αντισώματα IgG έναντι της πρωτεΐνης S σε σχέση με τους αναρρώσαντες από φυσική νόσηση, ενώ είναι ανοσολογικά ενεργά από τις 12 ημέρες, κορυφώνονται μετά από 2-3 μήνες και μειώνονται στους 6 μήνες μετά από τον εμβολιασμό. Παράλληλα, δύο δόσεις mRNA εμβολίου είναι λιγότερο αποτελεσματικές στην επαγωγή εξουδετερωτικών αντισωμάτων κατά της παραλλαγής Omicron, ωστόσο μία τρίτη δόση ή μία breakthrough λοίμωξη ενισχύει την ανοσολογική απόκριση. Η συνέργεια μεταξύ της προηγούμενης λοίμωξης SARS-CoV-2 και του εμβολιασμού οδηγεί σε υβριδική ανοσία, η οποία προκαλεί μια ισχυρή ανοσολογική απόκριση με αύξηση των B-κυττάρων μνήμης 5 έως 10 φορές σε σύγκριση με την φυσική ανοσία ή

τον εμβολιασμό μόνο και έχει ως αποτέλεσμα μια ισχυρή εξουδετερωτική δράση έναντι των παραλλαγών της Omicron.

Σε περιόδους υγειονομικής κρίσης, η επιστήμη της ιατρικής οφείλει να ανοίγει νέες προοπτικές για το μέλλον. Η πανδημία οδήγησε την παγκόσμια κοινότητα σε μια απότομη και βίαιη μετάβαση σε μια νέα πραγματικότητα, καταδεικνύοντας την αναγκαιότητα εύρεσης και υιοθέτησης καινοτόμων θεραπευτικών προσεγγίσεων για την αντιμετώπιση των άμεσων προκλήσεων που προέκυψαν από αυτή. Κατά συνέπεια, μπορεί η Covid-19 να έχει βαθιές επιπτώσεις στο παγκόσμιο γίνεσθαι, εντούτοις, ανέδειξε τον ζωτικής σημασίας ρόλο που διαδραματίζει η εργαστηριακή διάγνωση στη διαχείριση των έκτακτων υγειονομικών κρίσεων. Το μέλλον παρόλα αυτά δεν θα πρέπει να φαντάζει δυστοπικό. Η ανθρωπότητα έχει αντιμετωπίσει με επιτυχία παρόμοια συλλογικά τράνυματα και στο παρελθόν, χωρίς μάλιστα την ύπαρξη τόσο μεγάλου όγκου επιστημονικής έρευνας και δεδομένων. Η εμβληματική ρήση “*fluctuat nec mergitur*” είναι πιο επίκαιρη από ποτέ. Αυτό που συμβαίνει τα τελευταία χρόνια μπορεί να είναι το τέλος του κόσμου όπως τον ξέραμε, δεν είναι όμως το τέλος του κόσμου.



## Βιβλιογραφία

- Accorsi, E.K., Britton, A., Fleming-Dutra, K.E. et al. (2022) ‘Association between 3 doses of mRNA COVID-19 vaccine and symptomatic infection caused by the SARS-CoV-2 omicron and delta variants’, *JAMA*, 327, pp. 639–51. Available at: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40121-022-00753-2#Sec4> [Accessed: 3 March 2023].
- Ahmed, F., Jo, D.H. and Lee, S.H. (2020) ‘Can Natural Killer Cells Be a Principal Player in Anti-SARS-CoV-2 Immunity?’, *Frontiers in immunology*, 11, p. 586765. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7750385/> [Accessed: 19 January 2023].
- Ahsan, Md. A., Liu, Y., Feng, C., Hofestädt, R. and Chen, M. (2021) ‘OverCOVID: an integrative web portal for SARS-CoV-2 bioinformatics resources’, *Journal of Integrative Bioinformatics*, 18(1), pp. 9-17. Available at: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/jib-2020-0046/html> [Accessed: 28 March 2022].
- Al-Kuraishy, H.M., Al-Gareeb, A.I., Faidah, H. et al. (2021) ‘Testosterone in COVID-19: An Adversary Bane or Comrade Boon’, *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11. Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2021.666987/full> [Accessed: 10 December 2022].
- Al-Mughales, J.A., Al-Mughales, T.J., and Saadah, O.I. (2021) ‘Monitoring Specific IgM and IgG Production Among Severe COVID-19 Patients Using Qualitative and Quantitative Immunodiagnostic Assays: A Retrospective Cohort Study’, *Frontiers in immunology*, 12, p. 705441. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8446649/> [Accessed: 19 December 2022].
- Al-Sheboul, S.A., Brown, B., Shboul, Y. et al. (2023) ‘An Immunological Review of SARS-CoV-2 Infection and Vaccine Serology: Innate and Adaptive Responses to mRNA, Adenovirus, Inactivated and Protein Subunit Vaccines’, *Vaccines*, 11(1), p. 51. Available at: <https://www.mdpi.com/2076-393X/11/1/51#B18-vaccines-11-00051> [Accessed: 27 December 2022].
- Aleem, A., Akbar Samad, A.B. and Slenker, A.K. (2022) ‘Emerging Variants of SARS-CoV-2 And Novel Therapeutics Against Coronavirus (COVID-19)’. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK570580/> [Accessed: 17 September 2022].
- Alekseev, K. P., Vlasova, A. N., Jung, K., Hasoksuz, M., et al. (2008) ‘Bovine-like coronaviruses isolated from four species of captive wild ruminants are homologous to bovine coronaviruses, based on complete genomic sequences’, *Journal of virology*, 82(24), pp. 12422–12431. Available at: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/JVI.01586-08> [Accessed: 3 April 2022].
- Alhamid, G., Tombuloglu, H., Rabaan, A.A. and Al-Suhaimi, E. (2022) ‘SARS-CoV-2 detection methods: A comprehensive review’, *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29 (11). Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319562X22003813> [Accessed: 15 December 2022].
- Alkharaan, H., Bayati, S., Hellström, C. et al. (2022) ‘Correction to: Persisting Salivary IgG Against SARS-CoV-2 at 9 Months After Mild COVID-19: A Complementary Approach to Population Surveys’, *The Journal of Infectious Diseases*, 224(3), pp. 407-414. Available at: <https://academic.oup.com/jid/advance-article/doi/10.1093/infdis/jiac121/6647598> [Accessed: 21 December 2022].



- Almeida, J. D., Berry, D. M., Cunningham, C. H. et al. (1968) ‘*Virology: Coronaviruses*’ Available at: <https://www.nature.com/articles/220650b0> [Accessed: 28 April 2020].
- Altarawneh, H.N., Chemaitelly, H., Hasan, M.R. et al. (2022) ‘Protection against the Omicron Variant from Previous SARS-CoV-2 Infection’, *The New England journal of medicine*, 386(13), pp. 1288–1290. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8849180/> [Accessed: 1 March 2023].
- Amanna, I.J., Carlson, N.E. and Slifka, M.K. (2007) ‘Duration of Humoral Immunity to Common Viral and Vaccine Antigens’, *The New England Journal of Medicine*, 357, pp. 1903–1915. Available at: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa066092> [Accessed: 27 December 2022].
- Amer, H. M. (2018) ‘Bovine-like coronaviruses in domestic and wild ruminants’, *Animal Health Research Reviews*, 19(2), pp. 113-124. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30683171/> [Accessed: 29 April 2022].
- Amirthalingam, G., Bernal, J.L., Andrews, N.J. et al. (2021) ‘Serological responses and vaccine effectiveness for extended COVID-19 vaccine schedules in England’, *Nature communications*, 12(1), p. 7217. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8664823/> [Accessed: 03 January 2023].
- Andersen, K. G, Rambaut, A., Lipkin, W. I., Holmes, E. C. and Garry, R.F. (2020) ‘The proximal origin of SARS-CoV-2’, *Nature Medicine*, 26(4), pp. 450-452. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32284615/> [Accessed: 29 July 2022].
- Andrews, N., Stowe, J., Kirsebom, F. et al. (2022a) ‘Covid-19 vaccine effectiveness against the omicron (B.1.1.529) variant’, *The New England journal of medicine*, 386, pp. 1532–46. Available at: <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa2119451> [Accessed: 3 March 2023].
- Andrews, N., Tessier, E., Stowe, J. et al (2022) ‘Duration of Protection against Mild and Severe Disease by Covid-19 Vaccines’, *The New England journal of medicine*, 386(4), pp. 340–350. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8781262/> [Accessed: 3 March 2023].
- Anthony, S. J., Johnson, C. K., Greig, D. J. et al. (2017) ‘Global patterns in coronavirus diversity’, *Virus Evolution*, 3 (1). Available at: <https://academic.oup.com/ve/article/3/1/vex012/3866407> [Accessed: 2 April 2022].
- Apostolidis, S.A., Kakara, M., Painter, M.M. et al. (2021) ‘Cellular and humoral immune responses following SARS-CoV-2 mRNA vaccination in patients with multiple sclerosis on anti-CD20 therapy’, *Nature Medicine*, 27, pp. 1990–2001. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41591-021-01507-2> [Accessed: 19 January 2023].
- Arbeitman, C.R., Rojas, P., Ojeda-May, P. and Garcia, M.E. (2021) ‘The SARS-CoV-2 spike protein is vulnerable to moderate electric fields’, *Nature communications*, 12(1), p. 5407. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8437970/> [Accessed: 24 December 2022].
- Arvin, A.M., Fink, K., Schmid, M.A. et al. (2020) ‘A perspective on potential antibody-dependent enhancement of SARS-CoV-2’, *Nature*, 584(7821), pp. 353–363. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2538-8> [Accessed: 18 January 2023].
- Asano, M., Okada, H., Itoh, Y. et al. (2022) ‘Immunogenicity and safety of AZD1222 (ChAdOx1 nCoV-19) against SARS-CoV-2 in Japan: a double-blind, randomized controlled phase 1/2 trial’, *International journal of*

- infectious diseases: IJID: official publication of the International Society for Infectious Diseases*, 114, pp. 165–174. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8531242/> [Accessed: 03 January 2023].
- Azhar, E.I., El-Kafrawy, S.A., Farraj, S.A. et al. (2014) ‘Evidence for camel-to-human transmission of MERS coronavirus’, *The New England Journal of Medicine* 370 (26) pp. 2499–2505. Available at: <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1401505> [Accessed: 3 April 2022].
  - Azzi, L., Dalla Gasperina, D., Veronesi, G. et al. (2022). ‘Mucosal immune response in BNT162b2 COVID-19 vaccine recipients’, *EBioMedicine*, 75, p. 103788. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8718969/> [Accessed: 28 December 2022].
  - Azzi, L., Focosi, D., Dentali, F., Baj, A., and Maggi, F. (2021) ‘Anti-SARS-CoV-2 RBD IgG responses in convalescent versus naïve BNT162b2 vaccine recipients’, *Vaccine*, 39(18), pp. 2489–2490. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8009041/> [Accessed: 29 December 2022].
  - Baj, J., Karakula-Juchnowicz, H., Teresiński, G. et al. (2020) ‘COVID-19: Specific and non-specific clinical manifestations and symptoms: the current state of knowledge’, *Journal of Clinical Medicine*, 9(6), p. 1753. Available at: <https://www.mdpi.com/2077-0383/9/6/1753> [Accessed: 9 December 2022].
  - Balaram, P. (2021) ‘Natural and unnatural history of the coronavirus: The uncertain path to the pandemic’, *Current Science*, 120 (12). Available at: [10.18520/cs/v120/i12/1820-1826](https://www.currentscience.in/content/view/full/10.18520/cs/v120/i12/1820-1826) [Accessed: 17 April 2022].
  - Bange, E.M., Han, N.A., Wileyto, P. et al. (2021) ‘CD8+ T cells contribute to survival in patients with COVID-19 and hematologic cancer’, *Nature Medicine*, 27, pp. 1280–1289. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8291091/> [Accessed: 13 December 2022].
  - Bansal, K. and Kumar, S. (2022) ‘Mutational cascade of SARS-CoV-2 leading to evolution and emergence of omicron variant’, *Virus Research* 315(198765). Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168170222000934?via%3Dihub> [Accessed: 17 September 2022].
  - Barouch, D.H. (2022) Covid-19 Vaccines — Immunity, Variants, Boosters. Available at: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMra2206573> [Accessed: 10 December 2022].
  - Bartsch, Y.C., Tong, X., Kang, J. et al. (2022) ‘Omicron variant Spike-specific antibody binding and Fc activity are preserved in recipients of mRNA or inactivated COVID-19 vaccines’, *Science Translational Medicine*, 14(642), pp. eabn9243–eabn9243. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8995028/> [Accessed: 13 December 2022].
  - Basu-Ray, I., Almaddah, N.k., Adeboye, A. and Soos, M.P. (2022) *Cardiac Manifestations Of Coronavirus (COVID-19) StatPearls [Internet]*. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556152/> [Accessed: 9 December 2022].
  - Batty, C.J., Heise, M.T., Bachelder, E.M., and Ainslie, K.M. (2021) ‘Vaccine formulations in clinical development for the prevention of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection’, *Advanced drug delivery reviews*, 169, pp. 168–189. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7733686/> [Accessed: 26 December 2022].

- Bayati, A., Kumar, R., Francis, V. and McPherson, P.S. (2021) ‘SARS-CoV-2 infects cells after viral entry via clathrin-mediated endocytosis’, *The Journal of Biological Chemistry* 296 (100306). Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33476648/> [Accessed 26 August 2022].
- Beach J.R. and Schalm, O.W. (1936) ‘A filterable virus, distinct from that of laryngotracheitis, the cause of a respiratory disease of chicks’, *Poultry Science* 15(3) pp. 199-206.
- Beaudette, F.R. and Hudson, C.B. (1937) ‘Cultivation of the virus of infectious bronchitis’. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 90, pp. 51–58.
- Bellamkonda, N., Lambe, U.P., Sawant, S. et al. (2022) ‘Immune Response to SARS-CoV-2 Vaccines’, *Biomedicines*, 10(7), p. 1464. Available at: <https://www.mdpi.com/2227-9059/10/7/1464#B76-biomedicines-10-01464> [Accessed: 04 January 2023].
- Bengis, R.G., Leighton, F.A., Fischer, J.R., Artois, M., Morner, T., and Tate, C.M. (2004) ‘The role of wildlife in emerging and re-emerging zoonoses’, *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 23 (2), pp. 497–511. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15702716/> [Accessed: 4 April 2022].
- Bermejo-Martin, J.F., Almansa, R., Menéndez, R. et al. (2020) ‘Lymphopenic community acquired pneumonia as signature of severe COVID-19 infection’, *The Journal of infection*, 80(5), e23–e24. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7133663/> [Accessed: 18 January 2023].
- Berno, G., Fabeni, L., Matusali, G., et al. (2022) ‘SARS-CoV-2 Variants Identification: Overview of Molecular Existing Methods’, *Pathogens*, 11(1058). Available at: <https://www.mdpi.com/2076-0817/11/9/1058#cite> [Accessed: 17 September 2022].
- Berry, D.M., Cruickshank, J.G., Chu, H.P. and Wells, R.J. (1964) ‘The structure of infectious bronchitis virus’, *Virology*, 23(3), pp. 403–407.
- Bertoletti, A., Le Bert, N., Qui, M., and Tan, A.T. (2021) ‘SARS-CoV-2-specific T cells in infection and vaccination’, *Cellular & molecular immunology*, 18(10), pp. 2307–2312. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8408362/> [Accessed: 19 January 2023].
- Blake, W. (1794) *The Tyger*. Available at: <https://www.poetryfoundation.org/poems/43687/the-tyger> [Accessed: 17 April 2022].
- Blanco-Melo, D., Nilsson-Payant, B.E., Liu, W.C. et al. (2020) ‘Imbalanced Host Response to SARS-CoV-2 Drives Development of COVID-19’, *Cell*, 181, pp.1036–1045.e9. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32416070/> [Accessed: 17 December 2022].
- Booth, C.M., Matukas, L.M., Tomlinson, G.A. et al. (2003) ‘Clinical features and short-term outcomes of 144 patients with SARS in the greater Toronto area’, *JAMA* 289, pp. 2801–9. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12734147/> [Accessed 22 April 2022].
- Britannica, The Editors of Encyclopaedia (2022) ‘SARS’. Available at: <https://www.britannica.com/science/SARS> [Accessed 17 April 2022].
- Britton, G.J., Chen-Liaw, A., Cossarini, F. et al. (2021) ‘Limited intestinal inflammation despite diarrhea, fecal viral RNA and SARS-CoV-2-specific IgA in patients with acute COVID-19’, *Scientific reports*, 11(1), p. 13308. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8233421/> [Accessed: 23 December 2022].

- Brodin P. (2021) ‘Immune determinants of COVID-19 disease presentation and severity’, *Nature medicine*, 27(1), pp. 28–33. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33442016/> [Accessed: 17 January 2023].
- Brunner, W.M., Freilich, D., Victory, J. (2022) ‘Comparison of antibody response durability of mRNA-1273, BNT162b2, and Ad26.COV2.S SARS-CoV-2 vaccines in healthcare workers’, *International journal of infectious diseases: IJID: official publication of the International Society for Infectious Diseases*, 123, pp. 183–191. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9420538/> [Accessed: 2 March 2023].
- Bukhari, K.,G. Mulley, A.A., Gulyaeva, L.Y. et al. (2018) ‘Description and initial characterization of metatranscriptomic nidovirus-like genomes from the proposed new family Aabyssoviridae and from a sister group to the Coronavirinae, the proposed genus Alphaetovirus’, *Virology* 524, pp. 160–171. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2018.08.010> [Accessed: 30 April 2022].
- Burnett, D. (1986) ‘Immunoglobulins in the lung’, *Thorax*, 41(5), pp. 337–344. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1020623/> [Accessed: 23 December 2022].
- Bushnell, L.D. and Brandly, C.A. (1933) ‘Laryngotracheitis in chicks’, *Poultry Science*, 12(1), pp. 55-60.
- Cabeça, T.K., Granato, C. and Bellei, N. (2013) ‘Epidemiological and clinical features of human coronavirus infections among different subsets of patients’, *Influenza and Other Respiratory Viruses*, 7 (6), pp. 1040–1047. Available at: <https://doi.org/10.1111/irv.12101> [Accessed: 25 April 2022].
- Cagigi, A., Yu, M., Österberg, B. et al. (2021) ‘Airway antibodies emerge according to COVID-19 severity and wane rapidly but reappear after SARS-CoV-2 vaccination’, *JCI insight*, 6(22), e151463. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8663786/> [Accessed: 23 December 2022].
- Cai, Y., Zhang, J., Xiao, T. et al. (2020) ‘Distinct conformational states of SARS-CoV-2 spike protein’, *Science* 369, pp. 1586-1592. Available at: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.abd4251> [Accessed: 21 August 2022].
- Caminade, C., McIntyre, K.M. and Jones, A.E. (2019) ‘Impact of recent and future climate change on vector-borne diseases’, *Annals of the NY Academy Sciences*. 1436 (1), pp. 157-173. Available at: <https://doi.org/10.1111/nyas.13950> [Accessed: 28 March 2022].
- Cao, Y., Yisimayi, A., Jian, F. et al. (2022) ‘BA.2.12.1, BA.4 and BA.5 escape antibodies elicited by Omicron infection’, *Nature*, 608, pp. 593–602. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41586-022-04980-y> [Accessed: 25 January 2023].
- Castagnoli, R., Votto, M., Licari, A. et al. (2020) ‘Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Infection in Children and Adolescents: A Systematic Review’, *JAMA pediatrics*, 174(9), pp. 882–889. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32320004/> [Accessed: 23 December 2022].
- Castells, M., Victoria, M., Colina, R., Musto, H. and Cristina J. (2017) ‘Genome-wide analysis of Codon usage bias in Bovine Coronavirus’, *Virology Journal* 14 (1), p. 115. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12985-017-0780-y> [Accessed: 30 March 2022].
- Cavacini, L.A., Kuhrt, D., Duval, M. et al. (2004) ‘Binding and neutralization activity of human IgG1 and IgG3 from serum of HIV-infected individuals’, *AIDS research and human retroviruses*, 19(9), pp. 785–792. Available at: <https://doi.org/10.1089/088922203769232584> [Accessed: 21 December 2022].

- Cavanagh, D. (2007) ‘Coronavirus avian infectious bronchitis virus’, *Veterinary Research*, 38 (2), pp. 281–297. Available at: <https://doi.org/10.1051/vetres:2006055> [Accessed: 03 May 2022].
- Cavanagh, D., Davis, P.J. and Mockett, A.P.A. (1988) ‘Amino acids within hypervariable region 1 of avian coronavirus IBV (Massachusetts serotype) spike glycoprotein are associated with neutralization epitopes’. *Virus Research* 11 (2), pp. 141–150. Available at: [https://doi.org/10.1016/0168-1702\(88\)90039-1](https://doi.org/10.1016/0168-1702(88)90039-1) [Accessed: 03 May 2022].
- Cavanagh, D., Mawditt, K., Welchman, D.D.B., Britton, P. and Gough, R.E. (2002) ‘Coronaviruses from pheasants (*Phasianus colchicus*) are genetically closely related to coronaviruses of domestic fowl (infectious bronchitis virus) and turkeys’, *Avian Pathology* 31 (1), pp. 81–93. Available at: <https://doi.org/10.1080/03079450120106651> [Accessed: 02 May 2022].
- Cazares, L.H., Chaerkady, R., Samuel Weng, S.H. et al. (2020) ‘Development of a Parallel Reaction Monitoring Mass Spectrometry Assay for the Detection of SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein and Nucleoprotein’, *Analytical Chemistry*, 92 (20), pp. 13813-13821. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7537550/> [Accessed: 12 December 2022].
- Centers for Disease Control and Prevention, (2016) *Pandemic Intervals Framework (PIF)*. Available at: <https://www.cdc.gov/flu/pandemic-resources/national-strategy/intervals-framework.html> [Accessed: 31 March 2022].
- Centers for Disease Control and Prevention (2021a) *Understanding and Explaining Viral Vector COVID-19 Vaccines*. Available at: [https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiNxoSA-T8AhWBh\\_0HHWOVCdEQFnoECCAQAQ&url=https%3A%2F%2Fstacks.cdc.gov%2Fview%2Fcdc%2F103607%2Fcdc\\_103607\\_DS1.pdf&usg=AOvVaw1c1PIMojFSPTpuIn4APNLc](https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiNxoSA-T8AhWBh_0HHWOVCdEQFnoECCAQAQ&url=https%3A%2F%2Fstacks.cdc.gov%2Fview%2Fcdc%2F103607%2Fcdc_103607_DS1.pdf&usg=AOvVaw1c1PIMojFSPTpuIn4APNLc) [Accessed: 30 December 2022].
- Centers for Disease Control and prevention, (2021b) *Science Brief: COVID-19 Vaccines and Vaccination*. Available at: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/science/science-briefs/fully-vaccinated-people.html> [Accessed: 12 December 2022].
- Centers for Disease Control and prevention, (2022a) *SARS-CoV-2 Variant Classifications and Definitions*. Available at: [https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/variants/variant-classifications.html#anchor\\_1632158885160](https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/variants/variant-classifications.html#anchor_1632158885160) [Accessed: 17 September 2022].
- Centers for Disease Control and prevention, (2022b) *COVID-19 ACIP Vaccine Recommendations*. Available at: <https://www.cdc.gov/vaccines/hcp/acip-recs/vacc-specific/covid-19.html> [Accessed: 20 December 2022].
- Cervia, C., Nilsson, J., Zurbuchen, Y. et al. (2021) ‘Systemic and mucosal antibody responses specific to SARS-CoV-2 during mild versus severe COVID-19’, *The Journal of allergy and clinical immunology*, 147(2), pp. 545–557. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7677074/> [Accessed: 20 December 2022].
- Chafekar, A. and Fielding, B.C. (2018) ‘MERS-CoV: understanding the latest human coronavirus threat’, *Viruses* 10 (2), p. 93. Available at: <https://www.mdpi.com/1999-4915/10/2/93/htm> [Accessed: 30 April 2022].



- Chamberlain, J.S., Gibbs, R.A., Ranier, J.E., Nguyen, P.N. and Caskey, C.T. (1988) ‘Deletion screening of the Duchenne muscular dystrophy locus via multiplex DNA amplification’, *Nucleic Acids Research*, 16(23), pp. 11141-56. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3205741/> [Accessed: 12 December 2022]
- Chan, J.F., Kok, K.H., Zhu, Z. et al. (2020b) ‘Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan’, *Emerging Microbes and Infections*, 28 9(1), pp. 221-236. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31987001/> [Accessed: 28 June 2022].
- Chan, J.F., Yuan, S., Kok, K.H. et al. (2020a) ‘A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster’, *Lancet*. Feb 15, 395(10223), pp. 514-523. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31986261/> [Accessed: 27 June 2022].
- Chandler, J.C., Bevins, S.N., Ellis, J.W. et al. (2021) ‘SARS-CoV-2 exposure in wild white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Nov 23, 118(47). Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34732584/> [Accessed: 01 August 2022].
- Chandra Sharma, N. (2021) Zydus Cadila jab shows 66,6% efficacy, seeks regulatory nod. Available at: <https://www.livemint.com/companies/news/zydus-cadila-applies-for-eua-for-covid-19-vaccine-zycovd-11625152872531.html> [Accessed: 06 January 2023].
- Chang, C.K., Hsu, Y.L., Chang, Y.H., Chao, F.A. et al. (2009) ‘Multiple nucleic acid binding sites and intrinsic disorder of severe acute respiratory syndrome coronavirus nucleocapsid protein: implications for ribonucleocapsid protein packaging’, *Journal of Virology*, 83, pp. 2255-2264. Available at: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-60049100937&origin=inward&txGid=361340580ea2582769a9ba45c566116d> [Accessed: 22 August 2022].
- Chazal, N. (2021) *Coronavirus, the King Who Wanted More Than a Crown: From Common to the Highly Pathogenic SARS-CoV-2, Is the Key in the Accessory Genes?*. Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2021.682603/full#B13> [Accessed: 25 April 2022].
- Chemaitelly, H., AlMukdad, S., Ayoub, H.H. et al. (2022) ‘Covid-19 Vaccine Protection among Children and Adolescents in Qatar’, *The New England journal of medicine*, 387(20), pp. 1865–1876. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9644642/> [Accessed: 1 March 2023].
- Chen, F.Z., Knutson, T.P., Rossow, S., Saif, L.J. and Marthaler, D.G. (2019) ‘Decline of transmissible gastroenteritis virus and its complex evolutionary relationship with porcine respiratory coronavirus in the United States’, *Scientific Reports* 9, p. 3953. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40564-z> [Accessed: 1 May 2022].
- Chen, J.B., Malone, E., Llewellyn, M., Grasso, P.M.M. et al. (2020) ‘Structural basis for helicase-polymerase coupling in the SARS-CoV-2 replication-transcription complex’, *Cell*, 182 (6), pp. 1560-1573.e1513. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867420309417> [Accessed: 24 August 2022].
- Chen, L., Liu, W., Zhang, Q. et al. (2020). RNA based mNGS approach identifies a novel human coronavirus from two individual pneumonia cases in 2019 Wuhan outbreak, *Emerging Microbes & Infections*, 9(1), pp. 313-

319. Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/22221751.2020.1725399> [Accessed: 14 December 2022].
- Chen N., Zhou M., Dong X., Qu J. et al. (2020) ‘Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study’, *Lancet*, 395(10223), pp. 507-513. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32007143/> [Accessed: 27 June 2022].
  - Chen, Q., Wang, L.Y., Yang, C.H. et al. (2018) ‘The emergence of novel sparrow deltacoronaviruses in the United States more closely related to porcine deltacoronaviruses than sparrow Deltacoronavirus HKU17’, *Emerging Microbes & Infections* 7 (1) pp. 1–4. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41426-018-0108-z> [Accessed: 05 May 2022].
  - Chen, Y., Hu, R., Liu, Y. et al. (2018) ‘Polymerase chain reaction based detection technology for enteropathogens’, *Journal of Infection Control*, [Chinese]. 17(12), pp. 1122-1128.
  - Chen, Y., Huang, S., Zhou, L. et al. (2021) ‘Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Emerging detection technologies and auxiliary analysis’, *JCLA Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 36(1). Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jcla.24152> [Accessed: 11 December 2022].
  - Chen, Y., Tong, X., Li, Y. et al. (2020) ‘A comprehensive, longitudinal analysis of humoral responses specific to four recombinant antigens of SARS-CoV-2 in severe and non-severe COVID-19 patients’, *PLoS pathogens*, 16(9), e1008796. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7482996/> [Accessed: 21 December 2022].
  - Chen, Y., Wang, X., Shi, H. and Zou, P. (2022) ‘Montelukast Inhibits HCoV-OC43 Infection as a Viral Inactivator’, *Viruses*, 14, p. 861. Available at: <https://doi.org/10.3390/v14050861> [Accessed: 27 April 2022].
  - Chen, Z., and John Wherry, E. (2020) ‘T cell responses in patients with COVID-19’, *Nature reviews. Immunology*, 20(9), pp. 529–536. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7389156/> [Accessed: 18 January 2023].
  - Cheng, H., Peng, Z., Si, S. et al. (2022) ‘Immunogenicity and safety of homologous and heterologous Prime&ndash;Boost immunization with COVID-19 vaccine: systematic review and meta-analysis’, *Vaccines*, 10, p. 798. Available at: <https://www.mdpi.com/2076-393X/10/5/798/htm> [Accessed: 2 March 2023].
  - Chi, X., Yan, R., Zhang, J., Zhang, G. et al. (2020) ‘A neutralizing human antibody binds to the N-terminal domain of the Spike protein of SARS-CoV-2’, *Science*, 369(6504), pp. 650-655. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32571838/> [Accessed: 15 September 2022].
  - Chi, Y., Ge, Y., Wu, B. et al. (2019) ‘Serum Cytokine and Chemokine Profile in Relation to the Severity of Coronavirus Disease 2019 in China’, *The Journal of Infectious Diseases*, 222, pp. 746–754. Available at: <https://academic.oup.com/jid/article/222/5/746/5860445> [Accessed: 15 December 2022].
  - Chibwana, M.G., Moyo-Gwete, T., Kwatra, G. et al. (2022) ‘AstraZeneca COVID-19 vaccine induces robust broadly cross-reactive antibody responses in Malawian adults previously infected with SARS-CoV-2’, *BMC Medicine*, 20(128). Available at: <https://link.springer.com/article/10.1186/s12916-022-02342-z> [Accessed: 04 January 2023].



- Chinese SARS Molecular Epidemiology Consortium (2004) ‘Molecular evolution of the SARS coronavirus during the course of the SARS epidemic in China’, *Science*, 303(5664), pp. 1666-9. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14752165/> [Accessed: 26 April 2022].
- Chivese, T., Matiznadzo, J.T., Musa, O.A.H. et al. (2022) ‘The prevalence of adaptive immunity to COVID-19 and reinfection after recovery—a comprehensive systematic review and meta-analysis’, *Pathogens and Global Health*, 116(5), pp. 269-281. Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/20477724.2022.2029301> [Accessed: 1 March 2023].
- Cho, A., Muecksch, F., Schaefer-Babajew, D. et al. (2021) ‘Anti-SARS-CoV-2 receptor-binding domain antibody evolution after mRNA vaccination’, *Nature*, 600(7889), pp. 517–522. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8674133/> [Accessed: 28 December 2022].
- Choudhary, H.R., Parai, D., Dash, G.C. et al. (2021) ‘Persistence of Antibodies Against Spike Glycoprotein of SARS-CoV-2 in Healthcare Workers Post Double Dose of BBV-152 and AZD1222 Vaccines’, *Frontiers in Medicine*, 8, p. 778129. Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmed.2021.778129/full> [Accessed: 04 January 2023].
- Christian, M.D., Poutanen, S.M., Loutfy, M.R., Muller, M.P. and Low, D.E. (2004) ‘Severe acute respiratory syndrome’. *Clinical Infectious Diseases: an official publication of the infectious diseases Society of America*. 38(10), pp. 1420-7. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15156481/> [Accessed: 27 April 2022].
- Chu, D.K.W., Poon, L.L.M., Gomma, M.M. et al. (2014) ‘MERS coronaviruses in dromedary camels, Egypt’, *Emerging Infectious Diseases*, 20(6), pp. 1049–1053. Available at: <https://doi.org/10.3201/eid2006.140299> [Accessed: 29 April 2022].
- Cinquanta, L., Fontana, D.E. and Bizzaro, N. (2017) ‘Chemiluminescent immunoassay technology: what does it change in autoantibody detection?’ *Autoimmunity Highlights*, 8, p. 9. Available at: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13317-017-0097-2> [Accessed: 15 December 2022].
- Collier, A.Y., Yu, J., McMahan, K. (2021) ‘Differential Kinetics of Immune Responses Elicited by Covid-19 Vaccines’, *The New England journal of medicine*, 385(21), pp. 2010–2012. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8531985/> [Accessed: 2 March 2023].
- Connors, J.M. and Levy, J.H. (2020) ‘COVID-19 and its implications for thrombosis and anticoagulation’, *Blood*, 135, pp. 2033–2040. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32339221/> [Accessed: 10 December 2022].
- Corbett, K.S., Edwards, D.K., Leist, S.R. et al. (2020) ‘SARS-CoV-2 mRNA vaccine design enabled by prototype pathogen preparedness’, *Nature* 586, pp. 567–571. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2622-0?lclid=> [Accessed: 27 December 2022].
- Corman, V.M., Eckerle, I., Memish, Z.A. et al. (2016) ‘Link of a ubiquitous human coronavirus to dromedary camels’, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 113 (35), pp. 9864–9869. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.1604472113> [Accessed: 30 April 2022].
- Corman, V.M., Ithete, N.L., Richards, L.R. et al. (2014a) ‘Rooting the phylogenetic tree of middle East respiratory syndrome coronavirus by characterization of a conspecific virus from an African bat’, *Journal of*

- Virology* 88 (19), pp. 11297–11303. Available at: <https://doi.org/10.1128/JVI.01498-14> [Accessed: 02 May 2022].
- Corman, V.M., Kallies, R., Philipps, H. et al. (2014b) ‘Characterization of a novel Betacoronavirus related to middle east respiratory syndrome coronavirus in European hedgehogs’, *Journal of Virology* 88 (1), pp. 717–724. Available at: <https://doi.org/10.1128/jvi.01600-13> [Accessed: 02 May 2022].
  - Corman, V.M., Landt, O., Kaiser, M. et al. (2020) ‘Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR’, *Eurosurveillance*, 25(3): 2000045. Available at: <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045> [Accessed: 12 December 2022].
  - Corman, V.M., Muth, D., Niemeyer, D. and Drosten, C., (2018) ‘Hosts and sources of endemic human coronaviruses’, in M. Kielian, C.T. Mettenleiter & M.J. Roossinck (eds.), *Advances in virus research*, 100, pp. 163–188, Academic Press. Available at: <https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2018.01.001> [Accessed: 30 April 2022].
  - Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses Executive on Taxonomy of Viruses (2020) ‘The species severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and Naming it SARS-CoV-2’, *Nature Microbiology* 5 (4), pp. 536–544. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0695-z> [Accessed: 23 April 2022].
  - Costela-Ruiz, V.J., Illescas-Montes, R., Puerta-Puerta, J.M., Ruiz, C., and Melguizo-Rodríguez, L. (2020) ‘SARS-CoV-2 infection: The role of cytokines in COVID-19 disease’, *Cytokine & growth factor reviews*, 54, pp. 62–75. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7265853/> [Accessed: 19 January 2023].
  - Coutard, B., Valle, C., de Lamballerie, X., Canard, B., Seidah, N.G. and Decroly, E. (2020) ‘The spike glycoprotein of the new coronavirus 2019-nCoV contains a furin-like cleavage site absent in CoV of the same clade’, *Antiviral Research*. 176, p. 104742. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32057769/> [Accessed: 28 June 2022].
  - Cowger, T.L., Murray, E.J., Clarke, J. et al. (2022) ‘Lifting Universal Masking in Schools - Covid-19 Incidence among Students and Staff’, *The New England journal of medicine*, 387(21), pp. 1935–1946. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9743802/> [Accessed: 1 March 2023].
  - Cox, M.A., Kahan, S.M. and Zajac, A.J. (2013) ‘Anti-viral CD8 T cells and the cytokines that they love’, *Virology*, 435(1), pp. 157–169. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0042682212004539?via%3Dihub> [Accessed: 19 January 2023].
  - Crossley, B.M., Mock, R.E., Callison, S.A. and Hietala, S.K. (2012) ‘Identification and characterization of a novel alpaca respiratory coronavirus most closely related to the human coronavirus 229E’, *Viruses* 4 (12), pp. 3689–3700. Available at: <https://doi.org/10.3390/v4123689> [Accessed: 3 June 2022].
  - Cui, J., Li, F. and Shi, Z.L. (2019) ‘Origin and evolution of pathogenic coronaviruses’, *Nature Reviews Microbiology*, 17 (3), pp. 181–192. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0118-9> [Accessed: 1 June 2022].

- Cunningham, C.H. and Stuart, H.O. (1947) ‘Cultivation of the virus of infectious bronchitis of chickens in embryonated chicken eggs’, *American Journal of Veterinary Research*, 8(27), pp. 209-12. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20295891/> [Accessed: 30 March 2022].
- Cutler, S. J., Fooks, A. R. and van der Poel, W. H. (2010) ‘Public health threat of new, reemerging, and neglected zoonoses in the industrialized world’, *Emerging Infectious Diseases*, 16(1). Available at: [https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/16/1/08-1467\\_article](https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/16/1/08-1467_article) [Accessed: 1 April 2022].
- Das Sarma, J., Fu, L., Hingley, S.T., Lai, M.M.C. and Lavi, E. (2001) ‘Sequence analysis of the S gene of recombinant MHV-2/A59 coronaviruses reveals three candidate mutations associated with demyelination and hepatitis’ *Journal of Neurovirology* 7 (5) pp. 432–436. Available at: <https://doi.org/10.1080/135502801753170282> [Accessed: 18 April 2022].
- De Biasi, S., Meschiari, M., Gibellini, L. et al. (2020) ‘Marked T cell activation, senescence, exhaustion and skewing towards TH17 in patients with COVID-19 pneumonia’, *Nature Communications*, 11, pp. 1–17. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41467-020-17292-4> [Accessed: 18 January 2023].
- De Wit, E., van Doremalen, N., Falzarano, D. and Munster, V.J (2016) ‘SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses’ *Nature Reviews Microbiology*, 14(8), pp. 523–534. Available at: <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.81> [Accessed: 29 April 2022].
- Dęborska-Materkowska, D. and Kamińska, D. (2021) ‘The Immunology of SARS-CoV-2 Infection and Vaccines in Solid Organ Transplant Recipients’, *Viruses*, 13, p. 1879. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34578460/> [Accessed: 15 December 2022].
- Decaro, N., Mari, V., Elia, G., Addie, D.D. et al. (2010) ‘Recombinant canine coronaviruses in dogs, Europe’, *Emerging Infectious Diseases*, 16 (1), pp. 41–47. Available at: <https://doi.org/10.3201/eid1601.090726> [Accessed: 25 April 2022].
- Den Hartog, G., Eric R. A.V. et al. (2021) ‘Persistence of Antibodies to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 in Relation to Symptoms in a Nationwide Prospective Study’, *Clinical Infectious Diseases*, 73(12), pp. 2155–2162. Available at: <https://academic.oup.com/cid/article/73/12/2155/6149064> [Accessed: 19 December 2022].
- Deng, S., Liang, H., Chen, P. et al. (2022) ‘Viral Vector Vaccine Development and Application during the COVID-19 Pandemic’, *Microorganisms*, 10(7), p. 1450. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9317404/> [Accessed: 30 December 2022].
- Deng, S.Q. and Peng, H.J. (2020) ‘Characteristics of and Public Health Responses to the Coronavirus Disease 2019 Outbreak in China’, *Journal of Clinical Medicine*, 9(2), p. 575. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7074453/> [Accessed: 26 June 2022].
- Dey, A., Chozhavel Rajanathan, T.M., Chandra, H. et al. (2021) ‘Immunogenic potential of DNA vaccine candidate, ZyCoV-D against SARS-CoV-2 in animal models’, *Vaccine*, 39(30), pp. 4108–4116. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8166516/> [Accessed: 06 January 2023].

- Dhakal, S., Yu, T., Yin, A. et al. (2022) ‘Reconsideration of Antinucleocapsid IgG Antibody as a Marker of SARS-CoV-2 Infection Postvaccination for Mild COVID-19 Patients’, *Open Forum Infectious Diseases*, 10(1). Available at: <https://academic.oup.com/ofid/article/10/1/ofac677/6908736> [Accessed: 17 March 2023].
- Diao, B., Wang, C., Tan, Y. et al. (2020) ‘Reduction and functional exhaustion of T cells in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19)’, *Frontiers in Immunology*, 11, p. 827. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32425950/> [Accessed: 8 December 2022].
- Dijkman, R., Jebbink, M.F., El Idrissi, N.B. et al. (2008) ‘Human coronavirus NL63 and 229E seroconversion in children’, *Journal of clinical microbiology*, 46(7), pp. 2368–2373. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2446899/> [Accessed: 22 December 2022].
- Domanska-Blicharz, K., Lisowska, A. and Sajewicz-Krukowska, J. (2020) ‘Molecular epidemiology of infectious bronchitis virus in Poland from 1980 to 2017’, *Infection, Genetics and Evolution* 80, p. 104177. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104177> [Accessed: 03 May 2022].
- Domingo, J.L. (2021) ‘Scientific evidence on the origin of SARS-CoV-2’, *Environmental Research*, 201. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013935121008367> [Accessed: 29 July 2022].
- Dong, B.Q., Liu, W., Fan, X.H., et al. (2007) ‘Detection of a novel and highly divergent coronavirus from asian leopard cats and Chinese ferret badgers in Southern China’, *Journal of virology* 81(13), pp. 6920–6926. Available at: <https://doi.org/10.1128/jvi.00299-07> [Accessed: 05 May 2022].
- Dong, Y., Dai, T., Wei, Y. (2020) ‘A systematic review of SARS-CoV-2 vaccine candidates’. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 5, p. 237. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41392-020-00352-y> [Accessed: 05 January 2023].
- Donnelly, C.A., Ghani, A.V., Leung, G.M., et al. (2003) ‘Epidemiological determinants of spread of causal agent of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong’, *Lancet*, 361, pp. 1761–6. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12781533/> [Accessed: 23 April 2022].
- Dos Santos, J.M.B., Soares, C.P., Monteiro, F.R. et al. (2021) ‘In Nasal Mucosal Secretions, Distinct IFN and IgA Responses Are Found in Severe and Mild SARS-CoV-2 Infection’, *Frontiers in immunology*, 12, p. 595343. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7946815/> [Accessed: 23 December 2022].
- Douangamath, A., Fearon, D., Gehrtz, P. et al. (2020) ‘Crystallographic and electrophilic fragment screening of the SARS-CoV-2 main protease’, *Nature Communications*, 11, Article 5047. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41467-020-18709-w> [Accessed: 23 August 2022].
- Doyle, L.P., and L.M. Hutchings (1946) ‘A transmissible gastroenteritis in pigs’, *Journal of the American Veterinary Medical Association* 108, pp. 257–259.
- Drosten, C, Günther, S., Preiser, W. et al. (2003) ‘Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome’, *The New England Journal of Medicine*. 348(20), pp. 1967-76. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12690091/> [Accessed: 22 April 2022].
- Dugas, M., Grote-Westrick, T., Merle, U. et al. (2021a) ‘Lack of antibodies against seasonal coronavirus OC43 nucleocapsid protein identifies patients at risk of critical COVID-19’, *Journal of clinical virology: the official*

- publication of the Pan American Society for Clinical Virology, 139, p. 104847. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8065244/> [Accessed: 22 December 2022].
- Dugas, M., Grote-Westrick, T., Vollenberg, R. et al. (2021b) ‘Less severe course of COVID-19 is associated with elevated levels of antibodies against seasonal human coronaviruses OC43 and HKU1 (HCoV OC43, HCoV HKU1)’, *International journal of infectious diseases: official publication of the International Society for Infectious Diseases*, 105, pp. 304–306. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7901274/> [Accessed: 22 December 2022].
  - Dutta, N.K., Mazumdar, K., and Gordy, J.T. (2020) ‘The Nucleocapsid Protein of SARS-CoV-2: a Target for Vaccine Development’, *Journal of virology*, 94(13), e00647-20. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7307180/> [Accessed: 24 December 2022].
  - El-Sahly, H.M., Atmar, R.L., Glezen, W.P. and Greenberg, S.B. (2000) ‘Spectrum of clinical illness in hospitalized patients with “common cold” virus infections’, *Clinical Infectious Diseases* 31(1), pp. 96–100. Available at: <https://doi.org/10.1086/313937> [Accessed: 30 April 2022].
  - Ella, R., Reddy, S., Blackwelder, W. et al. (2021) ‘Efficacy, safety, and lot-to-lot immunogenicity of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine (BBV152): Interim results of a randomised, double-blind, controlled, phase 3 trial’, *The Lancet*, 398(10317), pp. 2173–2184. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673621020006> [Accessed: 07 January 2023].
  - Emary, K.R.W., Golubchik, T., Aley, P.K. et al. (2021) ‘Efficacy of ChAdOx1 nCoV-19 (AZD1222) vaccine against SARS-CoV-2 variant of concern 202012/01 (B.1.1.7): an exploratory analysis of a randomised controlled trial’, *Lancet* (London, England), 397(10282), pp. 1351–1362. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8009612/> [Accessed: 04 January 2023].
  - Erles, K. and Brownlie, J. (2008) ‘Canine respiratory coronavirus: an emerging pathogen in the canine infectious respiratory disease complex’, *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 38(4), pp. 815–viii. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2008.02.008> [Accessed: 30 April 2022].
  - European Centre for Disease prevention and Control, (2022) *Coronaviruses*. Available at: <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/latest-evidence/coronaviruses> [Accessed: 27 April 2022].
  - Eurosurveillance editorial team, (2020) ‘Note from the editors: World Health Organization declares novel coronavirus (2019-nCoV) sixth public health emergency of international concern’, *EuroSurveillance*, 25(5), p. 200131e. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7014669/> [Accessed: 28 June 2022].
  - Ewer, K.J., Barrett, J.R., Belij-Rammerstorfer, S. et al. (2021) ‘T cell and antibody responses induced by a single dose of ChAdOx1 nCoV-19 (AZD1222) vaccine in a phase 1/2 clinical trial’. *Nature Medicine*, 27, pp. 270–278. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41591-020-01194-5> [Accessed: 03 January 2023].
  - Eyre, D.W., Taylor, D., Purver, M. et al. (2022) ‘Effect of COVID-19 Vaccination on Transmission of Alpha and Delta Variants’, *The New England Journal of Medicine*, 386, pp. 744–756. Available at: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejmoa2116597> [Accessed: 04 January 2023].
  - Fabricant, J. (1998) ‘The early history of infectious bronchitis’, *Avian Diseases* 42, pp. 648-650. Available at: <https://www.jstor.org/stable/1592697> [Accessed: 1 June 2022].



- Falsey, A.R. and Walsh, E.E. (2003) ‘Novel coronavirus and severe acute respiratory syndrome’, *Lancet* 361 (9366), pp. 1312–1313. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)13084-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)13084-X) [Accessed: 19 April 2022].
- Falsey, A.R., Frenck, R.W., Walsh, E.E. et al. (2021a) ‘SARS-CoV-2 Neutralization with BNT162b2 Vaccine Dose 3’, *The New England journal of medicine*, 385(17), pp. 1627–1629. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8461567/> [Accessed: 2 March 2023].
- Falsey, A.R., Sobieszczyk, M.E., Hirsch, I. et al. (2021b) ‘Phase 3 Safety and Efficacy of AZD1222 (ChAdOx1 nCoV-19) COVID-19 Vaccine’, *The New England Journal of Medicine*, 385, pp. 2348–2360. Available at: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa2105290> [Accessed: 03 January 2023].
- Falzone, L., Gattuso, G., Tsatsakis, A. et al. (2021) ‘Current and innovative methods for the diagnosis of COVID-19 infection (Review)’, *International Journal of Molecular Medicine*, 47 (6). Available at: <https://doi.org/10.3892/ijmm.2021.4933> [Accessed: 10 December 2022].
- Fan, X., Cao, D., Kong, L. and Zhang, X. (2020) ‘Cryo-EM analysis of the post-fusion structure of the SARS-CoV spike glycoprotein’, *Nature Communications*, 11, pp. 1-10. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41467-020-17371-6> [Accessed: 21 August 2022].
- Fang, S.G., Shen, S., Tay, F.P.L. and Liu, D.X. (2005) ‘Selection of and recombination between minor variants lead to the adaptation of an avian coronavirus to primate cells’, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 336 (2) pp. 417–423. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.08.105> [Accessed: 3 May 2022].
- Fanoy, E.B., van der Sande, M.A., Kraaij-Dirkzwager, M. et al. (2014) ‘Travel-related MERS-CoV cases: an assessment of exposures and risk factors in a group of Dutch travellers returning from the Kingdom of Saudi Arabia’, *Emerging Themes in Epidemiology* 11, p. 16. Available at: <https://doi.org/10.1186/1742-7622-11-16> [Accessed: 29 April 2022].
- Fard, M.B., Fard, S.B., Ramazi, S., Atashi, A., & Eslamifar, Z. (2021) ‘Thrombosis in COVID-19 infection: Role of platelet activation-mediated immunity’, *Thrombosis journal*, 19(1), p. 59. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8380864/> [Accessed: 17 January 2023].
- Fathizadeh, H., Afshar, S., Masoudi, M. et al. (2021) ‘SARS-CoV-2 (COVID-19) vaccines structure, mechanisms and effectiveness: A review’, *International Journal of Biological Macromolecules*, 188, pp. 740–750. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813021017359> [Accessed: 05 January 2023].
- Favresse, J., Bayart, J.-L., Mullier, F. et al. (2021) ‘Antibody titers decline 3-month post-vaccination with BNT162b2’, *Emerging Microbes and Infections*, 10, pp. 1495–1498. Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/22221751.2021.1953403> [Accessed: 29 December 2022].
- Fehr, A.R. and Perlman, S. (2015) ‘Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis’, *Methods in Molecular Biology*, 1282, pp. 1-23. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25720466/> [Accessed 25 August 2022].
- Feikin, D.R., Higdon, M.M., Abu-Raddad, L.J. et al. (2022) ‘Duration of effectiveness of vaccines against SARS-CoV-2 infection and COVID-19 disease: results of a systematic review and meta-regression’, *The Lancet*, 399,

- pp. 924–944. Available at: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(22\)00152-0/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(22)00152-0/fulltext) [Accessed: 3 March 2023].
- Fenner, F. and Maurin, J. (1976) ‘The classification and nomenclature of viruses’, *Archives of Virology*, 51(1-2), pp. 141–149.
  - Flaxman, A., Marchevsky, N.G., Jenkin, D. et al. (2021) ‘Reactogenicity and immunogenicity after a late second dose or a third dose of ChAdOx1 nCoV-19 in the UK: A substudy of two randomised controlled trials (COV001 and COV002)’, *Lancet*, 398, pp. 981–990. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673621016998> [Accessed: 04 January 2023].
  - Fleck, F. (2003) ‘Carlo Urbani’, *BMJ* 326(7393). Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1125733/> [Accessed: 19 April 2022].
  - Fidler, D.P. (2004) *SARS, Governance and the Globalization of Disease*. Indiana University, USA.
  - Filchakova, O., Dossym, D., Ilyas, A. et al. (2022) ‘Review of COVID-19 testing and diagnostic methods’, *Talanta*, 244. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914022002053?via%3Dihub> [Accessed: 9 December 2022].
  - Forni, D., Cagliani, R., Clerici, M. and Sironi, M. (2017) ‘Molecular evolution of human coronavirus genomes’, *Trends in Microbiology*, 25(1), pp. 35–48. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.09.001> [Accessed: 28 April 2022].
  - Frasca, D., Diaz, A., Romero, M. et al. (2013) ‘Effects of age on H1N1-specific serum IgG1 and IgG3 levels evaluated during the 2011-2012 influenza vaccine season’, *Immunity & ageing: I & A*, 10(1), p. 14. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3639840/> [Accessed: 21 December 2022].
  - Franceschi, C., Garagnani, P., Parini, P. et al. (2018) ‘Inflammaging: a new immune-metabolic viewpoint for age-related diseases’, *Nature reviews. Endocrinology*, 14(10), pp. 576–590. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41574-018-0059-4> [Accessed: 20 December 2022].
  - Francis, A.I., Ghany, S., Gilkes, T. and Umakanthan, S. (2022) ‘Review of COVID-19 vaccine subtypes, efficacy and geographical distributions’, *Postgraduate Medical Journal*, 98, pp. 389–394. Available at: <https://academic.oup.com/pmj/article/98/1159/389/6958911> [Accessed: 03 January 2023].
  - Frick, D.N., Viridi, R.S., Vuksanovic, N., Dahal, N. and Silvaggi, N.R. (2020) ‘Molecular basis for ADP-ribose binding to the Mac1 domain of SARS-CoV-2 nsp3’, *Biochemistry*, 59, pp. 2608-2615. Available at: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.biochem.0c00309> [Accessed: 23 August 2022].
  - Friedman, N., Alter, H., Hindiyeh, M. et al. (2018) ‘Human Coronavirus Infections in Israel: Epidemiology, Clinical Symptoms and Summer Seasonality of HCoV-HKU1’, *Viruses*, 10(10), p. 515. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6213580/> [Accessed: 23 December 2022].
  - Fröberg, J., Gillard, J., Philipsen, R. et al. (2021) ‘SARS-CoV-2 mucosal antibody development and persistence and their relation to viral load and COVID-19 symptoms’, *Nature communications*, 12(1), p. 5621. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8460778/> [Accessed: 23 December 2022].



- Fuentes-Villalobos, F., Garrido, J. L., Medina, M. A. et al. (2022) ‘Sustained Antibody-Dependent NK Cell Functions in Mild COVID-19 Outpatients During Convalescence’, *Frontiers in immunology*, 13, p. 796481. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8859986/> [Accessed: 21 December 2022].
- Fujinami, A., Obayashi, H., Ohta, K. et al. (2004) ‘Enzyme-linked immunosorbent assay for circulating human resistin: resistin concentrations in normal subjects and patients with type 2 diabetes’, *Clinica Chimica Acta*, 339, pp. 57-63. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0009898103004522?via%3Dihub> [Accessed: 15 December 2022].
- Gaebler, C., Wang, Z., Lorenzi, J.C.C. et al. (2021) ‘Evolution of antibody immunity to SARS-CoV-2’, *Nature*, 591(7851), pp. 639–644. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8221082/> [Accessed: 21 December 2022].
- García L.F. (2020) ‘Immune Response, Inflammation, and the Clinical Spectrum of COVID-19’, *Frontiers in immunology*, 11, p. 1441. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7308593/> [Accessed: 17 January 2023].
- Garland, V., Kumar, A.B. and Borum, M.L. (2021) ‘Gastrointestinal and Hepatic Manifestations of COVID-19: Evolving Recognition and Need for Increased Understanding in Vulnerable Populations’, *Journal of the National Medical Association*, 113 (2), pp. 142-146. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0027968420301619> [Accessed: 9 December 2022].
- Garry, R.F. (2021) *Early appearance of two distinct genomic lineages of SARS-CoV-2 in different Wuhan wildlife markets suggests SARS-CoV-2 has a natural origin. Virological*. Available at: <https://virological.org/t/early-appearance-of-two-distinct-genomic-lineages-of-sars-cov-2-in-different-wuhan-wildlife-markets-suggests-sars-cov-2-has-a-natural-origin/691> [Accessed: 28 July 2022].
- Gasteiger, G., D’Osualdo, A., Schubert, D.A. et al. (2017) ‘Cellular innate immunity: an old game with new players’, *Journal of Innate Immunity*, 9, pp. 111-125. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6738785/> [Accessed: 14 December 2022].
- Ge, X.Y., Li, J.L., Yang, X.L. et al. (2013) ‘Isolation and characterization of a bat SARS-like coronavirus that uses the ACE2 receptor’, *Nature* 503 (7477), pp. 535–538. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature12711> [Accessed: 23 April 2022].
- Ge, X.Y., Yang, W.H., Zhou, J.H. et al. (2017) ‘Detection of alpha- and betacoronaviruses in rodents from Yunnan, China’ *Virology Journal* 14(1), p. 98. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12985-017-0766-9> [Accessed: 3 June 2022].
- Gledhill, A.W. and Andrewes, C.H. (1951) ‘A hepatitis virus of mice’, *British Journal of Experimental Pathology*, 32(6), pp. 559-68.
- Glowacka, I., Bertram, S., Müller, M.A. et al. (2011) ‘Evidence that TMPRSS2 activates the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein for membrane fusion and reduces viral control by the humoral immune response’, *Journal of Virology*, 85(9), pp. 4122-34. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21325420/> [Accessed 25 August 2022].

- Goel, R.R., Apostolidis, S.A., Painter, M.M. et al. (2021b) ‘Distinct antibody and memory B cell responses in SARS-CoV-2 naïve and recovered individuals following mRNA vaccination’, *Science immunology*, 6(58), eabi6950. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8158969/> [Accessed: 27 December 2022].
- Goel, R.R., Painter, M.M., Apostolidis, S.A. et al. (2021a) ‘mRNA vaccines induce durable immune memory to SARS-CoV-2 and variants of concern’ *Science*, 374(6572), pp. abm0829-abm0829. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9284784/> [Accessed: 13 December 2022].
- Gong, L., Li, J., Zhou, Q.F. et al. (2017) ‘A new bat-HKU2-like coronavirus in swine, China’, *Emerging Infectious Diseases*, 23(9), pp. 1607–1609. Available at: <https://doi.org/10.3201/eid2309.170915> [Accessed: 1 June 2022].
- Gozlan, M. (2020) *Il était une fois les coronavirus*. Available at: <https://www.lemonde.fr/blog/realitesbiomedicales/2020/03/27/il-etait-une-fois-les-coronavirus%E2%80%A8/> [Accessed 23 April 2022].
- Graham, R.L. and Baric, R.S. (2010) ‘Recombination, reservoirs, and the modular spike: mechanisms of coronavirus cross-species transmission’, *Journal of virology*, 84(7), pp. 3134–3146. Available at: <https://doi.org/10.1128/JVI.01394-09> [Accessed: 23 April 2022].
- Gralinski, L.E. and Menachery, V.D. (2020) ‘Return of the Coronavirus: 2019-nCoV’, *Viruses*, 12(2), p.135. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7077245/> [Accessed: 26 June 2022].
- Greenbaum, U., Klein, K., Martinez, F. et al. (2021) ‘High levels of common cold coronavirus antibodies in convalescent plasma are associated with improved survival in COVID-19 patients’, *medRxiv: the preprint server for health sciences*. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7987049/> [Accessed: 22 December 2022].
- Grellet, E., L’Hôte, I., Goulet, A. and Imbert, I. (2022) ‘Replication of the coronavirus genome: a paradox among positive-strand RNA viruses’, *Journal of Biological Chemistry*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2022.101923> [Accessed: 18 April 2022].
- Gribble, J., Stevens, L.J., Agostini, M.L. et al. (2021) ‘The coronavirus proofreading exoribonuclease mediates extensive viral recombination’, *PLoS Pathogens*, 17. Available at: <https://journals.plos.org/plospathogens/article?id=10.1371/journal.ppat.1009226> [Accessed: 18 September 2022].
- Grifoni, A., Weiskopf, D., Ramirez, S.I. et al. (2020) ‘Targets of T Cell Responses to SARS-CoV-2 Coronavirus in Humans with COVID-19 Disease and Unexposed Individuals’, *Cell*, 181(7), pp. 1489–1501. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7237901/> [Accessed: 24 December 2022].
- Grupel, D., Gazit, S., Schreiber, L. et al. (2021) ‘Kinetics of SARS-CoV-2 anti-S IgG after BNT162b2 vaccination’, *Vaccine*, 39(38), pp. 5337–5340. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X21010458> [Accessed: 29 December 2022].
- Guan, Y., Zheng, B.J., He, Y.Q. et al. (2003) ‘Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China’, *Science*, 302(5643), pp. 276-8. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12958366/> [Accessed: 24 April 2022].

- Gustine, J.N. and Jones, D. (2021) ‘Immunopathology of Hyperinflammation in COVID-19’, *The American Journal of Pathology*, 191(1), pp. 4-17. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0002944020304090> [Accessed: 18 December 2022].
- Guy, B., Chanthavanich, P., Gimenez, S. et al. (2004) ‘Evaluation by flow cytometry of antibody-dependent enhancement (ADE) of dengue infection by sera from Thai children immunized with a live-attenuated tetravalent dengue vaccine’, *Vaccine*, 22, pp. 27-28). Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15315835/> [Accessed: 12 December 2022].
- Haagmans, B.L., Al Dhahiry, S.H.S., Reusken, C.B.E.M. et al. (2014) ‘Middle East respiratory syndrome coronavirus in dromedary camels: an outbreak investigation’, *The Lancet Infectious Diseases* 14(2), pp. 140–145. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(13\)70690-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(13)70690-X) [Accessed: 01 Mai 2022].
- Hagan, W.A., Bruner, D.W., Gillespie, J.H., Timoney, J.F., Scott, F.W., et al. (1988) *Hagan and Bruner's microbiology and infectious diseases of domestic animals: With reference to etiology, epizootiology, pathogenesis, immunity, diagnosis, and antimicrobial susceptibility*. University Press, Cornell.
- Hajj, K. and Whitehead, K. (2017) ‘Tools for translation: non-viral materials for therapeutic mRNA delivery’, *Nature Reviews Materials* 2, p. 17056. Available at: <https://www.nature.com/articles/natrevmats201756> [Accessed: 26 December 2022].
- Hale, V.L., Dennis, P.M., McBride, D.S. et al. (2022) ‘SARS-CoV-2 infection in free-ranging white-tailed deer’, *Nature*, 602(7897), pp.481-486. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34942632/> [Accessed: 01 August 2022].
- Hammerman, A., Sergienko, R., Friger, M. et al. (2022) ‘Effectiveness of the BNT162b2 Vaccine after Recovery from COVID-19’, *The New England Journal of Medicine*, 386, pp. 1221–1229. Available at: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejmoa2119497> [Accessed: 29 December 2022].
- Hamming, I., Timens, W., Bulthuis, M.L.C. et al. (2004) ‘Tissue Distribution of ACE2 Protein, the Functional Receptor for SARS Coronavirus. A First Step in Understanding SARS Pathogenesis’, *The Journal of Pathology*, 203, pp. 631–637. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15141377/> [Accessed: 16 December 2022].
- Hansen, C.H., Michlmayr, D., Gubbels, S.M. et al. (2021) ‘Assessment of protection against reinfection with SARS-CoV-2 among 4 million PCR-tested individuals in Denmark in 2020: a population-level observational study’, *Lancet*, 397(10280), pp. 1204–1212. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7969130/> [Accessed: 20 December 2022].
- Hardenbrook, N. and Zhang, P. (2022) ‘A structural view of the SARS-CoV-2 virus and its assembly’, *Current Opinion in Virology* 52, pp. 123-134. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1879625721001516#bib0055> [Accessed: 20 August 2022].
- Hamre, D. and Procknow, J.J. (1966) ‘A new virus isolated from the human respiratory tract’, *Proceedings of the society for experimental biology and medicine. Society for Experimental Biology and Medicine*, 121, pp. 190-193.
- Hasoksuz, M., Alekseev, K., Vlasova, A. et al. (2007) ‘Biologic, antigenic, and full-length genomic characterization of a bovine-like coronavirus isolated from a giraffe’, *Journal of Virology*, 81(10), pp. 4981-90. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17344285/> [Accessed: 30 April 2022].

- Haveri, A., Solastie, A., Ekström, N. et al. (2022) ‘Neutralizing antibodies to SARS-CoV-2 Omicron variant after third mRNA vaccination in health care workers and elderly subjects’, *European journal of immunology*, 52(5), pp. 816–824. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9087434/> [Accessed: 30 December 2022].
- Havervall, S., Jernbom Falk, A., Klingström, J. et al. (2022) ‘SARS-CoV-2 induces a durable and antigen specific humoral immunity after asymptomatic to mild COVID-19 infection’, *PloS one*, 17(1), e0262169. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8754314/> [Accessed: 19 December 2022].
- Havervall, S., Marking, U., Greilert-Norin, N. et al. (2021) ‘Antibody responses after a single dose of ChAdOx1 nCoV-19 vaccine in healthcare workers previously infected with SARS-CoV-2’, *EBioMedicine*, 70, p. 103523. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8357428/> [Accessed: 03 January 2023].
- He, W.T., Ji, X., He, W. et al. (2020) ‘Genomic epidemiology, evolution, and transmission dynamics of porcine Deltacoronavirus’, *Molecular Biology and Evolution*, 37(9), pp. 2641–2654. Available at: <https://doi.org/10.1093/molbev/msaa117> [Accessed: 05 May 2022].
- Heymann, D. L. and Rodier, G. (2004) ‘SARS: A Global Response to an International Threat’, *The Brown Journal of World Affairs*. 10(2), pp. 185-197. Available at: <https://www.jstor.org/stable/24590530> [Accessed: 18 April 2022].
- Hewson, K.A., Ignjatovic, J., Browning, G.F., Devlin, J.M. and Noormohammadi, A.H.. 2011. Infectious bronchitis viruses with naturally occurring genomic rearrangement and gene deletion. *Archives of Virology* 156 (2): 245–252. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00705-010-0850-6> [Accessed: 03 May 2022].
- Hofmann, H., Pyrc, K., van der Hoek, L., Geier, M., Berkhout, B. and Pöhlmann, S. (2005) ‘Human coronavirus NL63 employs the severe acute respiratory syndrome coronavirus receptor for cellular entry’, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U S A.*, 102(22), pp. 7988-93. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15897467/> [Accessed 25 August 2022].
- Hoffmann, M., Kleine-Weber, H. and Pöhlmann, S. (2020) ‘A Multibasic Cleavage Site in the Spike Protein of SARS-CoV-2 Is Essential for Infection of Human Lung Cells’, *Molecular Cell*, 78(4), pp.779-784. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32362314/> [Accessed 25 August 2022].
- Hoffmann, M., Krüger, N., Schulz, S. et al. (2022) ‘The Omicron variant is highly resistant against antibody-mediated neutralization: Implications for control of the COVID-19 pandemic’, *Cell*, 185(3), pp. 447–456.e11. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8702401/> [Accessed: 2 March 2023].
- Holmes, E.C., Goldstein, S.A., Rasmussen, A.L. et al. (2021) ‘The origins of SARS-CoV-2: A critical review’, *Cell*, 184(19), pp. 4848-4856. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34480864/> [Accessed: 28 July 2022].
- Honigsbaum, M. (2009) ‘Pandemic’, *The Lancet*, 373. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)61053-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)61053-9) [Accessed: 30 March 2022].
- Hoque, A., das Barshan, A., Chowdhury, F.U.H. et al. (2021) ‘Antibody Response to ChAdOx1-nCoV-19 Vaccine Among Recipients in Bangladesh: A Prospective Observational Study’, *Infection and Drug Resistance*,

- 14, pp. 5491–5500. Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.2147/IDR.S335414> [Accessed: 03 January 2023].
- Hou, Y.T., Zhang, L.L., Ren, M.T. et al. (2020) ‘A highly pathogenic GI-19 lineage infectious bronchitis virus originated from multiple recombination events with broad tissue tropism’, *Virus Research* 285(198002). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2020.198002> [Accessed: 03 May 2022].
  - Houser, K.V., Broadbent, A.J., Gretebeck, L. et al. (2017) ‘Enhanced inflammation in New Zealand white rabbits when MERS-CoV reinfection occurs in the absence of neutralizing antibody’, *PLoS pathogens*, 13(8), e1006565. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5574614/> [Accessed: 30 December 2022].
  - Hsieh, S., Liu, W., Huang, Y. et al. (2021) ‘Safety and Immunogenicity of a Recombinant Stabilized Prefusion SARS-CoV-2 Spike Protein Vaccine (MVC-COV1901) Adjuvanted With CpG 1018 and Aluminum Hydroxide in Healthy Adults: A Phase 1, Dose-Escalation Study’, *eClinical Medicine*, 38, p. 100989. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2589537021002698> [Accessed: 07 January 2023].
  - Hsu, L.Y., Lee, C.C., Green, J.A., et al. (2003) ‘Severe acute respiratory syndrome in Singapore: clinical features of index patient and initial contacts’, *Emerging Infectious Diseases*, 9, pp. 713–17. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12781012/> [Accessed 22 April 2022].
  - Hu, B., Ge, X.Y., Wang, L.F. and Shi, Z.L. (2015) ‘Bat origin of human coronaviruses’, *Virology Journal*, 12, p. 221. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12985-015-0422-1> [Accessed: 21 April 2022].
  - Hu, B., Guo, H., Zhou, P. and Shi, Z.L. (2021) ‘Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19’, *Nature Reviews Microbiology*, 19(3), pp. 141–154. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41579-020-00459-7#citeas> [Accessed: 28 June 2022].
  - Hu, B., Zeng, L.P., Yang, X.L. et al. (2017) ‘Discovery of a rich gene pool of bat SARS-related coronaviruses provides new insights into the origin of SARS coronavirus’, *PLoS Pathogens*, 13(11). Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006698> [Accessed: 21 April 2022].
  - Huang, I.C., Bosch, B.J., Li, F. et al. (2006) ‘SARS coronavirus, but not human coronavirus NL63, utilizes cathepsin L to infect ACE2-expressing cells’, *The Journal of Biological Chemistry*, 281(6), pp. 3198-203. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16339146/> [Accessed 26 August 2022].
  - Huang, M.J., Zou, C.C., Liu, Y., Han, Z.L., Xue, C.Y. and Cao, Y.C. (2020) ‘A novel low virulent respiratory infectious bronchitis virus originating from the recombination of QX, TW and 4/91 genotype strains in China’, *Veterinary Microbiology*, 242. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108579> [Accessed: 04 May 2022].
  - Hui, D.S.C., Chan, M., Wu, A.K. (2004) ‘Severe acute respiratory syndrome (SARS): epidemiology and clinical features’, *Postgraduate Medical Journal*, 80, pp. 373-381. Available at: <http://dx.doi.org/10.1136/pgmj.2004.020263> [Accessed 22 April 2022].
  - Hung, I.F.N. and Poland, G.A. (2021) ‘Single-dose Oxford–AstraZeneca COVID-19 vaccine followed by a 12-week booster’, *Lancet*, 397, pp. 854–855. Available at: <https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-67362100528-6/fulltext> [Accessed: 04 January 2023].



- Huremović, D. (2019) ‘Brief History of Pandemics (Pandemics Throughout History)’. In: Huremović, D. (eds), *Psychiatry of Pandemics*, pp.7-35. Available at: [https://doi.org/10.1007/978-3-030-15346-5\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-030-15346-5_2) [Accessed: 30 March 2022].
- Imai, K., Matsuoka, M., Tabata, S. et al. (2021) ‘Cross-reactive humoral immune responses against seasonal human coronaviruses in COVID-19 patients with different disease severities’, *International journal of infectious diseases: IJID: official publication of the International Society for Infectious Diseases*, 111, pp. 68–75. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8364517/> [Accessed: 20 December 2022].
- Inoue, Y., Tanaka, N., Tanaka, Y. et al. (2007) ‘Clathrin-dependent entry of severe acute respiratory syndrome coronavirus into target cells expressing ACE2 with the cytoplasmic tail deleted’, *Journal of Virology*, 16, pp. 8722-9. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17522231/> [Accessed 26 August 2022].
- Inside Precision Medicine (2021) *Novavax and Janssen Report Positive Phase III Results for COVID-19 Vaccine Candidates*. Available at: <https://www.insideprecisionmedicine.com/topics/patient-care/coronavirus/novavax-and-janssen-report-positive-phase-iii-results-for-covid-19-vaccine-candidates/> [Accessed: 05 January 2022].
- International Committee on Taxonomy of Viruses (2022) *Taxonomy*. Available at: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/> [Accessed: 20 April 2022].
- International Committee on Taxonomy of Viruses Executive (2020) ‘The new scope of virus taxonomy: partitioning the virosphere into 15 hierarchical ranks’, *Nature Microbiology*, 5(5), pp. 668–674. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0709-x> [Accessed 30 April 2022].
- Isa, M.B., Martínez, L., Giordano, M. et al. (2002) ‘Comparison of immunoglobulin G subclass profiles induced by measles virus in vaccinated and naturally infected individuals’, *Clinical and diagnostic laboratory immunology*, 9(3), pp. 693–697. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC119984/> [Accessed: 20 December 2022].
- Isho, B., Abe, K.T., Zuo, M. et al. (2020) ‘Persistence of serum and saliva antibody responses to SARS-CoV-2 spike antigens in COVID-19 patients’, *Science immunology*, 5(52), eabe5511. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8050884/> [Accessed: 23 December 2022].
- Ismaila, E.L., Ismaila, B.O., Omale, S., Umar, D.M., Shwe, D.D. and Shehu, N.Y. (2021) ‘A synopsis of human pandemics’, *New Nigerian Journal of Clinical Research*, 10(17), pp. 7-13. Available at: <https://www.mdcan-uath.org/text.asp?2021/10/17/7/314601> [Accessed: 30 March 2022].
- Ito, T. (2014) ‘PAMPs and DAMPs as triggers for DIC’, *Journal of intensive care*, 2(1), p. 67. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4336279/> [Accessed: 17 January 2023].
- Jackson, C.B., Farzan, M., Chen, B. et al. (2022) ‘Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells’, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 23, pp. 3–20. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41580-021-00418-x#Abs1> [Accessed: 22 August 2022].
- Jackson, L.A., Anderson, E.J., Roupheal, N.G. et al. (2020) ‘An mRNA Vaccine against SARS-CoV-2 - Preliminary Report’, *The New England journal of medicine*, 383(20), pp. 1920–1931. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7377258/> [Accessed: 30 December 2022].

- Jackwood, M.W., Hall, D. and Handel A. (2012). ‘Molecular evolution and emergence of avian gammacoronaviruses’, *Infection, Genetics and Evolution* 12(6), pp. 1305–1311. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2012.05.003> [Accessed: 18 August 2022].
- Jacobsen, H. and Klein, S.L. (2021) ‘Sex Differences in Immunity to Viral Infections’ *Frontiers in immunology*, 12, p. 720952. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8438138/> [Accessed: 19 December 2022].
- Jalkanen, P., Kolehmainen, P., Häkkinen, H.K. et al. (2021) ‘COVID-19 mRNA vaccine induced antibody responses against three SARS-CoV-2 variants’, *Nature Communications*, 12, p. 3991.
- Jamiruddin, R., Haq, A., Khondoker, M.U. et al. (2021) ‘Antibody response to the first dose of AZD1222 vaccine in COVID-19 convalescent and uninfected individuals in Bangladesh’, *Expert review of vaccines*, 20(12), pp. 1651–1660. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8442763/> [Accessed: 03 January 2023].
- Jayathilaka, D., Jeewandara, C., Gomes, L. et al. (2022) ‘Kinetics of immune responses to SARS-CoV-2 proteins in individuals with varying severity of infection and following a single dose of the AZD1222’, *Clinical and Experimental Immunology*, 208, pp. 323–331. Available at: <https://academic.oup.com/cei/article/208/3/323/6515942> [Accessed: 03 January 2023].
- Jeewandara, C., Aberathna, I.S., Gomes, L. et al. (2022) ‘Kinetics of immune responses to the AZD1222/Covishield vaccine with varying dose intervals in Sri Lankan individuals’, *Immunity Inflammation and Disease*, 10(4), e592. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/iid3.592> [Accessed: 04 January 2023].
- Jeewandara, C., Kamaladasa, A., Pushpakumara, P.D. et al. (2021) ‘Immune responses to a single dose of the AZD1222/Covishield vaccine in health care workers’, *Nature Communications*, 12, p. 4617. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41467-021-24579-7> [Accessed: 03 January 2023].
- Ji, T., Liu, Z., Wang, G., Guo, X. et al. (2020) ‘Detection of COVID-19: A review of the current literature and future perspectives’, *Biosens Bioelectron*, 166. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32739797/> [Accessed: 11 December 2022].
- Jiang, J., Ramos, S.J., Bangalore, P. et al. (2019) ‘Integration of needle-free jet injection with advanced electroporation delivery enhances the magnitude, kinetics, and persistence of engineered DNA vaccine induced immune responses’, *Vaccine*, 37(29), pp. 3832–3839. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31174938/> [Accessed: 06 January 2023].
- Jiang, S., Du, L. and Shi, Z. (2020) ‘An emerging coronavirus causing pneumonia outbreak in Wuhan, China: calling for developing therapeutic and prophylactic strategies’, *Emerging Microbes & Infections*, 9(1), pp. 275–277. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32005086/> [Accessed 18 May 2022].
- Jin, Z., Du, X., Xu, Y. et al. (2020) ‘Structure of Mpro from SARS-CoV-2 and discovery of its inhibitors’, *Nature*, 582, pp. 289–293. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2223-y> [Accessed: 23 August 2022].



- Jin, Y., Ji, W., Yang, H. et al. (2020) ‘Endothelial activation and dysfunction in COVID-19: from basic mechanisms to potential therapeutic approaches’, *Signal transduction and targeted therapy*, 5(1), p. 293. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7758411/> [Accessed: 17 January 2023].
- Jonassen, C.M., Kofstad, T., Larsen, I.L. et al. (2005) ‘Molecular identification and characterization of novel coronaviruses infecting graylag geese (*Anser anser*), feral pigeons (*Columbia livia*) and mallards (*Anas platyrhynchos*)’, *The Journal of General Virology*, 86(6), pp. 1597–1607. Available at: <https://doi.org/10.1099/vir.0.80927-0> [Accessed: 03 May 2022].
- Jones, I. and Roy, P. (2021) ‘Sputnik V COVID-19 vaccine candidate appears safe and effective’, *Lancet*, 397, pp. 642–643. Available at: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(21\)00191-4/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(21)00191-4/fulltext) [Accessed: 05 January 2023].
- Jones, K.E., Patel, N.G., Levy, M.A. et al. (2008) ‘Global trends in emerging infectious diseases’, *Nature*, 451, pp. 990–3. Available at: <https://www.nature.com/articles/nature06536> [Accessed: 25 April 2022].
- Kahn, J. S. and McIntosh, K. (2005) ‘History and Recent Advances in Coronavirus Discovery’, *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 24(11), pp. S223-S227. Available at: [https://journals.lww.com/pidj/fulltext/2005/11001/history\\_and\\_recent\\_advances\\_in\\_coronavirus.12.aspx](https://journals.lww.com/pidj/fulltext/2005/11001/history_and_recent_advances_in_coronavirus.12.aspx) [Accessed: 3 April 2022].
- Kalimuddin, S., Tham, C.Y.L., Qui, M. et al. (2021) ‘Early T cell and binding antibody responses are associated with COVID-19 RNA vaccine efficacy onset’, *Med*, 2(6), pp. 682–688.e4. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2666634021001525> [Accessed: 28 December 2022].
- Kamińska, D., Dęborska-Materkowska, D., Kościelska-Kasprzak, K. et al (2022) ‘Immunity after COVID-19 Recovery and Vaccination: Similarities and Differences’, *Vaccines*, 10(7), p. 1068. Available at: <https://www.mdpi.com/2076-393X/10/7/1068#B42-vaccines-10-01068> [Accessed: 20 December 2022].
- Kang, S., Yang, M., Hong, Z. et al. (2020) ‘Crystal structure of SARS-CoV-2 nucleocapsid protein RNA binding domain reveals potential unique drug targeting sites’, *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 10, pp. 1228-1238. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211383520305505> [Accessed: 22 August 2022].
- Karamloo, F., and König, R. (2020) ‘SARS-CoV-2 immunogenicity at the crossroads’, *Allergy*, 75(7), pp. 1822–1824. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7272904/> [Accessed: 26 December 2022].
- Kasheh, M.M., Hosseini, P., Soltani, S. and Zandi, M. (2021) ‘An overview on the seven pathogenic human coronaviruses’, *Reviews in Medical Virology*, 32(6). Available at: [https://www.researchgate.net/publication/353647169\\_An\\_overview\\_on\\_the\\_seven\\_pathogenic\\_human\\_coronaviruses](https://www.researchgate.net/publication/353647169_An_overview_on_the_seven_pathogenic_human_coronaviruses) [Accessed: 27 April 2022].
- Kashir, J. and Yaqinuddin, A. (2020) ‘Loop mediated isothermal amplification (LAMP) assays as a rapid diagnostic for COVID-19’, *Medical Hypotheses*, 141, p. 109786. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32361529/> [Accessed: 12 December 2022].
- Katella, K. (2020) *Our New COVID-19 Vocabulary—What Does It All Mean?*. Available at: <https://www.yalemedicine.org/news/covid-19-glossary> [Accessed: 1 April 2022].

- Ke, Z. J., Oton, K., Qu, M. et al. (2020) ‘Structures and distributions of SARS-CoV-2 spike proteins on intact virions’, *Nature*, 588, pp. 498-502. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2665-2> [Accessed: 20 August 2022].
- Kendall, E.J., Bynoe, M.L. and Tyrrell, D.A. (1962) ‘Virus isolations from common colds occurring in a residential school’, *British Medical Journal*, 2, pp. 82-86. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1925312/> [Accessed: 3 April 2022].
- Keshavarz, B., Richards, N.E., Workman, L.J. et al. (2022) ‘Trajectory of IgG to SARS-CoV-2 after vaccination With BNT162b2 or mRNA-1273 in an employee cohort and comparison with natural infection’, *Frontiers in Immunology*, 13. Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2022.850987/full> [Accessed: 2 March 2023].
- Khehra, N., Padda, I., Jaferi, U. et al. (2021) ‘Tozinameran (BNT162b2) Vaccine: The Journey from Preclinical Research to Clinical Trials and Authorization’, *AAPS PharmSciTech*, 22, p. 172. Available at: <https://link.springer.com/article/10.1208/s12249-021-02058-y> [Accessed: 28 December 2022].
- Khobragade, A., Bhate, S., Ramaiah, V. et al. (2022) ‘Efficacy, safety, and immunogenicity of the DNA SARS-CoV-2 vaccine (ZyCoV-D): the interim efficacy results of a phase 3, randomised, double-blind, placebo-controlled study in India’, *Lancet (London, England)*, 399(10332), pp. 1313–1321. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8970574/> [Accessed: 06 January 2023].
- Khoury, J., Najjar-Debbiny, R., Hanna, A. et al. (2021) ‘COVID-19 vaccine—Long term immune decline and breakthrough infections’, *Vaccine*, 39(48), pp. 6984–6989. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X21013700> [Accessed: 29 December 2022].
- Kin, N., Mischczak, F., Lin, W., Gouilh, M.A., Vabret, A. and Consortium, E. (2015) ‘Genomic analysis of 15 human coronaviruses OC43 (HCoV-OC43s) circulating in France from 2001 to 2013 reveals a high intra-specific diversity with new recombinant genotypes’. *Viruses* 7(5), pp. 2358–2377. Available at: <https://doi.org/10.3390/v7052358> [Accessed: 12 April 2022].
- Kint, J., Langereis, M.A., Maier, H.J. et al. (2016) ‘Infectious bronchitis coronavirus limits interferon production by inducing a host shutoff that requires accessory protein 5b’, *Journal of Virology*, 90(16), pp. 7519–7528. Available at: <https://doi.org/10.1128/JVI.00627-16> [Accessed: 04 May 2022].
- Klasse, P.J. (2014) ‘Neutralization of virus infectivity by antibodies: old problems in new perspectives’, *Advances in Biology*, 2014(1). Available at: <https://www.hindawi.com/journals/ab/2014/157895/> [Accessed: 18 January 2023].
- Klemm, T., Ebert, G., Calleja, D.J. et al. (2020) ‘Mechanism and inhibition of the papain-like protease, PLpro, of SARS-CoV-2’, *The EMBO Journal*, 39, pp. 1-17. Available at: <https://www.embopress.org/doi/full/10.15252/emboj.2020106275> [Accessed: 23 August 2022].
- Klein, S., Cortese, M., Winter, S.L. et al. (2020) ‘SARS-CoV-2 structure and replication characterized by in situ cryo-electron tomography’, *Nature Communications*, 11, pp. 1-10. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41467-020-19619-7> [Accessed: 22 August 2022].

- Knoll, M.D. and Wonodi, C. (2021) ‘Oxford-AstraZeneca COVID-19 vaccine efficacy’, *Lancet (London, England)*, 397(10269), pp. 72–74. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7832220/> [Accessed: 03 January 2023].
- Kolata, G. (2021) *How Pandemics End*. Available at: <https://www.nytimes.com/2020/05/10/health/coronavirus-plague-pandemic-history.html> [Accessed: 30 March 2022].
- Konik, M., Lindemann, M., Zettler, M. et al. (2021) ‘Long-Term SARS-CoV-2 Specific Immunity Is Affected by the Severity of Initial COVID-19 and Patient Age’, *Journal of clinical medicine*, 10(19), p. 4606. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8509457/> [Accessed: 19 December 2022].
- Kontopoulou, K., Ainaizoglou, A., Nakas, C.T. et al. (2021) ‘Second dose of the BNT162b2 mRNA vaccine: Value of timely administration but questionable necessity among the seropositive’, *Vaccine*, 39, pp. 5078–5081. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X21009580> [Accessed: 29 December 2022].
- Kopanja, S., Gattinger, P., Schmidthaler, K. et al. (2022) ‘Characterization of the antibody response to SARS-CoV-2 in a mildly affected pediatric population’, *Pediatric allergy and immunology : official publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology*, 33(2), e13737. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9115525/> [Accessed: 19 December 2022].
- Kotaki, R., Adachi, Y., Moriyama, S. et al. (2022) ‘SARS-CoV-2 Omicron-neutralizing memory B cells are elicited by two doses of BNT162b2 mRNA vaccine’, *Science immunology*, 7(70), eabn8590. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8939773/> [Accessed: 30 December 2022].
- Korean Society of Infectious Diseases, Korean Society for Healthcare-associated Infection Control and Prevention (2015) ‘An unexpected outbreak of middle east respiratory syndrome coronavirus infection in the republic of Korea, 2015’, *Infectio & Chemotherapy* 47(2), pp. 120–122. Available at: <https://doi.org/10.3947/ic.2015.47.2.120> [Accessed: 29 April 2022].
- Kowalski, P.S., Rudra, A., Miao, L. and Anderson, D.G. (2019) ‘Delivering the Messenger: Advances in Technologies for Therapeutic mRNA Delivery’, *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy*, 27(4), pp. 710–728. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6453548/> [Accessed: 21 December 2022].
- Krämer, B., Knoll, R., Bonaguro, L. et al. (2021) ‘Early IFN- $\alpha$  Signatures and Persistent Dysfunction Are Distinguishing Features of NK Cells in Severe COVID-19’, *Immunity*, 54 (11), pp. 2650–2669.e14. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34592166/> [Accessed: 17 December 2022].
- Krammer, F. (2020) ‘SARS-CoV-2 vaccines in development’, *Nature*, 586, pp. 516–527. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2798-3> [Accessed: 24 December 2022].
- Ksiazek, T.G., Erdman, D., Goldsmith, C.S. et al. (2003) ‘A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome’, *The New England Journal of Medicine*, 348(20), pp. 1953-66. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12690092/> [Accessed: 22 April 2022].
- Kuchipudi, S.V., Surendran-Nair, M., Ruden, R.M., Yon, M., Nissly, R.H., Vandegrift, K.J. et al. (2022) ‘Multiple spillovers from humans and onward transmission of SARS-CoV-2 in white-tailed deer’. *Proceedings of*

- the National Academy of Sciences of the U.S.A.* 119(6). Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35078920/> [Accessed: 01 August 2022].
- Kundu, D., Gautam, P., Dayanand, D. et al. (2022) ‘The role and diagnostic accuracy of serology for COVID-19’, *BMC Infectious Diseases* 22(390). Available at: <https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-022-07361-y> [Accessed: 15 March 2023].
  - Kung, Y.A., Lee, K.M., Chiang, H.J., Huang, S.Y., Wu, C.J. and Shih, S.R. (2022) ‘Molecular Virology of SARS-CoV-2 and Related Coronaviruses’, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 86(2). Available at: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/mnbr.00026-21> [Accessed: 25 August 2022].
  - Kurano, M., Morita, Y., Nakano, Y. et al. (2022) ‘Response kinetics of different classes of antibodies to SARS-CoV2 infection in the Japanese population: The IgA and IgG titers increased earlier than the IgM titers’, *International immunopharmacology*, 103, p. 108491. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8687758/> [Accessed: 20 December 2022].
  - Kwok, S.L., Cheng, S.M., Leung, J.N. et al. (2022) ‘Waning antibody levels after COVID-19 vaccination with mRNA Comirnaty and inactivated CoronaVac vaccines in blood donors, Hong Kong, April 2020 to October 2021’, *Euro surveillance: bulletin Europeen sur les maladies transmissibles= European communicable disease bulletin*, 27(2), p. 2101197. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8759113/> [Accessed: 2 March 2023].
  - Kyriakidis, N.C., López-Cortés, A., González, E.V. et al. (2021) ‘SARS-CoV-2 vaccines strategies: a comprehensive review of phase 3 candidates’, *npj Vaccines* 6(28). Available at: <https://www.nature.com/articles/s41541-021-00292-w> [Accessed: 26 December 2022].
  - Laczkó, D., Hogan, M., Toulmin, S. et al. (2020) ‘A Single Immunization with Nucleoside-Modified mRNA Vaccines Elicits Strong Cellular and Humoral Immune Responses against SARS-CoV-2 in Mice’, *Immunity*, 53(4), pp. 724–732. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1074761320303265> [Accessed: 27 December 2022].
  - Lamb, Y.N. (2021) ‘BNT162b2 mRNA COVID-19 Vaccine: First Approval’, *Drugs* 81, pp. 495–501. Available at: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40265-021-01480-7> [Accessed: 28 December 2022].
  - Lamers, M.M., Beumer, J., van der Vaart, J. et al. (2020) ‘SARS-CoV-2 productively infects human gut enterocytes’, *Science*, 369(6499), pp. 50–54. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7199907/> [Accessed: 21 December 2022].
  - Lan, J.J., Ge, J., Yu, S., Shan, H. et al. (2020) ‘Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor’, *Nature*, 581, pp. 215–220. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1879625721001516#bib0180> [Accessed: 21 August 2022].
  - Latinne, A., Hu, B., Olival, K.J. et al. (2020) ‘Origin and cross-species transmission of bat coronaviruses in China’, *Nature Communications* 11, p. 4235. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-17687-3> [Accessed: 03 May 2022].
  - Lau, S.K.P., Li, K.S.M., Tsang, A.K.L., Shek, C.T. et al. (2012) ‘Recent transmission of a novel Alphacoronavirus, bat coronavirus HKU10, from leschenault’s rousettes to Pomona leaf-nosed bats: first

- evidence of interspecies transmission of coronavirus between bats of different suborders', *Journal of Virology*, 86(21), pp. 11906–11918. Available at: <https://doi.org/10.1128/jvi.01305-12> [Accessed: 03 May 2022].
- Lau, S.K.P., Luk, H.K.H., Wong, A.C.P. et al. (2019) 'Identification of a novel Betacoronavirus (merbecovirus) in Amur hedgehogs from China', *Viruses*, 11, p. 980. Available at: <https://doi.org/10.3390/v11110980> [Accessed: 01 May 2022].
  - Lau, S.K.P., Wong, E.Y.M., Tsang, C.C. et al. (2018a) 'Discovery and sequence analysis of four deltacoronaviruses from birds in the middle east reveal interspecies jumping with recombination as a potential mechanism for avian-to-avian and avian-to-mammalian transmission', *Journal of Virology*, 92(15), e00265–e00218. Available at: <https://doi.org/10.1128/jvi.00265-18> [Accessed: 04 May 2022].
  - Lau, S.K.P., Woo, P.C.Y., Li, K.S.M. et al. (2015) 'Discovery of a novel coronavirus, China Rattus coronavirus HKU24, from Norway rats supports the murine origin of Betacoronavirus 1 and has implications for the ancestor of Betacoronavirus lineage A', *Journal of Virology*, 89(6), pp. 3076–3092. Available at: <https://doi.org/10.1128/JVI.02420-14> [Accessed: 3 May 2022].
  - Lau, S.K.P., Zhang, L.B., Luk, H.K.H., Xiong, L.F. et al. (2018b) 'Receptor usage of a novel bat lineage C Betacoronavirus reveals evolution of middle east respiratory syndrome-related coronavirus spike proteins for human dipeptidyl peptidase 4 binding', *The Journal of Infectious Diseases*, 218(2), pp. 197–207. Available at: <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy018> [Accessed: 02 May 2022].
  - Le, T.T., Cramer, J.P., Chen, R., and Mayhew, S. (2020) 'Evolution of the COVID-19 vaccine development landscape', *Nature reviews. Drug discovery*, 19(10), pp. 667–668. Available at: <https://www.nature.com/articles/d41573-020-00151-8> [Accessed: 24 December 2022].
  - Le, V.P., Song, S., An, B.H., Park, G.N. et al. (2018) 'A novel strain of porcine Deltacoronavirus in Vietnam', *Archives of Virology*, 163(1), pp. 203–207. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00705-017-3594-8> [Accessed: 05 May 2022].
  - Le Bert, N., Tan, A.T., Kunasegaran, K. et al. (2020) 'SARS-CoV-2-specific T cell immunity in cases of COVID-19 and SARS, and uninfected controls', *Nature*, 584(7821), pp. 457–462. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32668444/> [Accessed: 17 January 2023].
  - Lederer, K., Castaño, D., Gómez Atria, D. et al. (2020) 'SARS-CoV-2 mRNA Vaccines Foster Potent Antigen-Specific Germinal Center Responses Associated with Neutralizing Antibody Generation', *Immunity*, 53(6), pp. 1281–1295. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1074761320304969> [Accessed: 27 December 2022].
  - Lednicky, J.A., Tagliamonte, M.S., White, S.K. et al. (2021) 'Emergence of porcine delta-coronavirus pathogenic infections among children in Haiti through independent zoonoses and convergent evolution' *medRxiv* [Preprint]. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33791709/> [Accessed: 06 May 2022].
  - Lee, J., Worrall, L.J., Vuckovic, M., Rosell, F.I. et al. (2020) 'Crystallographic structure of wild-type SARS-CoV-2 main protease acyl-enzyme intermediate with physiological C-terminal autoprocessing site', *Nature Communications*, 11, pp. 1-9. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41467-020-19662-4> [Accessed: 23 August 2022].



- Lee, N., Hui, D.S., Wu, A. et al. (2003) ‘A major outbreak of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong’, *The New England Journal of Medicine*, 348, pp. 1986–94. Available at: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejmoa030685> [Accessed 22 April 2022].
- Lee, S. and Lee, C. (2014) ‘Complete genome characterization of Korean porcine Deltacoronavirus strain KOR/KNU14-04/2014’, *Genome Announcements*, 2(6), e01191–e01114. Available at: <https://doi.org/10.1128/genomea.01191-14> [Accessed: 05 May 2022].
- Lee, S.W., Moon, J.-Y., Lee, S.-K. et al. (2021) ‘Anti-SARS-CoV-2 Spike Protein RBD Antibody Levels After Receiving a Second Dose of ChAdOx1 nCov-19 (AZD1222) Vaccine in Healthcare Workers: Lack of Association with Age, Sex, Obesity, and Adverse Reactions’, *Frontiers in Immunology*, 12, p. 779212. Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2021.779212/full> [Accessed: 04 January 2023].
- Lefkowitz, E.J., Dempsey, D.M., Hendrickson, R.C., Orton, R.J., Siddell, S.G. and Smith, D.B. (2018) ‘Virus taxonomy: the database of the international International Committee on Taxonomy of Viruses Executive on taxonomy of viruses (ICTV)’, *Nucleic Acids Research*, 46(D1), pp. D708–D717. Available at: <https://doi.org/10.1093/nar/gkx932> [Accessed 02 May 2022].
- Legros, V., Denolly, S., Vogrig, M. et al. (2021) ‘A longitudinal study of SARS-CoV-2-infected patients reveals a high correlation between neutralizing antibodies and COVID-19 severity’, *Cellular & molecular immunology*, 18(2), pp. 318–327. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7786875/> [Accessed: 18 December 2022].
- Lei, X., Dong, X., Ma, R., Wang et al. (2020) ‘Activation and evasion of type I interferon responses by SARS-CoV-2’, *Nature communications*, 11(1), p. 3810. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7392898/> [Accessed: 15 January 2023].
- Levin, E.G., Lustig, Y., Cohen, C. et al. (2021) ‘Waning Immune Humoral Response to BNT162b2 Covid-19 Vaccine over 6 Months’, *The New England journal of medicine*, 385(24), e84. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8522797/> [Accessed: 2 March 2023].
- Li, C.Q., Liu, Q.J., Kong, F.Z. et al. (2019) ‘Circulation and genetic diversity of Feline coronavirus type I and II from clinically healthy and FIP-suspected cats in China’, *Transboundary and Emerging Diseases*, 66(2), pp. 763–775. Available at: <https://doi.org/10.1111/tbed.13081> [Accessed 25 April 2022].
- Li, G., Chen, Q., Harmon, K.M., Yoon, K.J. et al. (2014) ‘Full-length genome sequence of porcine Deltacoronavirus strain USA/IA/2014/8734’, *Genome Announcements*, 2(2), e00278–e00214. Available at: <https://doi.org/10.1128/genomea.00278-14> [Accessed: 05 May 2022].
- Li, J.X., Hou, L.H., Meng, F.Y. et al. (2017) ‘Immunity duration of a recombinant adenovirus type-5 vector-based Ebola vaccine and a homologous prime-boost immunisation in healthy adults in China: final report of a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1 trial’, *The Lancet. Global health*, 5(3), e324–e334. Available at: [https://www.thelancet.com/journals/langlo/article/PIIS2214-109X\(16\)30367-9/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/langlo/article/PIIS2214-109X(16)30367-9/fulltext) [Accessed: 30 December 2022].

- Li, L., Zhang, L., Zhou, J., He, X. et al. (2022) ‘Epidemiology and Genomic Characterization of Two Novel SARS-Related Coronaviruses in Horseshoe Bats from Guangdong, China’ *ASM Journals*, 13(3). Available at: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/mbio.00463-22> [Accessed: 26 April 2022].
- Li, W.D., Shi, Z.L., Yu, M., et al. (2005) ‘Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses’, *Science*, 310(5748), pp. 676–679. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.1118391> [Accessed: 21 April 2022].
- Li, W.H., Moore, M.J., Vasilieva, N. et al. (2003) ‘Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature* 426 (6965): 450–454. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature02145> [Accessed: 19 April 2022].
- Li, X., Wang, W., Zhao, X., Zai, J., Zhao, Q., Li, Y. and Chaillon, A. (2020) ‘Transmission dynamics and evolutionary history of 2019-nCoV’, *Journal of Medical Virology*, 92(5), pp.501-511. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32027035/> [Accessed: 18 September 2022].
- Li, Z., Yi, Y., Luo, X. et al. (2020) ‘Development and Clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis’ *Journal of Medical Virology*, 9, pp. 1518-1524. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmv.25727> [Accessed: 15 December 2022].
- Lim, S., Lee, Y., Kim, D.W. et al. (2022) ‘Anti-SARS-CoV-2 Neutralizing Antibody Responses after Two Doses of ChAdOx1 nCoV-19 vaccine (AZD1222) in Healthcare Workers’, *Infection & chemotherapy*, 54(1), pp. 140–152. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8987172/> [Accessed: 05 January 2023].
- Lin, D., Liu, L., Zhang, M. et al. (2020) ‘Evaluations of the serological test in the diagnosis of 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) infections during the COVID-19 outbreak’, *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 39, pp. 2271–2277. Available at: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10096-020-03978-6> [Accessed: 15 December 2022].
- Lin, M.H., Chang, S.C., Chiu, Y.C., Jiang, B.C., Wu, T.H. and Hsu, C.H. (2020) ‘Structural, biophysical, and biochemical elucidation of the SARS-CoV-2 nonstructural protein 3 macro domain’, *ACS Infectious Diseases*, 6, pp. 2970-2978. Available at: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsinfecdis.0c00441> [Accessed: 23 August 2023].
- Lin, S., Chen, H., Chen, Z., Yang, F. et al. (2021) ‘Crystal structure of SARS-CoV-2 nsp10 bound to nsp14-ExoN domain reveals an exoribonuclease with both structural and functional integrity’, *Nucleic Acids Research*, 49 (9), pp. 5382-5392. Available at: <https://academic.oup.com/nar/article/49/9/5382/6270783> [Accessed: 24 August 2022].
- Lin, S., Chen, H., Ye, F., Chen, Z. et al. (2020) ‘Crystal structure of SARS-CoV-2 nsp10/nsp16 2'-O-methylase and its implication on antiviral drug design’, *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 5(131), pp. 5-8. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41392-020-00241-4> [Accessed: 24 August 2024].
- Lindahl, J.F. and Grace, D. (2015) ‘The consequences of human actions on risks for infectious diseases: a review’, *Infection Ecology Epidemiology*, 5(1). Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3402/iee.v5.30048> [Accessed: 10 April 2022].
- Littler, D.R., Gully, B.S., Colson, R.N. and Rossjohn, J. (2020) ‘Crystal structure of the SARS-CoV-2 non-structural protein 9, Nsp9’, *iScience*, 23. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2589004220304442> [Accessed: 24 August 2022].



- Liu, H., Wei, P., Zhang, Q., Chen, Z. et al. (2021a) ‘501Y.V2 and 501Y.V3 variants of SARS-CoV-2 lose binding to Bamlanivimab in vitro’, *bioRxiv* [Preprint]. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33619479/> [Accessed: 17 September 2022].
- Liu, H., Zhang, Q., Wei, P., Chen, Z. et al. (2021b) ‘The basis of a more contagious 501Y.V1 variant of SARS-CoV-2’, *bioRxiv* [Preprint]. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33564771/> [Accessed: 17 September 2022].
- Liu, L., Wei, Q., Lin, Q. et al. (2019) ‘Anti-spike IgG causes severe acute lung injury by skewing macrophage responses during acute SARS-CoV infection’, *JCI insight*, 4(4), e123158. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6478436/> [Accessed: 30 December 2022].
- Liu, Y., Mendonça, L., Yang, Y., Gao, Y. et al. (2020) ‘The architecture of inactivated SARS-CoV-2 with postfusion spikes revealed by Cryo-EM and Cryo-ET Structure’, 28, pp. 1218-1224. Available at: <https://www.mdpi.com/2073-4344/10/10/1218> [Accessed: 20 August 2022].
- Logunov, D., Dolzhikova, I., Shcheblyakov, D. et al. (2021) ‘Safety and efficacy of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine: An interim analysis of a randomised controlled phase 3 trial in Russia’, *Lancet*, 397, pp. 671–681. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673621002348> [Accessed: 05 January 2023].
- Lombardi, A., Consonni, D., Oggioni, M. et al. (2021) ‘SARS-CoV-2 anti-spike antibody titers after vaccination with BNT162b2 in naïve and previously infected individuals’, *Journal of Infection and Public Health*, 14, pp. 1120–1122. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1876034121001921> [Accessed: 29 December 2022].
- Long, Q.X., Tang, X.J., Shi, Q.L., et al. (2020) ‘Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections’ *Nature medicine*, 26(8), pp. 1200–1204. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32555424/> [Accessed: 18 January 2023].
- Loo, J., Spittle, D.A., and Newnham, M. (2021) ‘COVID-19, immunothrombosis and venous thromboembolism: biological mechanisms’, *Thorax*, 76(4), pp. 412–420. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33408195/> [Accessed: 17 January 2023].
- Lozano-Rodríguez, R., Valentín-Quiroga, J., Avendaño-Ortiz, J. et al. (2022) ‘Cellular and humoral functional responses after BNT162b2 mRNA vaccination differ longitudinally between naïve and subjects recovered from COVID-19’, *Cell Reports*, 38(2), p. 110235. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211124721017447> [Accessed: 28 December 2022].
- Lu, G.W., Wang, Q.H. and Gao, G.F. (2015) ‘Bat-to-human: spike features determining ‘host jump’ of coronaviruses SARS-CoV, MERS-CoV, and beyond’, *Trends in Microbiology* 23(8), pp. 468–478. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2015.06.003> [Accessed: 03 May 2022].
- Lu, L., Sikkema, R.S., Velkers, F.C. et al. (2021) ‘Adaptation, spread and transmission of SARS-CoV-2 in farmed minks and associated humans in the Netherlands’, *Nature Communications*, 12(1), p. 6802. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34815406/> [Accessed: 31 July 2022].

- Lu, R., Zhao, X., Li, J., Niu, P. et al. (2020) ‘Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding’, *Lancet*, 395(10224), pp. 565-574. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32007145/> [Accessed: 28 June 2022].
- Lu, X., Wang, L., Sakthivel, S.K. et al. (2020). US CDC Real-Time Reverse Transcription PCR panel for detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, *Emerging Infectious Diseases*, 26(8), pp. 1654-1665. Available at: [https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/26/8/20-1246\\_article](https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/26/8/20-1246_article) [Accessed: 12 December 2022].
- Lytras, S., Hughes, J., Martin, D., Swanepoel, P. et al. (2022) ‘Exploring the Natural Origins of SARS-CoV-2 in the Light of Recombination’, *Genome Biology and Evolution*, 14(2). Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35137080/#affiliation-1> [Accessed: 29 July 2022].
- Lytras, S., Xia, W., Hughes, J., Jiang, X. and Robertson, D.L. (2021) ‘The animal origin of SARS-CoV-2’, *Science*, 373, pp. 968-970. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S001393512201458X#bib32> [Accessed: 30 July 2022].
- Ma, J., Chen, Y., Wu, W. and Chen, Z. (2021) ‘Structure and function of N-terminal zinc finger domain of SARS-CoV-2 NSP2’, *Virologica Sinica*, 36(2021), pp. 1104-1112. Available at: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12250-021-00431-6> [Accessed: 23 August 2022].
- Madhi, S.A., Baillie, V., Cutland, C.L., (2021) ‘Efficacy of the ChAdOx1 nCoV-19 COVID-19 Vaccine against the B.1.351 Variant’, *The New England journal of medicine*, 384(20), pp. 1885–1898. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7993410/> [Accessed: 04 January 2023].
- Mailles, A., Blanckaert, K., Chaud, P., Van Der Werf, S., Lina, B., et al. (2013) ‘First cases of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV) infections in France, investigations and implications for the prevention of human-to-human transmission’, *Euro Surveillance* 18(24), p. 20502. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23787161/> [Accessed: 30 April 2022].
- Mallapaty, S. (2021) ‘Iran hopes to defeat COVID with home-grown crop of vaccines’, *Nature*, 596, p. 475. Available at: <https://www.nature.com/articles/d41586-021-02216-z> [Accessed: 07 January 2023].
- Malone, B., Chen, J., Wang, Q., Llewellyn, E. et al. (2021) ‘Structural basis for backtracking by the SARS-CoV-2 replication-transcription complex’, *PNAS*, 118(19). Available at: <https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.2102516118> [Accessed: 24 August 2022].
- Mandala, V.S., McKay, M.J., Shcherbakov, A.A., Dregni, A.J., Kolocouris, A. and Hong, M. (2020) ‘Structure and drug binding of the SARS-CoV-2 envelope protein transmembrane domain in lipid bilayers’, *Nature Structural & Molecular Biology*, 27, pp. 1202-1208. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41594-020-00536-8> [Accessed: 21 August 2022].
- Mao, Y., Wang, W., Ma, J. et al. (2022) ‘Reinfection rates among patients previously infected by SARS-CoV-2: systematic review and meta-analysis’, *Chinese medical journal*, 135(2), pp. 145–152. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8769121/> [Accessed: 1 March 2023].
- Marra, M.A., Jones, S.J., Astell, C.R., Holt, R.A., Brooks-Wilson, A. et al. (2003) ‘The Genome sequence of the SARS-associated coronavirus’, *Science*, 300(5624), pp. 1399-404. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12730501/> [Accessed: 23 April 2022].

- Mascellino, M.T., Di Timoteo, F., De Angelis, M. and Oliva, A. (2021) ‘Overview of the Main Anti-SARS-CoV-2 Vaccines: Mechanism of Action, Efficacy and Safety’, *Infection and drug resistance*, 14, pp. 3459–3476. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8418359/> [Accessed: 07 January 2023].
- Matsuyama, S., Nagata, N., Shirato, K., Kawase, M., Takeda, M. and Taguchi, F. (2010) ‘Efficient activation of the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein by the transmembrane protease TMPRSS2’, *Journal of Virology*, 84(24), pp. 12658–64. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20926566/> [Accessed 25 August 2022].
- Maxmen, A. (2021) *Why did the world’s pandemic warning system fail when COVID hit?*. Available at: <https://www.nature.com/articles/d41586-021-00162-4> [Accessed: 9 April 2022].
- McLellan, J. (2020) ‘Structure-based design of prefusion-stabilized SARS-CoV-2 spikes’, *Acta Crystallographica Section A Foundations and Advantages*, 76, a209. Available at: <https://scripts.iucr.org/cgi-bin/paper?S0108767320097937> [Accessed: 22 December 2022].
- McPherson, R.A., (2022). *Polymerase Chain Reaction And Other Nucleic Acid Amplification Technology in Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. Holland: Elsevier
- McIntosh, K., Dees, J.H., Becker, W.B., Kapikian, A.Z. and Chanock, R.M. (1967) ‘Recovery in tracheal organ cultures of novel viruses from patients with respiratory disease’, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 57(4), pp. 933–940. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.57.4.933> [Accessed: 5 May 2022].
- Meftahi, G.H., Jangravi, Z., Sahraei, H. and Bahari, Z. (2020) ‘The Possible Pathophysiology Mechanism of Cytokine Storm in Elderly Adults with COVID-19 Infection: The Contribution of “Inflame-Aging”’, *Inflammation Research*, 69, pp. 825–839. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32529477/> [Accessed: 14 December 2022].
- Melo, A.K.G., Milby, K.M., Caparroz, A.L.M.A. et al. (2021) ‘Biomarkers of Cytokine Storm as Red Flags for Severe and Fatal COVID-19 Cases: A Living Systematic Review and Meta-Analysis’, *PLoS ONE*, 16. Available at: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0253894> [Accessed: 14 December 2022].
- Memish, Z.A., Cotten, M., Meyer, B. et al. (2014) ‘Human infection with MERS coronavirus after exposure to infected camels, Saudi Arabia, 2013’, *Emerging Infectious Diseases*, 20(6), pp. 1012–1015. Available at: <https://doi.org/10.3201/eid2006.140402> [Accessed: 28 April 2022].
- Mesin, L., Ersching, J., and Victora, G.D. (2016) ‘Germinal Center B Cell Dynamics’, *Immunity*, 45(3), pp. 471–482. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.09.001> [Accessed: 27 December 2022].
- Michalska, K., Kim, Y., Jedrzejczak, R. et al. (2020) ‘Crystal structures of SARS-CoV-2 ADP-ribose phosphatase: from the apo form to ligand complexes’, *IUCrJ*, 7 (5), pp. 814–824. Available at: <https://journals.iucr.org/m/issues/2020/05/00/lz5040/index.html> [Accessed: 23 August 2022].
- Mihindukulasuriya, K.A., Wu, G., St Leger, J., Nordhausen, R.W. and Wang, D. (2008) ‘Identification of a novel coronavirus from a beluga whale by using a panviral microarray’, *Journal of Virology*, 82(10), pp. 5084–5088. Available at: <https://doi.org/10.1128/JVI.02722-07> [Accessed: 04 May 2022].

- Minskaia, E., Hertzog, T., Gorbalenya, A.E. et al. (2006) ‘Discovery of an RNA virus 3’→5’ exoribonuclease that is critically involved in coronavirus RNA synthesis’, *PNAS*, 103(13), pp. 5108–5113. Available at: <https://www.pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.0508200103> [Accessed: 18 September 2022].
- Mishra, S.K., Pradhan, S.K., Pati, S. et al. (2021) ‘Waning of Anti-spike Antibodies in AZD1222 (ChAdOx1) Vaccinated Healthcare Providers: A Prospective Longitudinal Study’, *Cureus*, 13, e19879. Available at: <https://www.cureus.com/articles/76494-waning-of-anti-spike-antibodies-in-azd1222-chadox1-vaccinated-healthcare-providers-a-prospective-longitudinal-study#!/> [Accessed: 04 January 2023].
- Miyara, M., Saichi, M., Sterlin, D. et al. (2022) ‘Pre-COVID-19 Immunity to Common Cold Human Coronaviruses Induces a Recall-Type IgG Response to SARS-CoV-2 Antigens Without Cross-Neutralisation’, *Frontiers in immunology*, 13, p. 790334. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8873934/> [Accessed: 22 December 2022].
- Moderna (2020) *Moderna Announces Longer Shelf Life for its COVID-19 Vaccine Candidate at Refrigerated Temperatures* Available at: <https://investors.modernatx.com/news/news-details/2020/Moderna-Announces-Longer-Shelf-Life-for-its-COVID-19-Vaccine-Candidate-at-Refrigerated-Temperatures/default.aspx> [Accessed: 30 December 2022].
- Mogensen T.H. (2009) ‘Pathogen recognition and inflammatory signaling in innate immune defenses’, *Clinical microbiology reviews*, 22(2), pp. 240–273. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2668232/> [Accessed: 15 January 2023].
- Mohammed, R.N., Tamjidifar, R., Rahman, H.S. et al. (2022) ‘A comprehensive review about immune responses and exhaustion during coronavirus disease (COVID-19)’, *Cell Communication and Signaling*, 20, p. 79. Available at: <https://biosignaling.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12964-022-00856-w> [Accessed: 15 January 2023].
- Monto, A.S. (1989) *Coronaviruses*. In: Evans A.S. (eds), *Viral infections of humans*. Springer, Boston, MA. Available at: [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4613-0705-1\\_7](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4613-0705-1_7) [Accessed: 13 April 2022].
- Mora-Díaz, J.C., Piñeyro, P.E., Houston E., Zimmerman, J. and Giménez-Lirola, L.G. (2019) ‘Porcine Hemagglutinating Encephalomyelitis Virus: A Review’, *Frontiers in Veterinary Science*, 27(6), p. 53. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30873421/> [Accessed: 18 April 2022].
- Morens, D.M., Folkers, G.K. and Fauci, A.S. (2009) ‘What is a pandemic?’ *The Journal of Infectious Diseases*, 200(7), pp. 1018–102, Available at: <https://doi.org/10.1086/644537> [Accessed: 28 March 2022].
- Motayo, B.O., Oluwasemowo, O.O., Olusola, B.A., Akinduti, P.A. et al. (2021) ‘Evolution and genetic diversity of SARS-CoV-2 in Africa using whole genome sequences’, *International Journal of Infectious Diseases*, 103, pp. 282–287. Available at: [https://www.ijidonline.com/article/S1201-9712\(20\)32505-4/fulltext](https://www.ijidonline.com/article/S1201-9712(20)32505-4/fulltext) [Accessed: 18 September 2022].
- Mu, J., Xu, J., Zhang, L., Shu, T., Wu, D. et al. (2020) ‘SARS-CoV-2-encoded nucleocapsid protein acts as a viral suppressor of RNA interference in cells’, *Science China Life Sciences*, 63, pp. 1413-1416. Available at: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11427-020-1692-1> [Accessed: 22 August 2022].

- Mullabi, E.N., Tweyongyere, R. and Byarugaba, D. K. (2021) *The history of the emergence and transmission of human coronaviruses*. Available at: <https://journals.co.za/doi/full/10.4102/ojvr.v88i1.1872> [Accessed: 25 April 2022].
- Müller, M., Volzke, J., Subin, B. et al. (2022) ‘Single-dose SARS-CoV-2 vaccinations with either BNT162b2 or AZD1222 induce disparate Th1 responses and IgA production’, *BMC Medicine*, 20, p. 29. Available at: <https://bmcmecicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12916-022-02240-4> [Accessed: 03 January 2023].
- Müller, M.A., Corman, V.M., Jores, J., Meyer, B. et al. (2014) ‘MERS coronavirus neutralizing antibodies in camels, Eastern Africa, 1983-1997’, *Emerging Infectious Diseases*, 20(12), pp. 2093–2095. Available at: <https://doi.org/10.3201/eid2012.141026> [Accessed 01 May 2022].
- Mulligan, M.J., Lyke, K.E., Kitchin, N. et al. (2020) ‘Phase I/II study of COVID-19 RNA vaccine BNT162b1 in adults’, *Nature* 586, pp. 589–593. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2639-4> [Accessed: 28 December 2022].
- Murillo-Zamora, E., Trujillo, X., Huerta, M. et al. (2022) ‘First-generation BNT162b2 and AZD1222 vaccines protect from COVID-19 pneumonia during the Omicron variant emergence’, *Public Health*, 207, pp. 105–107. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0033350622001056> [Accessed: 05 January 2023].
- Nam, M., Seo, J.D., Moon, H.-W. et al. (2021) ‘Evaluation of Humoral Immune Response after SARS-CoV-2 Vaccination Using Two Binding Antibody Assays and a Neutralizing Antibody Assay’, *Microbiology Spectrum*, 9, e0120221. Available at: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/Spectrum.01202-21> [Accessed: 04 January 2023].
- Narayanan, N., Lacy, C.R., Cruz, J.E., Nahass, M., Karp, J., Barone, J.A., et al. (2018) ‘Disaster preparedness: biological threats and treatment options’, *Pharmacotherapy*, 38(2), pp. 217–234. Available at: <https://doi.org/10.1002/phar.2068> [Accessed: 2 April 2022].
- National Institutes of Health (2021) *Janssen Investigational COVID-19 Vaccine: Interim Analysis of Phase 3 Clinical Data Released*. Available at: <https://www.nih.gov/news-events/news-releases/janssen-investigational-covid-19-vaccine-interim-analysis-phase-3-clinical-data-released> [Accessed: 05 January 2023].
- Nebehay, S. (2020) *WHO says it no longer uses 'pandemic' category, but virus still emergency*. Available at: <https://www.reuters.com/article/uk-china-health-who-idUKKCN20I0PD> [Accessed: 12 April 2022].
- Ng, E.K.O., Hui, D.S., Chan, K.C.A. et al. (2003) ‘Quantitative analysis and prognostic implication of SARS coronavirus RNA in the plasma and serum of patients with severe acute respiratory syndrome’, *Clinical Chemistry*, 49, pp. 1976-1980. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14633867/> [Accessed: 13 December 2022].
- Nieto-Torres, J.L., DeDiego, M.L., Verdiá-Báguena, C. et al. (2014) ‘Severe acute respiratory syndrome coronavirus envelope protein ion channel activity promotes virus fitness and pathogenesis’, *PLoS Pathogens*, 10. Available at: <https://journals.plos.org/plospathogens/article?id=10.1371/journal.ppat.1004077> [Accessed: 21 August 2022].



- Nikolaidis, M., Markoulatos, P., Van de Peer, Y. et al. (2022) ‘The Neighborhood of the Spike Gene Is a Hotspot for Modular Intertypic Homologous and Nonhomologous Recombination in Coronavirus Genomes’, *Molecular biology and evolution*, 39(1), msab292. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8549283/> [Accessed: 24 December 2022].
- Noh, J. Y., Yang, J. S., Hwang, S. Y. et al. (2022) ‘Duration of Humoral Immunity and Cross-Neutralizing Activity Against the Alpha, Beta, and Delta Variants After Wild-Type Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection: A Prospective Cohort Study’, *The Journal of infectious diseases*, 226(6), pp. 975–978. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8903377/> [Accessed: 21 December 2022].
- Nordström, P., Ballin, M. and Nordström, A. (2022) ‘Risk of SARS-CoV-2 Reinfection and COVID-19 hospitalisation in individuals with natural- and hybrid immunity: a retrospective, total population cohort study in Sweden’, *SSRN*. Available at: [https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract\\_id=4000584](https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=4000584) [Accessed: 1 March 2023].
- Notomi, T., Okayama, H., Masubuchi, H. et al. (2000) ‘Loop-mediated isothermal amplification of DNA’, *Nucleic Acids Research*, 28(12):E63. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC102748/> [Accessed: 14 December 2022].
- Olariu, T.R., Ursoniu, S., Marincu, I. and Lupu, M.A. (2021) ‘Dynamics of Antibody Response to BNT162b2 mRNA COVID-19 Vaccine: A 7-Month Follow-Up Study’, *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, 57(12), p. 1330. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8708569/> [Accessed: 29 December 2022].
- Oliveira, M., Mason-Buck, G., Ballard, D., Branicki, W., and Amorim, A. (2020) ‘Biowarfare, bioterrorism and biocrime: a historical overview on microbial harmful applications’, *Forensic Science International*, 314. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2020.110366> [Accessed: 2 April 2022].
- Ommeh, S., Zhang, W., Zohaib, A., Chen, J., Zhang, H.J. et al. (2018) ‘Genetic evidence of middle east respiratory syndrome coronavirus (MERS-cov) and widespread seroprevalence among camels in Kenya’, *Virologica Sinica* 33(6), pp. 484–492. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12250-018-0076-4> [Accessed: 29 April 2022].
- Ontañón, J., Blas, J., de Cabo, C. et al. (2021) ‘Influence of past infection with SARS-CoV-2 on the response to the BNT162b2 mRNA vaccine in health care workers: Kinetics and durability of the humoral immune response’, *eBioMedicine*, 73, p. 103656. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352396421004503> [Accessed: 29 December 2022].
- Ortega, N., Ribes, M., Vidal, M. et al. (2021) ‘Seven-month kinetics of SARS-CoV-2 antibodies and role of pre-existing antibodies to human coronaviruses’, *Nature communications*, 12(1), p. 4740. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8346582/> [Accessed: 21 December 2022].
- Osipiuk, J., Azizi, S.A., Dvorkin, S., Endres, M. et al. (2021) ‘Structure of papain-like protease from SARS-CoV-2 and its complexes with non-covalent inhibitors’ *Nature Communications*, 12, pp. 1-9. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41467-021-21060-3> [Accessed: 20 August 2022].

- Oude Munnink, B.B., Sikkema, R.S., Nieuwenhuijse, D.F. et al. (2021) ‘Transmission of SARS-CoV-2 on mink farms between humans and mink and back to humans’ *Science*, 371(6525), pp. 172-177. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33172935/> [Accessed: 01 August 2022].
- Padoan, A., Dall’Olmo, L., della Rocca, F. et al. (2021) ‘Antibody response to first and second dose of BNT162b2 in a cohort of characterized healthcare workers’, *Clinica Chimica Acta*, 519, pp. 60–63. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009898121001297> [Accessed: 28 December 2022].
- Pajon, R., Doria-Rose, N. A., Shen, X. et al. (2022) ‘SARS-CoV-2 Omicron Variant Neutralization after mRNA-1273 Booster Vaccination’, *The New England journal of medicine*, 386(11), pp. 1088–1091. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8809504/> [Accessed: 30 December 2022].
- Papineau, A., Berhane, Y., Wylie, T.N. et al. (2019) ‘Genome organization of Canada goose coronavirus, A novel species identified in a mass Die-off of Canada geese’, *Scientific Reports*, 9(1), p. 5954. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42355-y> [Accessed: 04 May 2022].
- Parai, D., Choudhary, H.R., Dash, G.C. et al. (2021) ‘Single-dose of BBV-152 and AZD1222 increases antibodies against spike glycoprotein among healthcare workers recovered from SARS-CoV-2 infection’, *Travel medicine and infectious disease*, 44, p. 102170. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8511548/> [Accessed: 03 January 2023].
- Park, K.S., Sun, X., Aikins, M.E. and Moon, J.J. (2021) ‘Non-viral COVID-19 vaccine delivery systems’, *Advanced drug delivery reviews*, 169, pp. 137–151. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7744276/> [Accessed: 24 December 2022].
- Park, Y.J., Pinto, D., Walls, A.C. et al. (2022) ‘Imprinted antibody responses against SARS-CoV-2 Omicron sublineages’, bioRxiv Preprint posted online. Available at: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2022.05.08.491108v4> [Accessed: 25 January 2023].
- Parthasarathy, U., Martinelli, R., Vollmann, E.H. et al. (2022) ‘The Impact of DAMP-Mediated Inflammation in Severe COVID-19 and Related Disorders’, *Biochemical Pharmacology*, 195, p. 114847. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006295221004639> [Accessed: 17 December 2022].
- Pascarella, G., Strumia, A., Piliego, C. et al. (2020) ‘COVID-19 diagnosis and management: A comprehensive review’, *Journal of Internal Medicine*, 288, pp.192–206. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32348588/> [Accessed: 7 December 2022].
- Patel, S.K., Velkoska, E. and Burrell, L.M. (2013) ‘Emerging markers in cardiovascular disease: where does angiotensin-converting enzyme 2 fit in?’, *Clinical and experimental pharmacology & physiology*, 40(8), pp. 551–559. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23432153/> [Accessed: 19 December 2022].
- Pegu, A., O’Connell, S.E., Schmidt, S.D. (2021) ‘Durability of mRNA-1273 vaccine-induced antibodies against SARS-CoV-2 variants’, *Science (New York, N.Y.)*, 373(6561), pp. 1372–1377. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8691522/> [Accessed: 2 March 2023].
- Peiris, J.S., Yuen, K.Y., Osterhaus, A.D. and Stöhr, K. (2003) ‘The severe acute respiratory syndrome’, *The New England Journal of Medicine*, 349(25), pp. 2431-41. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14681510/> [Accessed: 27 April 2022].



- Pekar, J., Worobey, M., Moshiri, N., Scheffler, K. and Wertheim, J.O. (2021) ‘Timing the SARS-CoV-2 index case in Hubei province’, *Science*, 372(6540), pp. 412-417. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33737402/> [Accessed: 29 July 2022].
- Pekar, J. E., Magee, A., Parker, E., Moshiri, N., Izhikevich, K. et al. (2022) ‘The molecular epidemiology of multiple zoonotic origins of SARS-CoV-2’ *Science*, 377, pp. 960–966. Available at: <https://www.science.org/doi/full/10.1126/science.abp8337> [Accessed: 28 July 2022].
- Pellenz, S. (2022) *SARS-CoV-2 Non-Structural Proteins*. Available at: <https://www.antibodies-online.com/areas/infectious-disease/covid-19/sars-cov-2-proteins/sars-cov-2-nsp/> [Accessed: 24 August 2022].
- Peng, Q., Peng, R., Yuan, B., Zhao, J., Wang, M. et al. (2020) ‘Structural and biochemical characterization of the nsp12-nsp7-nsp8 core polymerase complex from SARS-CoV-2’, *Cell Reports*, 31(11). Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211124720307543> [Accessed: 24 August 2022].
- Peng, X., Cheng, J., Gong, H. et al. (2021) ‘Advances in the design and development of SARS-CoV-2 vaccines’, *Military Medical Research*, 8, p. 67. Available at: <https://mmrjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40779-021-00360-1> [Accessed: 07 January 2023].
- Peng, X., Ouyang, J., Isnard, S. et al. (2020) ‘Sharing CD4+ T Cell Loss: When COVID-19 and HIV Collide on Immune System’ *Frontiers in immunology*, 11, p. 596631. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7770166/> [Accessed: 19 January 2023].
- Peng, Y., Du, N., Lei, Y. et al. (2020) ‘Structures of the SARS-CoV-2 nucleocapsid and their perspectives for drug design’, *The EMBO Journal*, 39, pp. 1-12. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32914439/> [Accessed: 22 August 2022].
- Pennisi, M., Lanza, G., Falzone, L. et al. (2020) ‘SARS-CoV-2 and the Nervous System: From Clinical Features to Molecular Mechanisms’, *International Journal of Molecular Sciences*, 21, p. 5475. Available at: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/15/5475> [Accessed: 7 December 2022].
- Pensaert, M.B. and Bouck, P. (1978) ‘A new coronavirus-like particle associated with diarrhea in swine’, *Archives of Virology*, 58(3), pp. 243–247. Available at: <https://doi.org/10.1007/BF01317606> [Accessed: 22 April 2022].
- Pereson, M.J., Mojsiejczuk, L., Martínez, A.P. et al. (2021) ‘Phylogenetic analysis of SARS-CoV-2 in the first few months since its emergence’, *Journal of Medical Virology*, 93, pp. 1722–1731. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32966646/> [Accessed: 18 September 2022].
- Petráš M. (2021) ‘Highly Effective Naturally Acquired Protection Against COVID-19 Persists for at Least 1 Year: A Meta-Analysis’, *JAMDA*, 22, pp. 2263–5. Available at: [https://www.jamda.com/article/S1525-8610\(21\)00766-0/fulltext](https://www.jamda.com/article/S1525-8610(21)00766-0/fulltext) [Accessed: 1 March 2023].
- Pfefferle, S., Oppong, S., Drexler, J.F. et al. (2009) ‘Distant relatives of severe acute respiratory syndrome coronavirus and close relatives of human coronavirus 229E in bats, Ghana’, *Emerging Infectious Diseases*, 15(9), pp. 1377–1384. Available at: <https://doi.org/10.3201/eid1509.090224> [Accessed: 20 April 2022].
- Pfefferle, S., Reucher, S., Nrz, D. et al. (2020) ‘Evaluation of a quantitative RT-PCR assay for the detection of the emerging coronavirus SARS-CoV-2 using a high throughput system’, *Eurosurveillance*, 25(9), p. 25. Available

- at: <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.9.2000152> [Accessed: 13 December 2022].
- Piano Mortari, E., Russo, C., Vinci, M.R. et al. (2021) ‘Highly Specific Memory B Cells Generation after the 2nd Dose of BNT162b2 Vaccine Compensate for the Decline of Serum Antibodies and Absence of Mucosal IgA’, *Cells*, 10(10), p. 2541. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8533837/> [Accessed: 28 December 2022].
  - Piccoli, L., Park, Y.J., Tortorici, M.A. et al. (2020) ‘Mapping Neutralizing and Immunodominant Sites on the SARS-CoV-2 Spike Receptor-Binding Domain by Structure-Guided High-Resolution Serology’, *Cell*, 183(4), pp. 1024–1042.e21. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7494283/> [Accessed: 19 December 2022].
  - Pillon, M.C., Frazier, M.N., Dillard, L.B. et al. (2021) ‘Cryo-EM structures of the SARS-CoV-2 endoribonuclease Nsp15 reveal insight into nuclease specificity and dynamics’, *Nature Communications*, pp. 1–12. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41467-020-20608-z> [Accessed: 24 August 2022].
  - Pilz, S., Theiler-Schwetz, V., Trummer, C. et al. (2022) ‘SARS-CoV-2 reinfections: Overview of efficacy and duration of natural and hybrid immunity’, *Environmental research*, 209, p. 112911. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8824301/> [Accessed: 1 March 2023].
  - Piret, J. and Boivin, G. (2021) ‘Pandemics Throughout History’, *Frontiers in Microbiology*, 11. Available at: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.631736> [Accessed: 5 April 2022].
  - Pisanic, N., Randad, P.R., Kruczynski, K. et al. (2020) ‘COVID-19 Serology at Population Scale: SARS-CoV-2-Specific Antibody Responses in Saliva’, *Journal of clinical microbiology*, 59(1), e02204-20. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33067270/> [Accessed: 18 December 2022].
  - Pitoyo C. W. (2020) ‘The collateral impacts of pandemic’, *Acta Medical Indonesiana*, 52, pp. 315-317. Available at: [http://www.actamedindones.org/index.php/ijim/article/view/1652?utm\\_medium=email&utm\\_source=transaction](http://www.actamedindones.org/index.php/ijim/article/view/1652?utm_medium=email&utm_source=transaction) [Accessed: 30 March 2022].
  - Plotkin, S.A. (2010) ‘Correlates of Protection Induced by Vaccination’, *Clinical and Vaccine Immunology*, 17 (7), pp. 1055–1065. Available at: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/CVI.00131-10> [Accessed: 27 December 2022].
  - Ponticelli, D., Antonazzo, I.C., Caci, G. et al. (2021) ‘Dynamics of antibody response to BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine after 6 months’, *Journal of Travel Medicine*, 28(8). Available at: <https://academic.oup.com/jtm/article/28/8/taab173/6410146> [Accessed: 29 December 2022].
  - Pooley, N., Abdool Karim, S.S., Combadière, B. et al. (2023) ‘Durability of Vaccine-Induced and Natural Immunity Against COVID-19: A Narrative Review’, *Infectious Diseases and Therapy*, 12, pp. 367–387. Available at: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40121-022-00753-2#Sec4> [Accessed: 2 March 2023].
  - Poon, L.L.M., Chan, K.H., Wong, O.K. et al. (2004). Detection of SARS coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome by conventional and real-time quantitative reverse transcription-PCR assays, *Clinical Chemistry*, 50, pp. 67-72. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14709637/> [Accessed: 12 December].

- Pormohammad, A., Zarei, M., Ghorbani, S. et al. (2021) ‘Efficacy and Safety of COVID-19 Vaccines: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials’, *Vaccines*, 9(5), p. 467. Available at: <https://www.mdpi.com/2076-393X/9/5/467> [Accessed: 28 December 2022].
- Posthuma, C.C., Nedialkova, D.D., Zevenhoven-Dobbe, J.C. et al. (2006) ‘Site-directed mutagenesis of the Nidovirus replicative endoribonuclease NendoU exerts pleiotropic effects on the Arterivirus life cycle’, *Journal of Virology*, 80(4), pp. 1653–1661. Available at: <https://doi.org/10.1128/JVI.80.4.1653-1661.2006> [Accessed: 23 April 2022].
- Posthuma, C.C., Pedersen, K.W., Lu, Z.C. et al. (2008) ‘Formation of the Arterivirus replication/transcription complex: a key role for nonstructural protein 3 in the remodeling of intracellular membranes’, *Journal of Virology*, 82(9), pp. 4480–4491. Available at: <https://doi.org/10.1128/JVI.02756-07> [Accessed: 1 June 2022].
- Pringle, C.R. (1996) ‘Virus taxonomy 1996- a bulletin from the xth international congress of virology in Jerusalem’, *Archives of Virology*, 141(11), pp. 2251–2256. Available at: <https://doi.org/10.1007/BF01718231> [Accessed: 15 April 2022].
- Pusterla, N., Vin, R., Leutenegger, C., Mittel, L.D. and Divers, T.J. (2016) ‘Equine coronavirus: an emerging enteric virus of adult horses’. *Equine Veterinary Education*, 28(4), pp. 216–223. Available at: <https://doi.org/10.1111/eve.12453> [Accessed: 28 April 2022].
- Pyo, D. & Yoo, J. (2012) ‘New trends in fluorescence immunochromatography’, *Journal of Immunoassay and Immunochemistry*, 33, pp. 203-222. Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/15321819.2011.618863> [Accessed: 15 December 2022].
- Quan, P.L., Sauzade, M. and Brouzes, E. (2018) ‘dPCR: A Technology Review’, *Sensors*, 18, p. 1271. Available at: <https://doi.org/10.3390/s18041271> [Accessed: 12 December 2022].
- Qun, L., Guan, X., Wu, P. et al. (2020) *Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus–Infected Pneumonia*. Available at: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejmoa2001316> [Accessed: 27 June 2022].
- Raghavan, P. (2021) *Explained: How Zyclus Cadila’s ZyCov-D vaccine for Covid-19 works, and how it is different*. Available at: <https://indianexpress.com/article/explained/explained-how-zycov-d-works-how-it-is-different-7385000/> [Accessed: 06 January 2023].
- Ramasamy, M.N., Minassian, A.M., Ewer, K.J. et al. (2021) ‘Safety and immunogenicity of ChAdOx1 nCoV-19 vaccine administered in a prime-boost regimen in young and old adults (COV002): a single-blind, randomised, controlled, phase 2/3 trial’, *Lancet (London, England)*, 396(10267), pp. 1979–1993. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7674972/> [Accessed: 03 January 2023].
- Rambaut, A., Holmes, E.C., O’Toole, Á. et al. (2020) ‘A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology’, *Nature Microbiol*, 5(11), pp. 1403-1407. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32669681/> [Accessed: 28 July 2022].
- Rauch, S., Jasny, E., Schmidt, K.E. and Petsch, B. (2018) ‘New Vaccine Technologies to Combat Outbreak Situations’, *Frontiers in immunology*, 9, p. 1963. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6156540/> [Accessed: 06 January 2023].

- Rauch, S., Roth, N., Schwendt, K. et al. (2021) ‘mRNA-based SARS-CoV-2 vaccine candidate CVnCoV induces high levels of virus-neutralising antibodies and mediates protection in rodents’, *npj Vaccines*, 6(57). Available at: <https://www.nature.com/articles/s41541-021-00311-w> [Accessed: 27 December 2022].
- Ravichandran, S., Grubbs, G., Tang, J. et al. (2021) ‘Systemic and mucosal immune profiling in asymptomatic and symptomatic SARS-CoV-2-infected individuals reveal unlinked immune signatures’, *Science advances*, 7(42), eabi6533. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8514093/> [Accessed: 21 December 2022].
- Reddy, V.R.A.P., Theuns, S., Roukaerts, I.D.M. et al. (2015) ‘Genetic characterization of the Belgian nephropathogenic infectious bronchitis virus (NIBV) reference strain B1648’, *Viruses*, 7(8), pp. 4488–4506. Available at: <https://doi.org/10.3390/v7082827> [Accessed: 04 May 2022].
- Redondo, N., Zaldívar-López, S., Garrido J. J. and Montoya I M. (2021) *SARS-CoV-2 Accessory Proteins in Viral Pathogenesis: Knowns and Unknowns*. Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2021.708264/full#B9> [Accessed: 25 August 2022].
- Regev-Yochay, G., Gonen, T., Gilboa, M. et al. (2022) ‘Efficacy of a Fourth Dose of Covid-19 mRNA Vaccine against Omicron’. *The New England journal of medicine*, 386(14), pp. 1377–1380. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9006792/> [Accessed: 3 March 2023].
- Renk, H., Dulovic, A., Seidel, A. et al. (2022) ‘Robust and durable serological response following pediatric SARS-CoV-2 infection’, *Nature communications*, 13(1), p. 128. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8748910/> [Accessed: 23 December 2022].
- Renu, K., Prasanna, P.L. and Valsala Gopalakrishnan, A. (2020) ‘Coronaviruses pathogenesis, comorbidities and multi-organ damage - A review’, *Life Sciences*, 255, p. 117839. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32450165/> [Accessed: 10 December 2022].
- Reusken, C.B., Haagmans, B.L., Müller, M.A. et al. (2013) ‘Middle East respiratory syndrome coronavirus neutralising serum antibodies in dromedary camels: a comparative serological study’ *The Lancet Infectious Diseases*, 13(10), pp. 859–866. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(13\)70164-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(13)70164-6) [Accessed: 01 May 2022].
- Reusken, C.B.E.M., Messadi, L., Feyisa, A., Ularanu, H. et al. (2014) ‘Geographic distribution of MERS coronavirus among dromedary camels, Africa’, *Emerging Infectious Diseases*, 20(8), pp. 1370–1374. Available at: <https://doi.org/10.3201/eid2008.140590>. [Accessed: 01 May 2022].
- Reynolds, H. Y. (1988) ‘Immunoglobulin G and its function in the human respiratory tract’, *Mayo Clinic proceedings*, 63(2), pp. 161–174.
- Richmond, C (2005) ‘David Tyrrell’, *BMJ* 330, p. 1451. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC558394/> [Accessed 22 April 2022].
- Ricklin, D., Hajishengallis, G., Yang, K., & Lambris, J. D. (2010) ‘Complement: a key system for immune surveillance and homeostasis’, *Nature immunology*, 11(9), pp. 785–797. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2924908/> [Accessed: 16 January 2023].

- Ringlander, J., Martner, A., Nilsson, S. et al. (2021) ‘Incidence and Severity of Covid-19 in Patients with and without Previously Verified Infections with Common Cold Coronaviruses’, *The Journal of infectious diseases*, 223(10), pp. 1831–1832. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8083637/> [Accessed: 22 December 2022].
- Robert-Guroff M. (2007) ‘Replicating and non-replicating viral vectors for vaccine development’, *Current opinion in biotechnology*, 18(6), pp. 546–556. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2245896/> [Accessed: 31 December 2022].
- Robertson, L.J., Price, R., Moore, J.S. et al. (2022) ‘IgG antibody production and persistence to 6 months following SARS-CoV-2 vaccination: A Northern Ireland observational study’, *Vaccine*, 40(18), pp. 2535–2539. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8900637/> [Accessed: 04 January 2023].
- Rogstam, A., Nyblom, M., Christensen, S., Sele, C. et al. (2020) ‘Crystal structure of non-structural protein 10 from severe acute respiratory syndrome coronavirus-2’, *International Journal of Molecular Sciences*, 21, pp. 1–15. Available at: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/19/7375> [Accessed: 24 August 2022].
- Röltgen, K., Powell, A.E., Wirz, O.F. et al. (2020), ‘Defining the features and duration of antibody responses to SARS-CoV-2 infection associated with disease severity and outcome’, *Science immunology*, 5(54), eabe0240. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7857392/> [Accessed: 27 December 2022].
- Rosas-Lemus, M., Minasov, G., Shuvalova, L., Inniss, N.L., Kiryukhina, O., Brunzelle, J. and Satchell K.J.F. (2020) ‘High-resolution structures of the SARS-CoV-2 2’-O-methyltransferase reveal strategies for structure-based inhibitor design’, *Science Signaling*, 13. Available at: <https://www.science.org/doi/full/10.1126/scisignal.abe1202> [Accessed: 25 August 2022].
- Rosenberg, E.S., Dorabawila, V., Easton, D. et al. (2022) ‘Covid-19 Vaccine Effectiveness in New York State’, *The New England journal of medicine*, 386(2), pp. 116–127. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8693697/> [Accessed: 3 March 2023].
- Rosenquist, C., Fledelius, C., Christgau, S. et al. (1998). Serum CrossLaps One Step ELISA. First application of monoclonal antibodies for measurement in serum of bone-related degradation products from C-terminal telopeptides of type I collagen, *Clinical Chemistry*, 44(11), pp. 2281–2289. Available at: <https://academic.oup.com/clinchem/article/44/11/2281/5643130> [Accessed: 15 December 2022].
- Rota, P.A., Oberste, M.S., Monroe, S.S., Nix, W.A. et al. (2003) ‘Characterization of a novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome’, *Science*, 300(5624), pp.1394–9. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12730500/> [Accessed: 23 April 2022].
- Rydzynski Moderbacher, C., Ramirez, S.I., Dan, J.M. et al. (2020) ‘Antigen-specific adaptive immunity to SARS-CoV-2 in acute COVID-19 and associations with age and disease severity’, *Cell*, 183(4), pp. 996–1012. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7494270/> [Accessed: 13 December 2022].
- Ryzhikov, A., Ryzhikov, E., Bogryantseva, M. et al. (2021) ‘Immunogenicity and protectivity of the peptide candidate vaccine against SARS-CoV-2’, *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*, 76, pp. 5–19. Available at: <https://vestnikramn.spr-journal.ru/jour/article/view/1528> [Accessed: 07 January 2023].



- Saberi, A., Gulyaeva, A.A., Brubacher, J.L., Newmark, P.A. and Gorbalenya A.E. (2018) ‘A planarian nidovirus expands the limits of RNA genome size’, *PLoS Pathogens*. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007314> [Accessed: 24 April 2022].
- Sabir, J.S.M., Lam, T.T.Y., Ahmed, M.M.M. et al. (2016) ‘Co-circulation of three camel coronavirus species and recombination of MERS-CoVs in Saudi Arabia’, *Science*, 351(6268), pp. 81–84. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.aac8608> [Accessed 20 April 2022].
- Sadarangani, M., Marchant, A. and Kollmann, T. (2021) ‘Immunological mechanisms of vaccine-induced protection against COVID-19 in humans’, *Nature Reviews Immunology*, 21, pp. 475–484. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41577-021-00578-z> [Accessed: 07 January 2023].
- Sadoff, J., Gray, G., Vandebosch, A. et al. (2021) ‘Safety and Efficacy of Single-Dose Ad26.COV2.S Vaccine against Covid-19’, *The New England journal of medicine*, 384(23), pp. 2187–2201. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8220996/> [Accessed: 04 January 2023].
- Safari, F., Afarid, M., Rastegari, B. et al. (2021). CRISPR systems: Novel approaches for detection and combating COVID-19, *Virus Research*, 294, p. 198282. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33428981/> [Accessed: 14 December 2022].
- Sahin, U., Muik, A., Derhovanessian, E. et al. (2020) ‘COVID-19 vaccine BNT162b1 elicits human antibody and TH1 T cell responses’, *Nature* 586, pp. 594–599. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2814-7> [Accessed: 28 December 2022].
- Salamanna, F., Maglio, M., Landini, M.P. and Fini, M. (2020) ‘Body Localization of ACE-2: On the Trail of the Keyhole of SARS-CoV-2’, *Frontiers in Medicine*, 7. Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmed.2020.594495/full> [Accessed: 10 December 2022].
- Sallusto, F., Lanzavecchia, A., Araki, K., and Ahmed, R. (2010) ‘From vaccines to memory and back’, *Immunity*, 33(4), pp. 451–463. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2010.10.008> [Accessed: 27 December 2022].
- Salvagno, G.L., Henry, B.M., Pighi, L. et al. (2021) ‘Three-month analysis of total humoral response to Pfizer BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccination in healthcare workers’, *Journal of Infection*, 83, e4–e5. Available at: [https://www.journalofinfection.com/article/S0163-4453\(21\)00321-2/fulltext](https://www.journalofinfection.com/article/S0163-4453(21)00321-2/fulltext) [Accessed: 28 December 2022].
- Sampath, S., Khedr, A., Qamar, S. et al. (2021) ‘Pandemics Throughout the History’, *Cureus* 13(9). Available at: <https://www.cureus.com/articles/69273-pandemics-throughout-the-history> [Accessed: 30 March 2022].
- Samson, R., Navale, G.R. and Dharne, M.S. (2020). Biosensors: frontiers in rapid detection of COVID-19, 3 *Biotech*, 10(9), p. 385. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32818132/> [Accessed: 12 December 2022].
- Sandberg, J.T., Varnaitè, R., Christ, W. et al. (2021) ‘SARS-CoV-2-specific humoral and cellular immunity persists through 9 months irrespective of COVID-19 severity at hospitalisation’, *Clinical & translational immunology*, 10(7), e1306. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8256672/> [Accessed: 20 December 2022].
- Sasso, E., D'Alise, A.M., Zambrano, N. et al. (2020) ‘New viral vectors for infectious diseases and cancer’, *Seminars in Immunology*, 50, pp. 101430. Available at:



- <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1044532320300464?via%3Dihub> [Accessed: 30 December 2022].
- Sasson, J.M., Campo, J.J., Carpenter, R.M. et al. (2021) ‘Diverse Humoral Immune Responses in Younger and Older Adult COVID-19 Patients’, *mBio*, 12(3), e0122921. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8262923/> [Accessed: 19 December 2022].
  - Schalk, A.F. and Hawn, M.C. (1931) ‘An apparently new respiratory disease of baby chicks’, *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 78, pp. 413-23.
  - Scheiblaue, H., Nübling, C.M., Wolf, T. et al. (2022) ‘Antibody response to SARS-CoV-2 for more than one year—kinetics and persistence of detection are predominantly determined by avidity progression and test design’, *Journal of clinical virology: the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 146, p. 105052. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8642248/> [Accessed: 21 December 2022].
  - Scheidel, W. (2017) *The great leveler: violence and the history of inequality from the stone age to the twenty-first century. Chapter 10: the black death*. Princeton: Princeton University Press, p. 291–313.
  - Schlake, T., Thess, A., Fotin-Mleczek M. and Kallen, K.J. (2012) ‘Developing mRNA-vaccine technologies’, *RNA Biology*, 9:11, pp. 1319-1330. Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.4161/rna.22269> [Accessed: 26 December 2022].
  - Schultze, J.L. and Aschenbrenner, A.C. (2021) ‘COVID-19 and the human innate immune system’, *Cell*, 184(7), pp. 1671–1692. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7885626/> [Accessed: 16 January 2023].
  - Scrima, M., Cossu, A.M., D’Andrea, E.L. et al. (2022) ‘Genomic Characterization of the Emerging SARS-CoV-2 Lineage in Two Districts of Campania (Italy) Using Next-Generation Sequencing’, *Frontiers in Virology*. Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fviro.2022.814114/full> [Accessed: 17 September 2022].
  - Sermet-Gaudelus, I., Temmam, S., Huon, C. et al. (2021) ‘Prior infection by seasonal coronaviruses, as assessed by serology, does not prevent SARS-CoV-2 infection and disease in children, France, April to June 2020’, *Euro surveillance*, 26(13), p. 2001782. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8017906/> [Accessed: 22 December 2022].
  - Service, R.F. (2020) *The standard coronavirus test, if available, works well—but can new diagnostics help in this pandemic? New technologies could help blunt the outbreak*. Available at: <https://www.science.org/content/article/standard-coronavirus-test-if-available-works-well-can-new-diagnostics-help-pandemic> [Accessed: 14 December 2022].
  - Sette, A. and Crotty, S. (2021) ‘Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19’, *Cell*, 184, pp. 861-880. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7803150/> [Accessed: 13 December 2022].
  - Shang, J., Han, N., Chen, Z. et al. (2021) ‘Compositional diversity and evolutionary pattern of coronavirus accessory proteins’, *Briefings in Bioinformatics*, 22(2), pp. 1267–1278. Available at: <https://academic.oup.com/bib/article/22/2/1267/5943788?login=false> [Accessed 25 August 2022].
  - Shang, J., Wan, Y., Luo, C., Ye, G. et al. (2020) ‘Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2’, *PNAS*, 117(21), pp. 11727-11734. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32376634/> [Accessed 25 August 2022].

- Shang, J. G., Ye, K., Shi, Y., Wan, C., Luo, H. et al. (2020) ‘Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2’, *Nature*, 581, pp. 221-224. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2179-y> [Accessed: 21 August 2022].
- Shaw, A.C., Joshi, S., Greenwood, H. et al. (2010), ‘Aging of the innate immune system’, *Current opinion in immunology*, 22(4), pp. 507–513. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4034446/> [Accessed: 20 December 2022].
- Sheehan, M.M., Reddy, A.J. and Rothberg, M.B. (2021) ‘Reinfection Rates Among Patients Who Previously Tested Positive for Coronavirus Disease 2019: A Retrospective Cohort Study’, *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 73(10), pp. 1882–1886. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7989568/> [Accessed: 1 March 2023].
- Shen, S., Zhang, Z. and He, F. (2021) ‘The phylogenetic relationship within SARS-CoV-2s: An expanding basal clade’, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 157. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S105579032030289X?via%3Dihub> [Accessed: 18 September 2022].
- Shi, D., Weng, T., Wu, J. et al. (2021) ‘Dynamic Characteristic Analysis of Antibodies in Patients With COVID-19: A 13-Month Study’, *Frontiers in immunology*, 12, p. 708184. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8330131/> [Accessed: 20 December 2022].
- Shi, M., Lin, X.D., Chen, X., Tian, J.H. et al. (2018) ‘The evolutionary history of vertebrate RNA viruses’, *Nature*, 556(7700), pp. 197–202. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0012-7> [Accessed: 1 June 2022].
- Shi, Z. and Hu, Z. (2008) ‘A review of studies on animal reservoirs of the SARS coronavirus’, *Virus Research*, 133(1), pp. 74-87. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17451830/> [Accessed: 23 April 2022].
- Shi, Z. and Wang, L.F. (2017) ‘Evolution of SARS Coronavirus and the Relevance of Modern Molecular Epidemiology’ *Genetics and Evolution of Infectious Diseases*, pp. 601–19. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7150232/> [Accessed: 28 April 2022]
- Shin, D., Mukherjee, R., Grewe, D. et al. (2020) ‘Papain-like protease regulates SARS-CoV-2 viral spread and innate immunity’, *Nature*, 587, pp. 657-662. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2601-5> [Accessed: 23 August 2022].
- Shinde, V., Bhikha, S., Hoosain, Z. et al. (2021) ‘Efficacy of NVX-CoV2373 Covid-19 Vaccine against the B.1.351 Variant’, *The New England Journal of Medicine*, 384, pp. 1899–909. Available at: <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa2103055> [Accessed: 1 March 2023].
- Shrotri, M., Navaratnam, A.M.D., Nguyen, V. et al. (2021) ‘Spike-antibody waning after second dose of BNT162b2 or ChAdOx1’, *Lancet (London, England)*, 398(10298), pp. 385–387. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8285117/> [Accessed: 04 January 2023].
- Shulla, A., Heald-Sargent, T., Subramanya, G., Zhao, J., Perlman, S. and Gallagher, T. (2011) ‘A transmembrane serine protease is linked to the severe acute respiratory syndrome coronavirus receptor and activates virus entry’,

- Journal of Virology*, 85(2). pp. 873-82. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21068237/> [Accessed 25 August 2022].
- Sigal, L.J. (2016) ‘Activation of CD8 T lymphocytes during viral infections’, *Encyclopedia of Immunobiology*, 4, pp. 286-290. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123742797140093?via%3Dihub> [Accessed: 19 January 2023].
  - Silva, V.O., Yamashiro, R., Ahagon, C.M., et al. (2021) ‘Inhibition of receptor-binding domain—ACE2 interaction after two doses of Sinovac’s CoronaVac or AstraZeneca/Oxford’s AZD1222 SARS-CoV-2 vaccines’, *Journal of Medical Virology*, 94, pp. 1217–1223. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jmv.27396> [Accessed: 04 January 2023].
  - Simmons, G., Gosalia, D.N., Rennekamp, A.J., Reeves, J.D., Diamond, S.L. and Bates, P. (2005) ‘Inhibitors of cathepsin L prevent severe acute respiratory syndrome coronavirus entry’, *PNAS*, 102(33), pp. 11876-81. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16081529/> [Accessed 26 August 2022].
  - Singh, A.K., Gillies, C.L., Singh, R. et al. (2020) ‘Prevalence of co-morbidities and their association with mortality in patients with COVID-19: A systematic review and meta-analysis’, *Diabetes, obesity & metabolism*, 22(10), pp. 1915–1924. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7361304/> [Accessed: 20 December 2022].
  - Singh, N., Suthar, B., Mehta, A., Nema, N. and Pandey, A. (2020) ‘Corona Virus: An Immunological Perspective Review’, *International Journal of Immunology and Immunotherapy*. Available at: <https://www.clinmedjournals.org/articles/ijii/international-journal-of-immunology-and-immunotherapy-ijii-7-050.php?jid=ijii> [Accessed: 28 April 2022].
  - Siu, K.L., Chan, C.P., Kok, K.H., Woo, P.C.Y. and Jin, D.Y. (2014) ‘Comparative analysis of the activation of unfolded protein response by spike proteins of severe acute respiratory syndrome coronavirus and human coronavirus HKU1’, *Cell & Bioscience*, 4 (1), p. 3. Available at: <https://doi.org/10.1186/2045-3701-4-3> [Accessed: 2 June 2022].
  - Sky News, (2021) *COVID-19 variants could be named after constellations once Greek alphabet is used up, WHO official says*. Available at: <https://news.sky.com/story/covid-19-variants-could-be-named-after-constellations-once-greek-alphabet-is-used-up-who-official-says-12376314> [Accessed: 18 September 2022].
  - Slezak, J., Bruxvoort, K., Fischer, H. et al. (2021) ‘Rate and severity of suspected SARS-Cov-2 reinfection in a cohort of PCR-positive COVID-19 patients’, *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 27(12). Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8373524/> [Accessed: 20 December 2022].
  - Smith, N. Goncalves, P., Charbit, B. et al. (2021) ‘Distinct systemic and mucosal immune responses during acute SARS-CoV-2 infection’, *Nature immunology*, 22, pp. 1428–1439. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8553615/> [Accessed: 18 December 2022].

- Snowden, F.M. (2008) ‘Emerging and reemerging diseases: a historical perspective’, *Immunological reviews*, 225(1), pp. 9–26. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7165909/> [Accessed: 18 April 2022].
- Sokal, A., Barba-Spaeth, G., Fernández, I. et al. (2021) ‘mRNA vaccination of naive and COVID-19-recovered individuals elicits potent memory B cells that recognize SARS-CoV-2 variants’, *Immunity*, 54, pp. 2893–2907. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1074761321003964> [Accessed: 29 December 2022].
- Song, D., Zhou, X., Peng, Q. et al. (2015) ‘Newly emerged porcine Deltacoronavirus associated with diarrhoea in swine in China: identification, prevalence and full-length genome sequence analysis’, *Transboundary and Emerging Diseases*, 62(6), pp.: 575–580. Available at: <https://doi.org/10.1111/tbed.12399> [Accessed: 05 May 2022].
- Sotoodeh Ghorbani, S., Taherpour, N., Bayat, S. et al (2022) ‘Epidemiologic characteristics of cases with reinfection, recurrence, and hospital readmission due to COVID-19: a systematic review and meta-analysis’, *Journal of Medical Virology*, 94, pp. 44–53. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/jmv.27281> [Accessed: 1 March 2023].
- Spinardi J. R. and Srivastava, A. (2023) ‘Hybrid Immunity to SARS-CoV-2 from Infection and Vaccination—Evidence Synthesis and Implications for New COVID-19 Vaccines’, *Biomedicines*, 11, p. 370. Available at: <https://www.mdpi.com/2227-9059/11/2/370> [Accessed: 27 January 2023].
- Sputnik Vaccine (2023) *About Sputnik V*. Available at: <https://sputnikvaccine.com/about-vaccine/> [Accessed: 05 January 2023].
- Ssentongo, P., Ssentongo, A.E., Voleti, N. et al. (2022) ‘SARS-CoV-2 vaccine effectiveness against infection, symptomatic and severe COVID-19: a systematic review and meta-analysis’, *BMC*, 22, p. 439. Available at: <https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-022-07418-y> [Accessed: 3 March 2023].
- Sterlin, D., Mathian, A., Miyara, M. et al. (2021) ‘IgA dominates the early neutralizing antibody response to SARS-CoV-2’, *Science translational medicine*, 13(577), eabd2223. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7857408/> [Accessed: 20 December 2022].
- Stockley, R.A., Mistry, M., Bradwell, A.R., and Burnett, D. (1979) ‘A study of plasma proteins in the sol phase of sputum from patients with chronic bronchitis’, *Thorax*, 34(6), pp. 777–782. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC471196/> [Accessed: 23 December 2022].
- Su, Y.C.F., Anderson, D.E., Young, B.E. et al. (2020) ‘Discovery and Genomic Characterization of a 382-Nucleotide Deletion in ORF7b and ORF8 during the Early Evolution of SARS-CoV-2’, *mBio*, 11(4). Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32694143/> [Accessed: 28 June 2022].
- Sun, L., Zhang, G.H., Jiang, J.W., Fu, J.D. et al. (2007) ‘A Massachusetts prototype like coronavirus isolated from wild peafowls is pathogenic to chickens’, *Virus Research*, 130(1/2), pp. 121–128. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2007.06.003> [Accessed: 03 May 2022].

- Suo, T., Liu, X., Feng, J. et al. (2020). ddPCR: a more accurate tool for SARS-CoV-2 detection in low viral load specimens, *Emerging Microbes & Infections*, 9(1), pp. 1259-1268. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32438868/> [Accessed: 13 December 2022].
- Suthar, M.S., Zimmerman, M.G., Kauffman, R.C., et al. (2020) ‘Rapid Generation of Neutralizing Antibody Responses in COVID-19 Patients’, *Cell reports. Medicine*, 1(3), p. 100040. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7276302/> [Accessed: 21 December 2022].
- Suzuki, T., Shibahara, T., Imai, N., Yamamoto, T. and Ohashi, S. (2018) ‘Genetic characterization and pathogenicity of Japanese porcine Deltacoronavirus’, *Infection, Genetics and Evolution*, 61, pp. 176–182. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.03.030> [Accessed: 05 May 2022].
- Swiss Institute of Bioinformatics (2020) *Alphacoronavirus*. Available at: <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjXguTqmJL9AhWLgv0HHXVJCD0QFnoECA4QAQ&url=https%3A%2F%2Fviralzone.expasy.org%2F766&usg=AOvVaw0G80zepwiONwMdf5jA2zwJ> [Accessed: 28 April 2022].
- Swiss Institute of Bioinformatics (2020) *Gammacoronavirus*. Available at: <https://viralzone.expasy.org/767> [Accessed: 30 April 2022].
- Swiss Institute of Bioinformatics (2022) *Betacoronavirus*. Available at: <https://viralzone.expasy.org/764> [Accessed: 30 April 2022].
- Tai, W., Zhang, X., Drelich, A. et al. (2020) ‘A novel receptor-binding domain (RBD)-based mRNA vaccine against SARS-CoV-2’, *Cell research*, 30(10), pp. 932–935. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7403570/> [Accessed: 27 December 2022].
- Talukder, A., Kalita, C., Neog, N. et al. (2022) ‘A comparative analysis on the safety and efficacy of Covaxin versus other vaccines against COVID-19: a review’, *Zeitschrift fur Naturforschung. C, Journal of biosciences*, 77(7-8), pp. 351–362. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35245422/> [Accessed: 07 January 2023].
- Tamminen, K., Salminen, M. and Blazevic, V. (2021) ‘Seroprevalence and SARS-CoV-2 cross-reactivity of endemic coronavirus OC43 and 229E antibodies in Finnish children and adults’, *Clinical immunology*, 229, p. 108782. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8188772/> [Accessed: 22 December 2022].
- Tan, L., Wang, Q., Zhang, D. et al. (2020) ‘Lymphopenia predicts disease severity of COVID-19: a descriptive and predictive study’, *Signal transduction and targeted therapy*, 5(1), p. 33. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7100419/> [Accessed: 19 January 2023].
- Tanasa, I.A., Manciu, C., Carauleanu, A. et al. (2020) ‘Anosmia and ageusia associated with coronavirus infection (COVID-19) - what is known?’, *Experimental and Therapeutic Medicine*, 20, pp. 2344–2347. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32765712/> [Accessed: 7 December 2022].
- Tang, D., Comish, P. and Kang R. (2020) ‘The hallmarks of COVID-19 disease’, *Plos Pathogens*. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008536> [Accessed: 24 April 2022].
- Tang, G., Huang, M., Luo, Y. et al. (2021) ‘The Dynamic Immunological Parameter Landscape in Coronavirus Disease 2019 Patients With Different Outcomes’, *Frontiers in immunology*, 12, p. 697622. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8586656/> [Accessed: 19 December 2022].



- Tang, J., Randolph, A.G., Novak, T. (2022) ‘Systemic and Lower Respiratory Tract Immunity to SARS-CoV-2 Omicron and Variants in Pediatric Severe COVID-19 and Mis-C’, *Vaccines*, 10(2), p. 270. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8879098/> [Accessed: 23 December 2022].
- Tao, Y., Shi, M., Chommanard, C., Queen, K. et al. (2017) ‘Surveillance of bat coronaviruses in Kenya identifies relatives of human coronaviruses NL63 and 229E and their recombination history’, *Journal of Virology*, 91(5). Available at: <https://doi.org/10.1128/jvi.01953-16> [Accessed: 28 May 2022].
- Tartey, S., and Takeuchi, O. (2017) ‘Pathogen recognition and Toll-like receptor targeted therapeutics in innate immune cells’, *International reviews of immunology*, 36(2), pp. 57–73. Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/08830185.2016.1261318?journalCode=iiri20> [Accessed: 15 January 2023].
- Terpos, E., Karalis, V., Ntanasis-Stathopoulos, I. et al. (2022) ‘Comparison of Neutralizing Antibody Responses at 6 Months Post Vaccination with BNT162b2 and AZD1222’, *Biomedicines*, 10, p. 338. Available at: <https://www.mdpi.com/2227-9059/10/2/338> [Accessed: 04 January 2023].
- The Associated Press (2021) *WHO skipped two Greek alphabet letters in naming coronavirus variant*. Available at: <https://apnews.com/article/fact-checking-207834730667> [Accessed: 18 September 2022].
- The Health Protection Agency (HPA) UK Novel Coronavirus Investigation team Collective (2013) ‘Evidence of person-to-person transmission within a family cluster of novel coronavirus infections, United Kingdom’, *Eurosurveillance* 18 (11), 20427. Available at: <https://doi.org/10.2807/ese.18.11.20427-en> [Accessed: 29 April 2022].
- Thomas, L. (2020) *SARS-CoV-2 Nucleocapside (N) protein is heavily glycosylated*. Available at: [https://www.news-medical.net/news/20200830/SARS-CoV-2-Nucleocapside-\(N\)-protein-is-heavily-glycosylated.aspx](https://www.news-medical.net/news/20200830/SARS-CoV-2-Nucleocapside-(N)-protein-is-heavily-glycosylated.aspx) [Accessed: 22 August 2022].
- Thomas, S.J., Moreira, E.D.Jr., Kitchin, N. et al. (2021) ‘Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA COVID-19 Vaccine through 6 Months’, *The New England Journal of Medicine*, 385, pp. 1761–1773. Available at: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NeJMoa2110345> [Accessed: 29 December 2022].
- Thor, S.W., Hilt, D.A., Kissinger, J.C., Paterson, A.H. and Jackwood, M.W. (2011) ‘Recombination in avian gamma-coronavirus infectious bronchitis virus’, *Viruses*, 3(9), pp. 1777–1799. Available at: <https://doi.org/10.3390/v3091777> [Accessed: 04 May 2022].
- Tian, W., Zhang, N., Jin, R. et al. (2020) ‘Immune suppression in the early stage of COVID-19 disease’, *Nature communications*, 11(1), p. 5859. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7673112/> [Accessed: 16 January 2023].
- Timoney, P. (2022) *COVID-19 and its Significance for the Horse*. Available at: <https://equine.ca.uky.edu/COVID-19andtheHorse> [Accessed: 30 April 2022].
- Torre, La G., Massetti, A.P., Antonelli, G. et al. (2020) ‘Anosmia and Ageusia as Predictive Signs of COVID-19 in Healthcare Workers in Italy: A Prospective Case-Control Study’, *Journal of Clinical Medicine*, 9, p. 2870. Available at: <https://www.mdpi.com/2077-0383/9/9/2870> [Accessed: 7 December 2022].



- Travieso, T., Li, J., Mahesh, S. et al. (2022) ‘The use of viral vectors in vaccine development’, *NPJ vaccines*, 7(1), p. 75. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9253346/> [Accessed: 31 December 2022].
- Turale, S., Meechamnan, C. and Kunaviktikul, W. (2020) ‘Challenging times: ethics, nursing and the COVID-19 pandemic’, *International Nursing Review*, 67(2), pp. 164-167. Available at: <https://doi.org/10.1111/inr.12598> [Accessed: 28 March 2022].
- Turoňová, B.M., Sikora, C., Schürmann, W.J.H. et al. (2020) ‘In situ structural analysis of SARS-CoV-2 spike reveals flexibility mediated by three hinges’, *Science*, 370, pp. 203-208. Available at: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.abd5223> [Accessed: 20 August 2022].
- Tyrrell, D.A. and Bynoe, M.L. (1965) ‘Cultivation of a Novel type of common-cold virus in organ cultures’, *British Medical Journal*, 1, pp. 1467-1470. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14288084/> [Accessed: 1 April 2022].
- Tyrrell, D.A. and Bynoe, M. (1966) ‘Cultivation of viruses from a high proportion of patients with colds’, *The Lancet*, 287(7428), pp. 76–77. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(66\)92364-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(66)92364-6) [Accessed: 1 April 2022].
- Tyrrell, D.A. and Fielder, M. (2002) *Cold wars: The fight against the common cold*. Oxford University Press, pp. 93-95.
- Ukuhor, H.O. (2021) ‘The interrelationships between antimicrobial resistance, COVID-19, past, and future pandemics’ *Journal of Infection and Public Health*, 14(1), pp. 53-60. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2020.10.018> [Accessed: 28 March 2022].
- Ullrich, S. and Nitsche, C. (2020) ‘The SARS-CoV-2 main protease as drug target’ *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960894X20304881> [Accessed: 23 August 2022].
- Upreti, S., and Samant, M. (2022) ‘A Review on Immunological Responses to SARS-CoV-2 and Various COVID-19 Vaccine Regimens’, *Pharmaceutical research*, 39(9), pp. 2119–2134. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9247891/> [Accessed: 30 December 2022].
- Ura, T., Okuda, K. and Shimada, M. (2014) ‘Developments in Viral Vector-Based Vaccines’, *Vaccines*, 2(3), pp. 624–641. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4494222/> [Accessed: 30 December 2022].
- Urrea, J.M., Cabrera, C.M., Porras, L. and Ródenas, I. (2020) ‘Selective CD8 cell reduction by SARS-CoV-2 is associated with a worse prognosis and systemic inflammation in COVID-19 patients’, *Clinical immunology (Orlando, Fla.)*, 217, p. 108486. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7256549/> [Accessed: 18 January 2023].
- Vabret, N., Britton, G.J., Gruber, C. et al. (2020) ‘Immunology of COVID-19: Current State of the Science’, *Immunity*, 52 (6), pp. 910–941. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1074761320301837> [Accessed: 17 December 2022].
- Van der Hoek, L. (2007) ‘Human coronaviruses: What do they cause?’ *Antiviral Therapy*, 12(4 Pt B), p. 651. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17944272/> [Accessed: 8 April 2022].

- Van der Hoek, L., Pyrc, K., Jebbink, M.F., Vermeulen-Oost, W. et al. (2004) ‘Identification of a new human coronavirus’, *Nature Medicine*, 10(4), pp. 368–373. Available at: <https://doi.org/10.1038/nm1024> [Accessed: 2 April 2022].
- Van Dongen, J.E., Berendsen, J.T.W., Steenbergen, R.D.M. et al. (2020), ‘Point-of-care CRISPR/Cas nucleic acid detection: Recent advances, challenges and opportunities’. *Biosens Bioelectron*, 166, p. 112445. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7382963/> [Accessed: 15 December 2022].
- Verbeke, R., Lentacker, I., De Smedt, S.C. and Dewitte, H. (2019) ‘Three decades of messenger RNA vaccine development’, *Nano Today*, 28, p. 100766. Available at: [https://www.researchgate.net/publication/335373402\\_Three\\_decades\\_of\\_messenger\\_RNA\\_vaccine\\_development](https://www.researchgate.net/publication/335373402_Three_decades_of_messenger_RNA_vaccine_development) [Accessed: 22 December 2022].
- Viehweger, A., Krautwurst, S., Lamkiewicz, K. et al. (2019) ‘Direct RNA nanopore sequencing of full-length coronavirus genomes provides novel insights into structural variants and enables modification analysis’, *Genome Research*, 29, pp. 1545-1554. Available at: <https://genome.cshlp.org/content/29/9/1545> [Accessed: 15 December 2022].
- Vlasova, A.N., Diaz, A., Dantie, D. et al. (2021) ‘Novel canine coronavirus Isolated from a hospitalized pneumonia patient, east Malaysia’, *Clinical Infectious Diseases*, Available at: <https://academic.oup.com/cid/article/74/3/446/6278597> [Accessed: 25 June 2022].
- Vogel, A.B., Kanevsky, I., Che, Y. et al. (2020) ‘A prefusion SARS-CoV-2 spike RNA vaccine is highly immunogenic and prevents lung infection in non-human primates’, *bioRxiv*. Available at: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.09.08.280818v1.abstract> [Accessed: 27 December 2022].
- Vu, D.L., Martinez-Murillo, P., Pigny, F. et al. (2021) ‘Longitudinal Analysis of Inflammatory Response to SARS-CoV-2 in the Upper Respiratory Tract Reveals an Association with Viral Load, Independent of Symptoms’, *Journal of clinical immunology*, 41(8), pp. 1723–1732. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8476983/> [Accessed: 23 December 2022].
- Walker, P.J., Siddell, S.G., Lefkowitz, E.J., Mushegian, A.R. et al. (2019) ‘Changes to virus taxonomy and the international code of virus classification and nomenclature ratified by the group of viruses (2019)’ *Archives of Virology*, 164(9), pp. 2417–2429. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00705-019-04306-w> [Accessed: 12 April 2022].
- Wall, E.C., Wu, M., Harvey, R. et al. (2021) ‘AZD1222-induced neutralising antibody activity against SARS-CoV-2 Delta VOC’, *Lancet* (London, England), 398(10296), pp. 207–209. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8238446/> [Accessed: 04 January 2023].
- Walls, A.C., Park, Y.J., Tortorici, M.A., Wall, A., McGuire, A.T. and Veasler, D. (2020) ‘Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein’, *Cell*, 183(6), p. 1735. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33306958/> [Accessed 25 August 2022].
- Wang, F., Qin, Z., Lu, H. et al. (2019) ‘Clinical translation of gene medicine’, *The journal of gene medicine*, 21(7), e3108. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jgm.3108> [Accessed: 30 December 2022].

- Wang, H., Zhang, Y., Huang, B. et al. (2020) ‘Development of an Inactivated Vaccine Candidate, BBIBP-CoV, with Potent Protection against SARS-CoV-2’, *Cell*, 182(3), pp. 713–721. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7275151/> [Accessed: 07 January 2023].
- Wang, K., Chen, W., Zhang, Z. et al. (2020) ‘CD147-spike protein is a novel route for SARS-CoV-2 infection to host cells’, *Signal transduction and targeted therapy*, 5(1), p. 283. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7714896/> [Accessed: 19 January 2023].
- Wang, L.F. and Eaton, B.T. (2007) ‘Bats, civets and the emergence of SARS’, *Current Topics in Microbiology Immunology*, 315, pp. 325-44. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17848070/> . [Accessed: 23 April 2022].
- Wang, L.F., Shi, Z., Zhang, S., Field, H., Daszak, P. and Eaton, B.T. (2006) ‘Review of bats and SARS’, *Emerging Infectious Diseases*, (12), pp. 1834-40. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17326933/>. [Accessed: 23 April 2022].
- Wang, L.Y., Byrum, B. and Zhang, Y. (2014) ‘Porcine coronavirus HKU15 detected in 9 US states’, 2014’, *Emerging Infectious Diseases*, 20(9), pp. 1594–1595. Available at: <https://doi.org/10.3201/eid2009.140756> [Accessed: 05 May 2022].
- Wang, M., Fu, A., Hu, B. et al. (2020) ‘Nanopore Targeted Sequencing for the Accurate and Comprehensive Detection of SARS-CoV-2 and Other Respiratory Viruses’, *Nano, micro, small*, 16(32). Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/sml.202002169> [Accessed: 15 March 2023].
- Wang, Q.H., Qi, J.X., Yuan, Y. et al. (2014) ‘Bat origins of MERS-CoV supported by bat coronavirus HKU4 usage of human receptor CD26’, *Cell Host & Microbe*, 16(3), pp. 328–337. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.chom.2014.08.009> [Accessed: 25 April 2022].
- Wang, Q., Qiu, Y., Li, J.Y., Liao, C.H., Zhou, Z.J. and Ge, X.Y. (2020a) ‘Receptor utilization of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) indicates a narrower host range of SARS-CoV-2 than that of SARS-CoV’, *Transboundary and Emerging Diseases*, 13. Available at: <https://doi.org/10.1111/tbed.13792> [Accessed: 19 April 2022].
- Wang, Q., Zhang, Y., Wu, L., Niu, S. et al. (2020b) ‘Structural and Functional Basis of SARS-CoV-2 Entry by Using Human ACE2’, *Cell*, 181(4), pp. 894-904. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32275855/> [Accessed 25 August 2022].
- Wang, Q., Zhou, Z.J., You, Z. et al. (2021) ‘Epidemiology and evolution of novel deltacoronaviruses in birds in central China’, *Transboundary and Emerging Diseases*. Available at: <https://doi.org/10.1111/tbed.14029> [Accessed: 04 May 2022].
- Wang, R., Zhang, X., Irwin, D.M. and Shen, Y. (2020) ‘Emergence of SARS-like coronavirus poses new challenge in China’, *The Journal of Infection*, 80(3), pp. 350-371. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32007524/> [Accessed: 27 June 2022].
- Wang, S., Xu, X., Wei, C., Li, S. et al. (2022) ‘Molecular evolutionary characteristics of SARS-CoV-2 emerging in the United States’, *Journal of Medical Virology*, pp. 310–317. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmv.27331> [Accessed: 17 September 2022].

- Wang, W., Lin, X.D., Guo, W.P. et al. (2015) ‘Discovery, diversity and evolution of novel coronaviruses sampled from rodents in China’, *Virology*, 474, pp. 19–27. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2014.10.017> [Accessed 29 May 2022].
- Wang, Y., Zheng, J., Islam, M.S. et al. (2021) ‘The role of CD4+FoxP3+ regulatory T cells in the immunopathogenesis of COVID-19: implications for treatment’, *International journal of biological sciences*, 17(6), pp. 1507–1520. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8071774/> [Accessed: 19 January 2023].
- Wang, Z., Lorenzi, J.C.C., Muecksch, F. et al. (2021a) ‘Enhanced SARS-CoV-2 neutralization by dimeric IgA’, *Science translational medicine*, 13(577), eabf1555. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7857415/> [Accessed: 21 December 2022].
- Wang, Z., Schmidt, F., Weisblum, Y. et al. (2021b) ‘mRNA vaccine-elicited antibodies to SARS-CoV-2 and circulating variants’, *Nature*, 592(7855), pp. 616–622. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8503938/> [Accessed: 27 December 2022].
- Watanabe, Y., Allen, J.D., Wrapp, D., McLellan, J.S. and Crispin M. (2020) ‘Site-specific glycan analysis of the SARS-CoV-2 spike’, *Science*, 369, pp. 330-333. Available at: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.abb9983> [Accessed: 20 August 2022].
- Wei, J., Pouwels, K.B., Stoesser, N. (2022) ‘Antibody responses and correlates of protection in the general population after two doses of the ChAdOx1 or BNT162b2 vaccines’, *Nature medicine*, 28(5), pp. 1072–1082. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9117148/> [Accessed: 04 January 2023].
- Weisberg, S. P., Connors, T. J., Zhu, Y. et al. (2021) ‘Distinct antibody responses to SARS-CoV-2 in children and adults across the COVID-19 clinical spectrum’, *Nature immunology*, 22(1), pp. 25–31. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8136619/> [Accessed: 19 December 2022].
- Wellcome, (2021) How have Covid-19 vaccines been made quickly and safely?. Available at: <https://wellcome.org/news/quick-safe-covid-vaccine-development> [Accessed: 11 December 2022].
- Wetterstrand, K.A., (2022) *Nanopore DNA Sequencing*. Available at: <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Nanopore-DNA-Sequencing> [Accessed: 14 December 2022].
- Wherry, E.J., and Kurachi, M. (2015) ‘Molecular and cellular insights into T cell exhaustion’, *Nature reviews Immunology*, 15(8), pp. 486–499. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4889009/> [Accessed: 19 January 2023].
- White, R. J., and Razgour, O. (2020) ‘Emerging zoonotic diseases originating in mammals: a systematic review of effects of anthropogenic land-use change’ *Mammal Review*, 50(4), pp. 336-352. Available at: <https://doi.org/10.1111/mam.12201> [Accessed: 28 March 2022].
- Wibawa T. (2021) ‘COVID-19 vaccine research and development: ethical issues’, *Tropical medicine & international health: TM & IH*, 26(1), pp. 14–19. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7675299/> [Accessed: 02 January 2023].

- Wilk, A.J., Rustagi, A., Zhao, N.Q. et al. (2020) ‘A Single-Cell Atlas of the Peripheral Immune Response in Patients with Severe COVID-19’, *Nature Medicine*, 26, pp. 1070–1076. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32514174/> [Accessed: 17 December 2022].
- Wilson, M.R., Naccache, S.N., Samayoa, E. et al. (2014). Actionable diagnosis of neuroleptospirosis by next-generation sequencing, *The New England Journal of Medicine*, 370(25), pp. 2408-17. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24896819/> [Accessed: 13 December 2022].
- Wilson, M.R., Sample, H.A., Zorn, K.C. et al. (2019). Clinical Metagenomic Sequencing for Diagnosis of Meningitis and Encephalitis, *The New England Journal of Medicine*, 380, pp. 2327-2340. Available at: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1803396> [Accessed: 13 December 2022].
- Wolfe, N.D., Dunavan, P. and Diamond, J. (2007) ‘Origins of major human infectious diseases’, *Nature* 447(7142), pp. 279-83 Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17507975/> [Accessed: 3 April 2022].
- Wong, A., Li, X., Lau, S. and Woo, P. (2019) ‘Global epidemiology of bat coronaviruses’, *Viruses*, 11(2), p. 174. Available at: <https://doi.org/10.3390/v11020174> [Accessed: 20 April 2022].
- Woo, P.C.Y., Lau, S.K.P., Chu, C.M. et al. (2005) ‘Characterization and complete genome sequence of a novel coronavirus, coronavirus HKU1, from patients with pneumonia’, *Journal of Virology*, 79(2), pp. 884–895. Available at: <https://doi.org/10.1128/JVI.79.2.884-895.2005> [Accessed: 1 June 2022].
- Woo, P.C.Y., Lau, S.K.P., Lam, C.S.F. et al. (2009) ‘Comparative analysis of complete genome sequences of three avian coronaviruses reveals a novel group 3c coronavirus’, *Journal of Virology*, 83(2), pp. 908–917. Available at: <https://doi.org/10.1128/jvi.01977-08> [Accessed: 05 May 2022].
- Woo, P.C.Y., Lau, S.K.P., Lam, C.S.F. et al. (2012) ‘Discovery of seven novel Mammalian and avian coronaviruses in the genus Deltacoronavirus supports bat coronaviruses as the gene source of Alphacoronavirus and Betacoronavirus and avian coronaviruses as the gene source of Gammacoronavirus and Deltacoronavirus’, *Journal of Virology*, 86(7), pp. 3995–4008. Available at: <https://doi.org/10.1128/JVI.06540-11> [Accessed: 02 May 2022].
- Woo, P.C.Y., Lau, S.K.P., Lam, C.S.F. et al. (2014a) ‘Discovery of a novel bottlenose dolphin coronavirus reveals a distinct species of marine mammal coronavirus in Gammacoronavirus’, *Journal of Virology*, 88(2), pp. 1318–1331. Available at: <https://doi.org/10.1128/JVI.02351-13> [Accessed: 04 May 2022].
- Woo, P.C.Y., Lau, S.K.P., Wernery, U. et al. (2014b) ‘Novel Betacoronavirus in dromedaries of the Middle East, 2013’, *Emerging Infectious Diseases*, 20(4), pp. 560–572. Available at: <https://doi.org/10.3201/eid2004.131769> [Accessed: 30 May 2022].
- Woo, P.C.Y., Lau, S.K.P., Yip, C.C.Y. et al. (2006) ‘Comparative analysis of 22 coronavirus HKU<sub>1</sub> genomes reveals a novel genotype and evidence of natural recombination in coronavirus HKU<sub>1</sub>’, *Journal of Virology*, 80(14), pp. 7136–7145. Available at: <https://doi.org/10.1128/JVI.00509-06> [Accessed: 2 June 2022].
- Woo, P.C.Y., Wang, M., Lau, S.K., Xu, H. et al. (2007) ‘Comparative analysis of twelve genomes of three novel group 2c and group 2d coronaviruses reveals unique group and subgroup features’, *Journal of Virology*, 81(4), pp. 1574–1585. Available at: <https://doi.org/10.1128/jvi.02182-06> [Accessed: 23 May 2022].



- World Health Organization (2003) *Consensus document on the epidemiology of severe acute respiratory syndrome (SARS). Global Health Security—Epidemic Alert & Response*. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/70863> [Accessed: 19 April 2022].
- World Health Organization (2004) *Severe acute respiratory syndrome (SARS). Report by the Secretariat EB113/33*. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/20038> [Accessed: 19 April 2022].
- World Health Organization (2009) *Pandemic Influenza Preparedness and Response: A WHO Guidance Document*. Geneva: World Health Organization; 2009. ISBN-13: 978-92-4-154768-0. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/44123> [Accessed: 22 April 2022].
- World Health Organization (2016) *International Health Regulations (2005)* 3rd Edition. World Health Organization Geneva. Available at: <https://www.who.int/teams/ihr> [Accessed: 10 April 2022].
- World Health Organization (2019) *Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV)*. Available at: [https://www.who.int/health-topics/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-mers#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-mers#tab=tab_1) [Accessed: 30 April 2022].
- World Health Organization (2020a) *Coronavirus disease 2019 (COVID-19). Situation report – 51*. Available at: [https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200311-sitrep-51-covid-19.pdf?sfvrsn=1ba62e57\\_10](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200311-sitrep-51-covid-19.pdf?sfvrsn=1ba62e57_10) [Accessed: 28 June 2022].
- World Health Organization (2020b) *MERS situation update, January 2020*. Available at: <http://www.emro.who.int/pandemic-epidemic-diseases/mers-cov/mers-situation-update-january-2020.html> [Accessed: 29 April 2022].
- World Health Organization, (2022a) *Emergency use listing*. Available at: <https://www.who.int/teams/regulation-prequalification/eul> [Accessed: 23 December 2022].
- World Health Organization (2022b) *Interim statement on hybrid immunity and increasing population seroprevalence rates*. Available at: <https://www.who.int/news/item/01-06-2022-interim-statement-on-hybrid-immunity-and-increasing-population-seroprevalence-rates> [Accessed: 06 January 2023].
- World Health Organization (2022c). *Tracking SARS-CoV-2 variants*. Available at: <https://www.who.int/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants> [Accessed: 16 September 2022].
- World Health Organization Headquarters (2021) *WHO-convened global study of origins of SARS-CoV-2: China Part*. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/who-convened-global-study-of-origins-of-sars-cov-2-china-part>. [Accessed: 29 July 2022].
- Worobey, M. (2021) ‘Dissecting the early COVID-19 cases in Wuhan’, *Science*, 374(6572), pp.1202-1204. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34793199/> [Accessed: 29 July 2022].
- Worobey, M., Levy, J.I., Malpica Serrano, L. et al. (2022) ‘The Huanan Seafood Wholesale Market in Wuhan was the early epicenter of the COVID-19 pandemic’, *Science*, 377(6609), pp. 951-959. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35881010/> [Accessed: 27 August 2022].
- Woudenberg, T., Pelleau, S., Anna, F. et al. (2021) ‘Humoral immunity to SARS-CoV-2 and seasonal coronaviruses in children and adults in north-eastern France’, *EBioMedicine*, 70, p. 103495. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8299153/> [Accessed: 21 December 2022].



- Wright, P.F., Prevost-Reilly, A.C., Natarajan, H. et al. (2022) ‘Longitudinal Systemic and Mucosal Immune Responses to SARS-CoV-2 Infection’, *The Journal of infectious diseases*, 226(7), pp. 1204–1214. [Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8903457/>] [Accessed: 23 December 2022].
- Wrobel, A.G., Benton, D.J., Xu, P., Roustan, C. et al. (2020) ‘SARS-CoV-2 and bat RaTG13 spike glycoprotein structures inform on virus evolution and furin-cleavage effects’, *Nature Structural and Molecular Biology*, 27(8), pp. 763-767. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32647346/> [Accessed: 28 June 2022].
- Wu, F., Zhao, S., Yu, B., Chen, Y.M. et al. (2020) ‘A new coronavirus associated with human respiratory disease in China’, *Nature*, 579(7798), pp. 265-269. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32015508/> [Accessed: 27 June 2022].
- Wu, J., Liang, B.Y., Fang, Y.H. et al. (2021) ‘Occurrence of COVID-19 Symptoms During SARS-CoV-2 Infection Defines Waning of Humoral Immunity’, *Frontiers in immunology*, 12, p. 722027. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8416539/> [Accessed: 19 December 2022].
- Wu, Z. and McGoogan, J.M. (2020) ‘Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention’, *JAMA*, 323(13), pp. 1239-1242. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32091533/> [Accessed: 27 June 2022].
- Xia, H., Cao, Z., Xie, X. et al. (2020) ‘Evasion of Type I Interferon by SARS-CoV-2’, *Cell reports*, 33(1), p. 108234. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7501843/> [Accessed: 15 January 2023].
- Xu, C., Wang, Y., Liu, C., Zhang, C. et al. (2021) ‘Conformational dynamics of SARS-CoV-2 trimeric spike glycoprotein in complex with receptor ACE2 revealed by cryo-EM’, *Science Advances*, 7, pp. 1-14. Available at: <https://www.science.org/doi/full/10.1126/sciadv.abe5575> [Accessed: 21 August 2022].
- Xu, H.F., Wang, M., Zhang, Z.B. et al. (2004) ‘[An epidemiologic investigation on infection with severe acute respiratory syndrome coronavirus in wild animals traders in Guangzhou]’, *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi*, 38(2), pp. 81-3. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15061910/> [Accessed: 22 April 2022].
- Xu, R.H., He, J.F., Evans, M.R. et al. (2004) ‘A. Epidemiologic clues to SARS origin in China’, *Emerging Infectious Diseases*, 10(6), pp.1030-7. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15207054/> [Accessed: 22 April 2022].
- Xu, S., Yang, K., Li, R. and Zhang, L. (2020) ‘mRNA Vaccine Era—Mechanisms, Drug Platform and Clinical Prospection’, *International Journal of Molecular Sciences*, 21(18), p.6582. Available at: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/18/6582> [Accessed: 26 December 2022].
- Yan, L., Yang, Y., Li, M., Zhang, Y. et al. (2021) ‘Coupling of N7-methyltransferase and 3'-5' exoribonuclease with SARS-CoV-2 polymerase reveals mechanisms for capping and proofreading’, *Cell*, 184, pp. 3474-3485. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867421006632> [Accessed: 24 August 2022].
- Yang, L., Wu, Z.Q., Ren, X.W., Yang, F. et al. (2014) ‘MERS-related Betacoronavirus in *Vespertilio superans* bats, China’, *Emerging Infectious Diseases*, 20(7), pp. 1260–1262. Available at: <https://doi.org/10.3201/eid2007> [Accessed: 02 May 2022].

- Yang, L., Xie, X., Tu, Z. et al. (2021) ‘The Signal Pathways and Treatment of Cytokine Storm in COVID-19’, *Signal Transduction and Target Therapy*, 6, p. 255. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41392-021-00679-0> [Accessed: 16 December 2022].
- Yang, S., Li, Y., Dai, L. et al. (2021) ‘Safety and immunogenicity of a recombinant tandem-repeat dimeric RBD-based protein subunit vaccine (ZF2001) against COVID-19 in adults: Two randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1 and 2 trials’, *The Lancet Infectious Diseases*, 21, pp. 1107–1119. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1473309921001274> [Accessed: 07 January 2023].
- Yang, X.L., Hu, B., Wang, B., Wang, M.N., et al. (2015) ‘Isolation and characterization of a novel bat coronavirus closely related to the direct progenitor of severe acute respiratory syndrome coronavirus’, *Journal of Virology*, 90(6), pp. 3253–3256. Available at: <https://doi.org/10.1128/JVI.02582-15> [Accessed: 22 April 2022].
- Yang, Y., Du, L.Y., Liu, C., Wang, L.L. et al. (2014) ‘Receptor usage and cell entry of bat coronavirus HKU4 provide insight into bat-to-human transmission of MERS coronavirus’, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 111(34), pp. 12516–12521. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.1405889111> [Accessed: 03 May 2022].
- Yao, H. Y. Song, Y., Chen, N., Wu, J. et al. (2020) ‘Molecular architecture of the SARS-CoV-2 virus’ *Cell*, 183, pp. 730-738. Available at: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85091685535&origin=inward&txGid=1387e4f05742a42d3120db7ab20a1295> [Accessed: 20 August 2022].
- Yaqinuddin, A., and Kashir, J. (2020) ‘Innate immunity in COVID-19 patients mediated by NKG2A receptors, and potential treatment using Monalizumab, Cholroquine, and antiviral agents’, *Medical hypotheses*, 140, p. 109777. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7194824/> [Accessed: 18 January 2023].
- Yasin, M.M., Shehata, I.H., Elsheikh, N.G. and Elsayed, M.S. (2021) ‘Expression of NKG2A inhibitory receptor on cytotoxic lymphocytes as an indicator of severity in Corona Virus Disease 2019 (COVID-19) patients’, *The Egyptian journal of immunology*, 28(3), pp. 157–167. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34453787/> [Accessed: 18 January 2023].
- Yaugel-Novoa, M., Bourlet, T. and Paul, S. (2022) ‘Role of the humoral immune response during COVID-19: guilty or not guilty?’, *Mucosal Immunology*, 15, pp. 1170–1180. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41385-022-00569-w> [Accessed: 15 December 2022].
- Ye, Q., Wang, B. and Mao, J. (2020a) ‘The pathogenesis and treatment of the ‘Cytokine Storm’ in COVID-19’, *The Journal of infection*, 80(6), pp. 607–613. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7194613/> [Accessed: 19 January 2023].
- Ye, Q., West, A.M.V., Silletti, S. and Corbett, K.D. (2020b) ‘Architecture and self-assembly of the SARS-CoV-2 nucleocapsid protein Protein’, *Science*, 29, pp. 1890-1901. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/pro.3909> [Accessed: 22 August 2022].
- Ye, X., Angelo, L.S., Nicholson, E.G. et al (2021) ‘Serum IgG anti-SARS-CoV-2 Binding Antibody Level Is Strongly Associated With IgA and Functional Antibody Levels in Adults Infected With SARS-CoV-2’, *Frontiers in immunology*, 12, p. 693462. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8531527/> [Accessed: 18 December 2022].

- Yen, H.L., Sit, T.H.C., Brackman, C.J., Chuk, S.S.Y. et al. (2022) ‘Transmission of SARS-CoV-2 delta variant (AY.127) from pet hamsters to humans, leading to onward human-to-human transmission: a case study’, *Lancet*, 399(10329), pp. 1070-1078. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35279259/> [Accessed: 01 August 2022].
- Yuan, J., Hon, C.C., Li, Y., Wang, D. et al. (2010) ‘Intraspecies diversity of SARS-like coronaviruses in *Rhinolophus sinicus* and its implications for the origin of SARS coronaviruses in humans’, *The Journal of General Virology*, pp. 1058-62. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20016037/> [Accessed: 24 April 2022].
- Yüce, M., Filiztekin, E. and Özkaya, K.G. (2021) ‘COVID-19 diagnosis -A review of current methods’, *Biosens Bioelectron*, 172. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7584564/> [Accessed: 11 December].
- Zaki, A.M., van Boheemen, S., Bestebroer, T.M. et al. (2012) ‘Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia’, *The New England Journal of Medicine*, 367(19), pp. 1814–1820. Available at: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1211721> [Accessed: 18 May 2022].
- Zeng, Z.Q., Chen, D.H., Tan, W.P., Qiu, S.Y. et al. (2018) ‘Epidemiology and clinical characteristics of human coronaviruses OC43, 229E, NL63, and HKU1: a study of hospitalized children with acute respiratory tract infection in Guangzhou, China’, *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 37(2), pp. 363–369. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10096-017-3144-z> [Accessed: 22 May 2022].
- Zervou, F.N., Louie, P., Stachel, A. et al. (2021) ‘SARS-CoV-2 antibodies: IgA correlates with severity of disease in early COVID-19 infection’, *Journal of medical virology*, 93(9), pp. 5409–5415. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8242647/> [Accessed: 18 December 2022].
- Zhang, J.Q. (2016) ‘Porcine Deltacoronavirus: Overview of infection dynamics, diagnostic methods, prevalence and genetic evolution’, *Virus Research*, 226, pp. 71–84. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2016.05.028> [Accessed: 05 May 2022].
- Zhang, L., Lin, D., Sun, X., Curth, U. et al. (2020) ‘Crystal structure of SARS-CoV-2 main protease provides a basis for design of improved a-ketoamide inhibitors’, *Science*, 368, pp. 409-412. Available at: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.abb3405> [Accessed: 23 August 2022].
- Zhang, M.J., Liu, D.J., Liu, X.L. et al. (2019) ‘Genomic characterization and pathogenicity of porcine Deltacoronavirus strain CHN-HG-2017 from China’, *Archives of Virology*, 164(2), pp. 413–425. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00705-018-4081-6> [Accessed: 05 May 2022].
- Zhang, P. (2019) ‘Advances in cryo-electron tomography and subtomogram averaging and classification’, *Current Opinion in Structural Biology*, 58(2019), pp. 249-258. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959440X18300927> [Accessed: 20 August 2022].
- Zhang, Y., Li, J.G., Xiao, Y., Zhang, J. et al. (2015) ‘Genotype shift in human coronavirus OC43 and emergence of a novel genotype by natural recombination’, *The Journal of Infection*, 70(6), pp. 641–650. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2014.12.005> [Accessed: 27 May 2022].

- Zhang, Z., Zhang, G., Guo, M. et al. (2021) ‘The Potential Role of an Aberrant Mucosal Immune Response to SARS-CoV-2 in the Pathogenesis of IgA Nephropathy’ *Pathogens*, 10(7), p. 881. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8308514/> [Accessed: 20 December 2022].
- Zhou, H., Chen, X., Hu, T., Li, J. et al. (2020) ‘A Novel Bat Coronavirus Closely Related to SARS-CoV-2 Contains Natural Insertions at the S1/S2 Cleavage Site of the Spike Protein’, *Current Biology*, 30(11), pp. 2196-2203. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32416074/> [Accessed: 28 June 2022].
- Zhou, P., Yang, X.L., Wang, X.G. et al. (2020) ‘A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin’, *Nature*, 579(7798), pp. 270-273. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32015507/> [Accessed: 27 June 2022].
- Zhou, X., and Ye, Q. (2021) ‘Cellular Immune Response to COVID-19 and Potential Immune Modulators’, *Frontiers in immunology*, 12, p. 646333. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8121250/> [Accessed: 18 January 2023].
- Zhou, Z., Qiu, Y. and Ge, X. (2021) ‘The taxonomy, host range and pathogenicity of coronaviruses and other viruses in the Nidovirales order’, *Animal Diseases*, 1, p. 5. Available at: <https://doi.org/10.1186/s44149-021-00005-9> [Accessed: 12 April 2022].
- Zhu, N., Zhang, D., Wang, W., Li, X. et al. (2020) ‘A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019’, *The New England Journal of Medicine*, 382(8), pp. 727-733. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31978945/> [Accessed: 26 June 2022].
- Zhu, X., Mannar, D., Srivastava, S.S., Berezuk, A.M. et al. (2021) ‘Cryo-electron microscopy structures of the N501Y SARS-CoV-2 spike protein in complex with ACE2 and 2 potent neutralizing antibodies’, *PLoS Biology*, 19, pp. 1-17. Available at: <https://journals.plos.org/plosbiology/article?id=10.1371/journal.pbio.3001237> [Accessed: 21 August 2022].
- Zinzula, L., Basquin, J., Bohn, S. et al. (2021) ‘High-resolution structure and biophysical characterization of the nucleocapsid phosphoprotein dimerization domain from the Covid-19 severe acute respiratory syndrome coronavirus 2’, *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 538, pp. 54-62. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006291X20318842> [Accessed: 22 August 2022].
- Zuo, J., Dowell, A.C., Pearce, H. et al. (2021) ‘Robust SARS-CoV-2-specific T cell immunity is maintained at 6 months following primary infection’, *Nature immunology*, 22(5), pp. 620–626. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7610739/> [Accessed: 17 January 2023].
- Βενιζέλος, Ελ. [μτφρ] (1960) *Θουκυδίδου Ιστορία*. Οξφόρδη 1940, ανατ. Αθήνα 1960.