

# Corona Viruses

**By: Dr. Yousef Yahyapour**

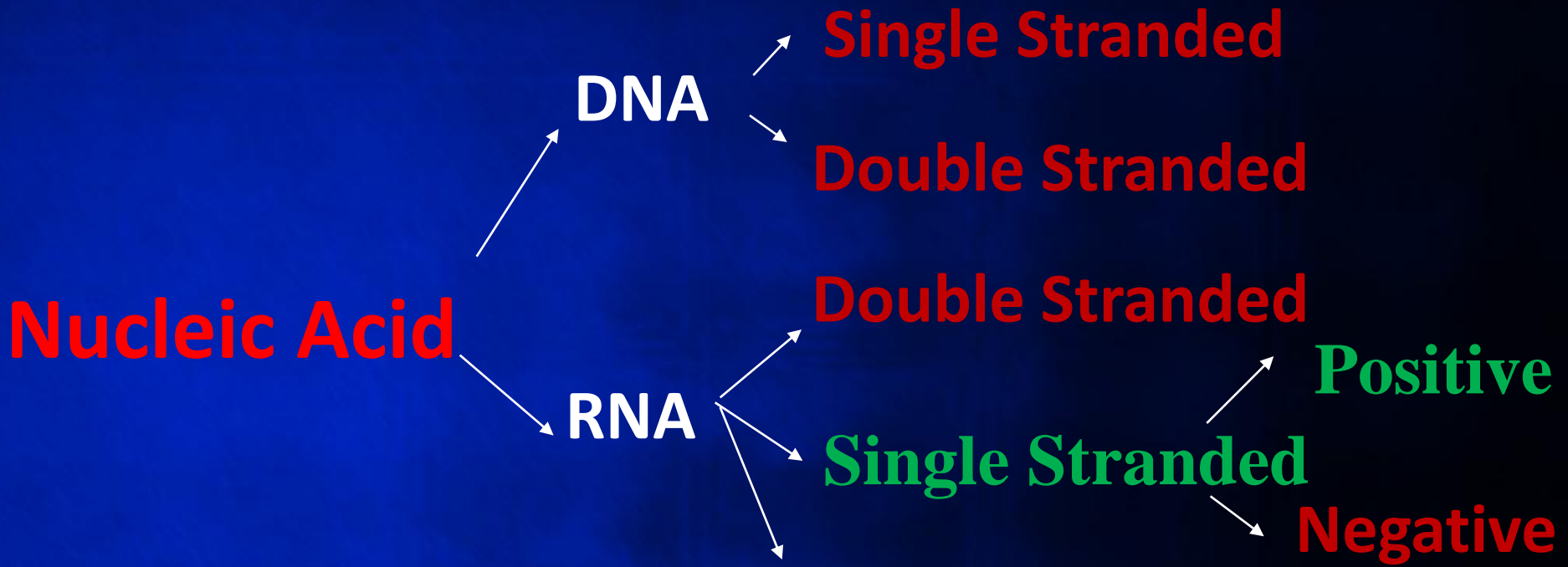
**Babol University of Medical Sciences**

An electron micrograph showing several coronavirus particles. Each particle is roughly spherical with a distinct outer layer of small, dark, spike-like projections. The interior of each particle is filled with a dense, yellowish-orange material, and a darker, reddish-brown core is visible in the center of each. The background is a light, grainy grey.

# Coronaviridae

SCIENCEPHOTOLIBRARY

# Viral Genomes



RNA → DNA

# Negative Sense of RNA Viruses

## 1- Unsegmented RNA:

- Paramyxoviridae (Measles, Mumps, RSV)
- Filoviridae (Ebola, Marburg)
- Rhabdoviridae (Rabies)

## 2- Segmented RNA:

- Orthomyxoviridae (Influenza)



# Positive Sense of RNA Viruses

- **Picornaviridae (Enteroviruses: Polio)**
- **Flaviviridae (Yellow fever, Dengue virus, HCV)**
- **Coronaviridae (SARS, MERS, nCoV 2019)**

# Viral Envelope

## 1- Enveloped Viruses

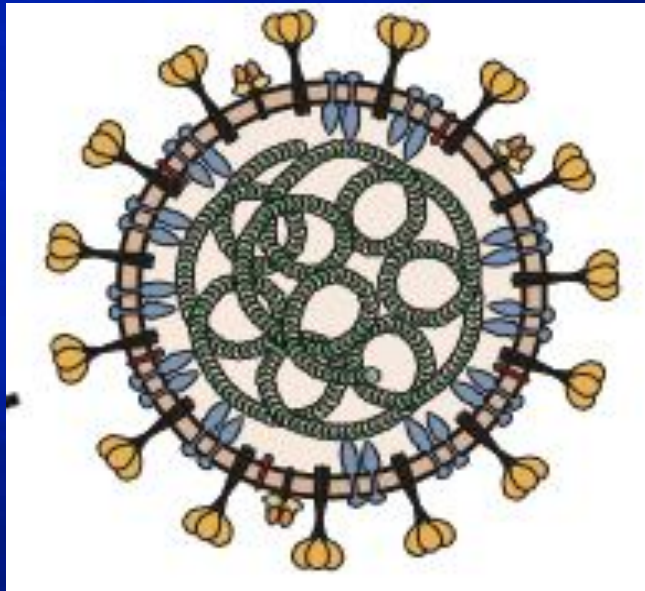
- Herpes Viridae (CMV, EBV)
- Orthomyxo Viridae (Influenza Viruses)
- Paramyxo Viridae (Measles, Mumps)
- FiloViridae (E-Bola)
- Retroviruses (HIV)
- **Coronaviridae (SARS, MERS, nCoV 2019)**

## 2- Naked Viruses:

- Picornaviridae (Enteroviruses: Polio virus,...)
- Papillomaviridae (HPV)
- Polyomaviridae (JC, BK)

# کرونا ویروس Corona

**Corona= Crown** - در سطح پوشش ویروس، برجستگی های چماقی یا گلبرگی شکل با فاصله زیاد از یکدیگر مشابه با حلقه نور اطراف خورشید (Solar corona) وجود دارد.



# کرونا ویروس Coronavirus

- سایز: ۱۲۰ نانومتر
- پوشش دار (Enveloped)
- تقارن مارپیچی (Helical) (منحصر به فرد در بین ویروس های RNA دار مثبت)
- دارای پروتئین ماتریکس
- ژنوم کرونا ویروس RNA تک رشته‌ای و مثبت با اندازه‌ای حدود ۲۶ تا ۳۰ کیلو باز است که تا کنون بزرگترین ژنوم ویروسی RNA دار پیوسته به حساب می‌آید.
- ژنوم به میزان زیادی دچار نوترکیبی می‌شود.



# کروناویریده *Coronaviridae*

**طبقه بندی:** خانواده کروناویریده در راسته **Nidovirales** قرار می گیرد.

دارای ۲ زیر خانواده است (۵ جنس، ۲۳ زیرجنس و حدود ۴۰ گونه مختلف)

## کروناویرینه (**Coronavirinae**)

- آلفا کروناویروس (پستانداران) - HCoV -229E و HCoV -NL63 (سرماخوردگی معمولی)
- بتا کروناویروس (پستانداران) - HCoV -OC43 و HCoV - HKUI (سرماخوردگی معمولی)
- **SARS-CoV** (سندرم فوق حاد تنفسی)
- **MERS-CoV** (سندرم تنفسی خاور میانه)
- **2019 (Wuhan)-nCoV**

# کروناویریده **Coronaviridae**

- گاما کروناویروس (پرندهگان) – **Infectious**  
**bronchitis virus** (برونشیت عفونی پرندهگان)
- دلتا کروناویروس (پستانداران و پرندهگان)

## توروویرینه (**Torovirinae**)

- توروویروس – عامل گاستروانتریت در چهار پایان
- **Human torovirus** - گاستروانتریت در انسان

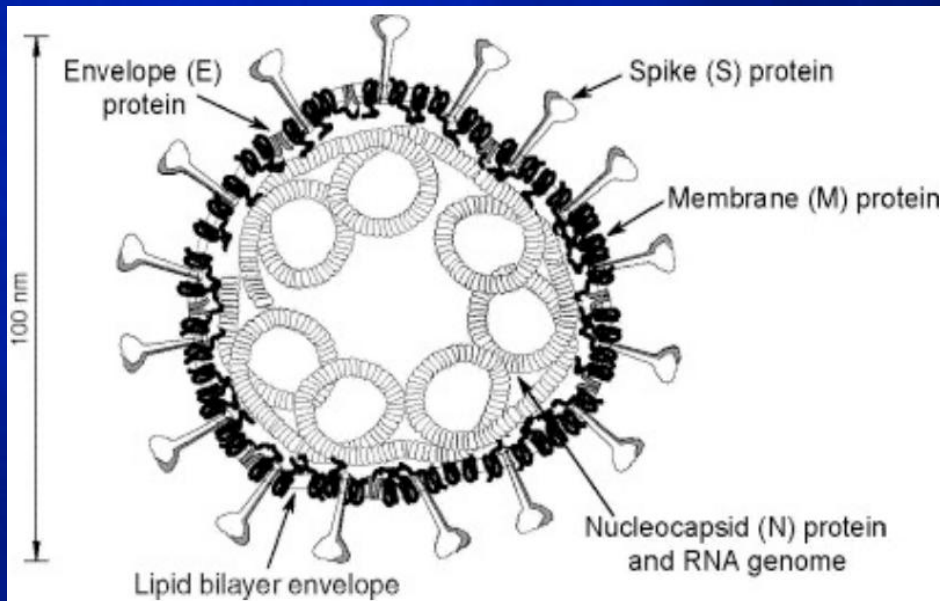
# ساختار کروناویروس

## پروتئین های انولوپ

□ گلیکوپروتئین S در اتصال ویروس به گیرنده سلول و ادغام انولوپ ویروس با غشاهای سلولی نقش دارد.

□ گلیکوپروتئین E1 یا M در اتصال نوکلئوکپسید به انولوپ در مرحله تجمع نقش دارد (مشابه پروتئین ماتریکس)

□ پروتئین E یا پروتئین کوچک غشایی یا SM دارای نقش کانال یونی است.



## نوکلئوکپسید (N)

□ به RNA ژنومی متصل است

# گیرنده سلولی

اتصال ویروس از طریق اینتراکشن گلیکوپروتئین S با گیرنده های سلولی رخ می دهد.

کروناویروس های مختلف از گیرنده های متفاوتی استفاده می کنند.

Coronavirus	Ligand	Receptor	
<b>Group II Coronaviruses (MHV)</b>	<b>S glycoprotein</b>	<b>CEACAM1 or CD66a</b> (Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1)	<b>IgG superfamily</b>
<b>SARS-CoV</b>		<b>ACE2</b> (Angiotensin-converting enzyme 2)	
<b>2019-n-Cov</b>	<b>S glycoprotein</b>	lectins such as <b>CD209L (L- SIGN)</b> , <b>DC-SIGN</b> can augment entry into cells	<b>Metalloproteinase</b>
<b>Group I Coronaviruses (HCoV-229E, TGEV)</b>	<b>S glycoprotein</b>	<b>Aminopeptidase N (APN)</b> ,	<b>Zinc-binding metalloproteinase</b>
<b>HCoV-OC43 &amp; BCoV</b>	<b>HE glycoprotein</b>	<b>9-O-acetylated sialic acid</b>	

# Coronaviruses (CoVs)

- Enveloped positive strand RNA virus
- Human CoVs isolated in the 1960s
- Seven human CoVs (HCoVs) have been identified to date:
  - HCoV-229E
  - HCoV-OC43
  - HCoV-NL63
  - HCoV-HKU1
  - SARS-CoV
  - Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV)
  - 2019-nCoV → Coronavirus Disease (COVID19)




# کروناویروس های نوظهور

عفونت های نوظهور با کروناویروس ها (Emerging Infections)

- سندرم فوق حاد تنفسی (**Severe acute respiratory syndrome**) اولین بار در سال ۲۰۰۲ در جنوب چین مشاهده شد.

- ویروس SARS به احتمال زیاد از یک میزبان غیر انسانی منشأ گرفته است (**خفاش ها**) **SARS-like bat coronavirus (BtCoV)**

- **Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV)** 
- **2019-nCoV**                      **Coronavirus Disease (COVID19)**

# نام جدید کروناویروس ۲۰۱۹



The image shows a WHO breaking news banner. At the top left is the WHO logo and the text 'who'. In the center, the word 'BREAKING' is written in large white letters, flanked by two red siren icons. Below this, the text 'Coronavirus Disease' is written in white, and '#COVID19' is written in yellow. At the bottom center is the WHO logo and the text 'World Health Organization'.

who

**BREAKING**

Coronavirus Disease  
**#COVID19**

World Health Organization

# کروناویریده *Coronaviridae*

- از لحاظ رده‌بندی، کرونا ویروس ۲۰۱۹ عضوی از زیر جنس ساربکو ویروس (دامنه از **Beta-CoV**)، از خانوادهٔ اورتو کرونا ویروس است.

- ویروس **nCoV-۲۰۱۹** هفتمین عضو از خانوادهٔ کرونا ویروس است که انسان را آلوده می‌کند

- (بعد از **229E, NL63, OC43, HKU1, MERS-CoV, SARS-CoV**)

• کوروناویروس ها ویروس های **بزرگی** هستند که باعث بیماری های متنوعی در بسیاری از حیوانات می شوند و به **عنوان عامل سرماخوردگی انسان** شناخته می شدند.

# اختلاف کرونا ویروس جدید با ویروس عامل

## SARS :

- یکی از اختلافات ویروس جدید با سایر کرونا ویروس ها و از جمله سارس اینست که ویروس جدید وقتی وارد سلولی می شود باعث تغییرات ژنتیکی در تعداد ژنهای بیشتر می شود، و بر اساس مطالعات کنونی ۲۰۷ ژن در سلول آلوده شده دستخوش آسیب می گردند.



# اختلاف کرونا ویروس جدید با ویروس عامل

## SARS :

این ویروس بر خلاف سایر کروناویروس ها که بیشتر به سلول های بافت تنفسی انسان علاقه دارند. و کمتر مشاهده شده که سلولهای دیگر را آلوده نمایند، می تواند باعث رده های گوناگون سلول های بدن شود. و بافت تنفسی، کبد، کلیه ها، روده ها و همچنین ماکروفاژها را آلوده نماید. و دقیقا به همین دلیل است که بیماران مبتلا معمولا دچار نارسایی چند ارگان شده و فوت می شوند.

- **The phylogenetic tree showed that 2019-nCoV significantly clustered with Bat SARS-like Coronavirus sequence isolated in 2015, whereas structural analysis revealed mutation in S and nucleocapsid proteins. From these results, 2019-nCoV could be considered a coronavirus distinct from SARS virus, probably transmitted from bats or another host where mutations conferred upon it the ability to infect humans.**

# Specimen Collection

# Specimen Collection Kit

- Personal protective equipment (PPE)
- Viral transport medium (VTM) collection vials
- Swabs: throat, nasal, & nasopharyngeal
- Tongue depressors
- Nasal Wash Equipment
- Transfer pipettes
- Secondary container
- Ice packs
- Items for blood collection
- Field collection forms
- Labels and pen or marker

Store kit in a dry, cool place

Keep kit accessible for after hours

# Viral Transport Medium (VTM)

- Used to store & transport specimens
- Isolates & maintains virus integrity
- Prevents bacteria and fungi growth
- Can be made in a lab or purchased
- Different types of VTM:
  - Animal specimen collection
  - Viral isolation of human specimens



# Storing VTM

- Sterile collection vials containing 1-3 ml of VTM
- VTM can be stored in a freezer at  $-20^{\circ}\text{C}$  to  $-40^{\circ}\text{C}$  until use
- VTM can be stored for short periods of time at  $4 - 8^{\circ}\text{C}$



# Polyester Fiber-Tipped Applicator



- Should ideally be dacron, rayon, or polyester-fiber swabs

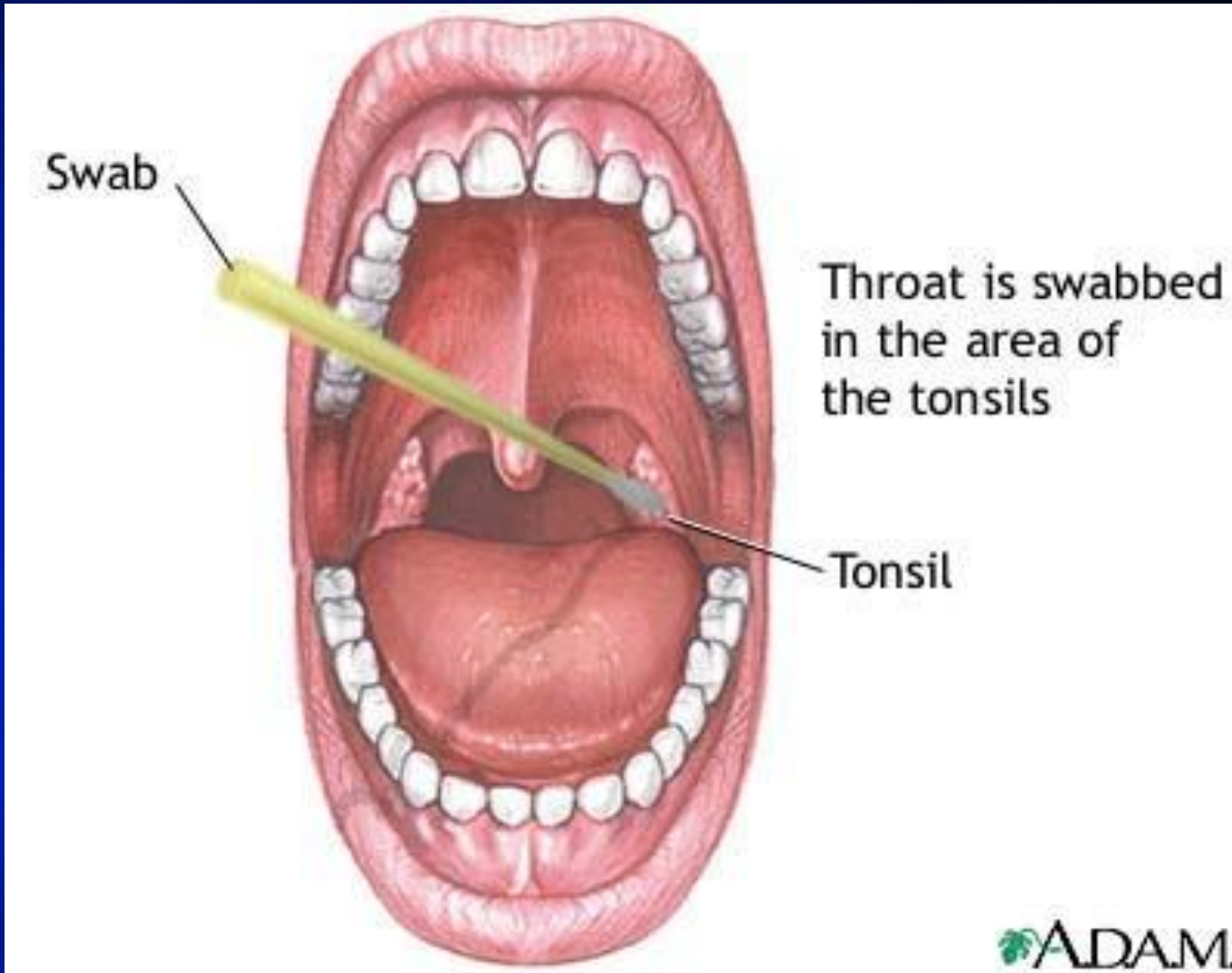
# Personal Protective Equipment for Caring for Patients

- Masks (N-95 or N/P/R-100)
- Gloves
- Protective eye wear (goggles)
- Hair covers
- Boot or shoe covers
- Protective clothing (gown or apron)

# تهیه نمونه جهت تشخیص آزمایشگاهی

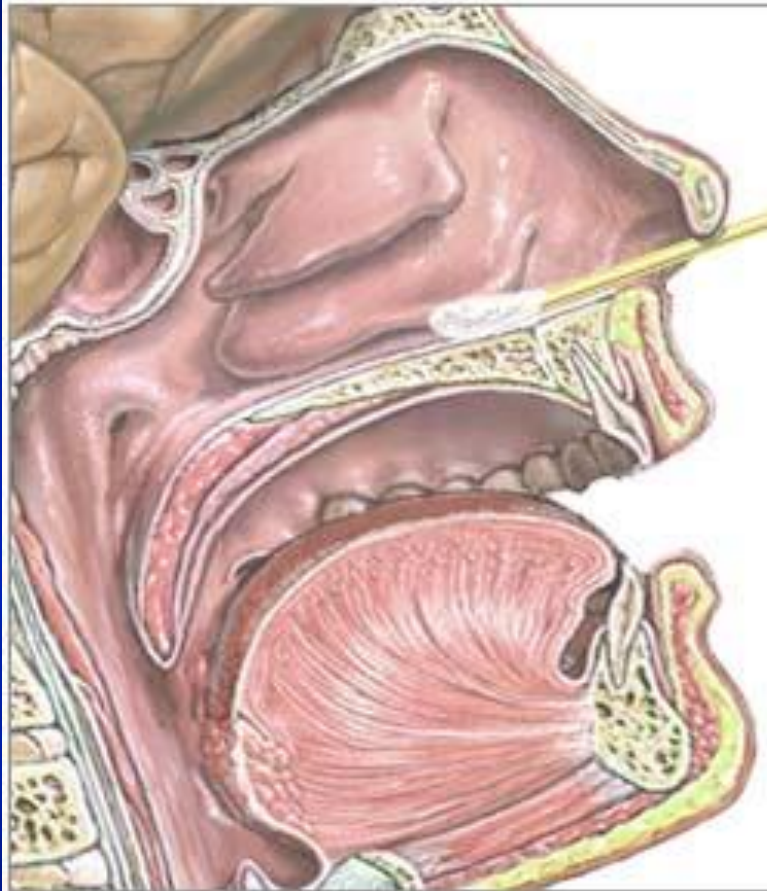
- هم نمونه از راه تنفسی فوقانی و هم از راه تنفسی تحتانی باید برای انجام RT-PCR تهیه شود. نمونه راه تنفسی فوقانی شامل سواب نازوفارنژیال یا سواب اوروفارنژیال است و نمونه راه تنفسی تحتانی شامل خلط القایی، اسپیره اندوتراکئال، لاواژ برونکوآلوئولار است.
- در زمان انتوبه بودن بیمار تهیه نمونه تحتانی راحت تر است. برای تهیه نمونه فوقانی از احتیاطات تماسی و قطره ای استفاده شود و برای تهیه نمونه تحتانی حتما احتیاطات تماسی و هوابرد ( N95 و ...) مد نظر قرار گیرد.

# Oropharyngeal (Throat) Swab





# Nasopharyngeal Swab



A sterile swab is passed gently through the nostril and into the nasopharynx

ADAM.

# **Specimen Storage, Handling, Packaging and Transportation**

# How to Store Specimens

For specimens in VTM:

- Transport to laboratory as soon as possible
- Within 48 hours store at 4 °C to 8 °C
- Beyond 48 hours store at -70 °C to -80 °C
- Do not use standard freezer; keep on ice or in refrigerator
  - Avoid freeze-thaw cycles

# How to Store Specimens

## For sera:

- Store specimen at
  - 4 °C to 8 °C for short periods of time
  - -20 °C to -40 °C for long term storage
- Avoid freeze-thaw cycles
- Centrifuge blood and aliquot serum to another container before shipping and before freezing

## Review Question 3

Which of the following is true about storing clinical specimens (sera or specimens in VTM)?

- a. They can be stored at 4°C up to a week
- b. They can be stored in a standard freezer

*Answer: a. Both sera and specimens in VTM can be stored for certain periods at 4°C for up to a week. Neither of these samples should be stored in a standard freezer, because the freeze-thaw cycle will destroy the virus*



# Laboratory Testing

- Lower respiratory specimens (sputum, bronchoalveolar lavage, endotracheal) are a priority respiratory specimen for **real time reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) testing**



# Laboratory Testing

- **The CDC 2019-nCoV Real-Time RT-PCR Diagnostic Panel contains the following:**
- 2019-nCoV\_N1, 2019-nCoV\_N2 and 2019-nCoV\_N3 primers and probes that target the nucleocapsid (N) gene and are designed for both universal detection of SARS-like coronavirus as well as specific detection of the 2019-nCoV;
- RP primers and probes that target the Human RNase P gene; and
- nCoVPC, the 2019-nCoV positive control used in the assay.

# CDC's laboratory test kit for the 2019 novel coronavirus (2019-nCoV).



Name	Description	Oligonucleotide Sequence (5'>3')	Label1	Working Conc.
2019-nCoV_N1-F	2019-nCoV_N1 Forward Primer	5'-GAC CCC AAA ATC AGC GAA AT-3'	None	20 µM
2019-nCoV_N1-R	2019-nCoV_N1 Reverse Primer	5'-TCT GGT TAC TGC CAG TTG AAT CTG-3'	None	20 µM
2019-nCoV_N1-P	2019-nCoV_N1 Probe	5'-FAM-ACC CCG CAT TAC GTT TGG TGG ACC-BHQ1-3'	FAM, BHQ-1	5 µM
2019-nCoV_N2-F	2019-nCoV_N2 Forward Primer	5'-TTA CAA ACA TTG GCC GCA AA-3'	None	20 µM
2019-nCoV_N2-R	2019-nCoV_N2 Reverse Primer	5'-GCG CGA CAT TCC GAA GAA-3'	None	20 µM
2019-nCoV_N2-P	2019-nCoV_N2 Probe	5'-FAM-ACA ATT TGC CCC CAG CGC TTC AG-BHQ1-3'	FAM, BHQ-1	5 µM
2019-nCoV_N3-F	2019-nCoV_N3 Forward Primer	5'-GGG AGC CTT GAA TAC ACC AAA A-3'	None	20 µM
2019-nCoV_N3-R	2019-nCoV_N3 Reverse Primer	5'-TGT AGC ACG ATT GCA GCA TTG-3'	None	20 µM
2019-nCoV_N3-P	2019-nCoV_N3 Probe	5'-FAM-AYC ACA TTG GCA CCC GCA ATC CTG-BHQ1-3'	FAM, BHQ-1	5 µM
RP-F	RNAse P Forward Primer	5'-AGA TTT GGA CCT GCG AGC G-3'	None	20 µM
RP-R	RNAse P Reverse Primer	5'-GAG CGG CTG TCT CCA CAA GT-3'	None	20 µM
RP-P	RNAse P Probe	5'-FAM – TTC TGA CCT GAA GGC TCT GCG CG – BHQ-1-3'	FAM, BHQ-1	5 µM

# Laboratory Testing

اگر امکان انجام RT-PCR وجود ندارد می توان از روش های سرولوژی استفاده نمود.

آزمایش سرولوژی با بهره گیری از آزمایش الایزا، می تواند در ارزیابی سرم های حاد و بهبود یافته، کمک کننده باشد.



# توجه

● توجه: برای تهیه نمونه فوقانی باید از سواب استریل داکرون (و نه پنبه ای) و محیط مخصوص VTM استفاده نمود. سعی شود در نمونه گیری از لوزه ها و زبان کوچک نمونه گیری نشود. در بیمار شدید تنفسی مشکوک به کوروناویروس، صرفا با یک نمونه فوقانی منفی نمی توان بیماری را رد کرد و باید با نمونه مجدد فوقانی یا نمونه تحتانی تهیه نمود.

# توجه

- عفونت همزمان با سایر عفونت های ویروسی در بیماری های سارس و مرس هم مشاهده شده است و این احتمال وجود دارد که در مورد عفونت کوروناویروسی جدید نیز این موضوع صادق باشد.

- برای تشخیص سایر عفونت های تنفسی نیز از نمونه های تنفسی فوقانی و تحتانی می شود استفاده نمود.

# توجه

سایر عفونت های همزمان مورد نظر می تواند آنفلوانزا، RSV، پاراآنفلوانزا، رینوویروس، آدنوویروس، انتروویروس (به عنوان مثال EVD68)، متاپنوموویروس انسانی، سایر کوروناویروس های خفیف انسانی (HKU1، OC43، NL63، 229E) باشد. با تهیه نمونه تنفسی تحتانی می توان سایر پاتوژن ها مانند لژیونلا پنوموفیلا را نیز بررسی نمود.

# توجه

● در مورد بیمار بستری شده ی 2019-nCoV باید نمونه های فوقانی و تحتانی دستگاه تنفسی تا زمان مشخص شدن پاکسازی ویروس از بدن، تکرار شوند. در بیماری که از نظر بالینی بهبود دارد باید تا منفی شدن دو نمونه گیری پشت سر هم (به فاصله ۲۴ ساعت از هم)، این نمونه گیری ها تکرار شود. فاصله نمونه گیری هر ۳ تا ۴ روز تا بهبود بالینی می باشد.





الهی تا آموختن را آموختم ،

آموخته را جمله بسوختم ...

اندوخته را برانداختم و انداخته را بیندوختم !

نیست را بفروختم تا هست را بیفروختم !