التسلسل الجينومي لفيروس كورونا–سارس–2 لأهداف الصحّة العامّة

إرشادات مبدئيّة

8 كانون الثاني/يناير 2021

منظمة الصحة العالمية

الرسائل الأساسيّة

- يساهم الترصد العالمي للمتواليات الجينية لفيروس كورونا–سارس–2 والبيانات الوصفية ذات الصلة في التصدي لفاشية كوفيد–19. وتشمل هذه المساهمة تتبُّع انتشار فيروس كورونا–سارس–2 جغرافياً عبر الزمن وضمان الكشف عن الطفرات التي يمكن أن تؤثر على القدرة الإمراضية أو انتقال العدوى أو التدابير المضادة (مثل اللقاحات والعلاجات ووسائل التشخيص) وتقييمها في الوقت المناسب.
- ورغم التراجع الكبير في تكلفة ودرجة تعقيد التسلسل الجيني بمضيّ الوقت، لا يزال تحقيق فعالية برامج التسلسل يتطلب استثمارات ضخمة من حيث العاملين والمعدات والكواشف وبنية الهياكل المعلوماتية الأحيائية. وبالإضافة إلى ذلك، ثمة حاجة إلى تعاون فعال لضمان جودة البيانات المولّدة واستخدامها بطريقة مُجدية.
- وتُشجَّع البلدان على الإسراع بإيداع متواليات فيروس كورونا–سارس–2 في قاعدة بيانات عامة من أجل تبادلها مع الأوساط العلمية في مجال الصحة العامة. وسوف تسهم الاستثمارات ضمن شبكة عالمية متدرّجة لتسلسل فيروس كورونا–سارس–2 في وضع برامج تسلسل عالمية مرنة وعالية الجودة للكشف عن مسبّبات فاشيات أخرى وإدارتها في المستقبل.

المعلومات الأساسيّة

على مدى العقد الماضي، أصبحت بيانات المتواليات الجينية لمسبّبات الأمراض تضطلع بدور محوري في الكشف عن فاشيات الأمراض المُعدية وإدارتها، من خلال دعم تطوير وسائل التشخيص والأدوية واللقاحات، وتوفير المعلومات اللازمة للتصديّ للفاشيات *(1–11)*. ومع ظهور الفيروس التاجي المستجدّ، الذي سمّي فيما بعد فيروس كورونا المسبِّب للمتلازمة التنفسية الحادة الوخيمة –2 (فيروس كورونا–سارس–2)، تم التأكيد بدرجة أكبر على أهمية بيانات المتواليات الجينية. وقد تم تبادل أكثر من 280000 من المتواليات الجينومية الكاملة عبر قواعد بيانات متاحة للجمهور في غضون عام من التحديد الأوّلي لفيروس كورونا–سارس–2 *(12)*. وأثّر تحليل البيانات في الزمن شبه الحقيقي تأثيراً مباشراً على الاستجابة الصحية العامة *(12–16)*. وترد في الجدول 1 أهداف التسلسل الجينومي لفيروس كورونا–سارس–2 فيما يخص الصحة العامة.

ويدفع الفهم المتزايد لكيفية إسهام المعلومات المتعلقة بالمتواليات في تحسين الصحة العامة إلى ضخّ الاستثمارات العالمية في مرافق وبرامج التسلسل. كما يتيح التراجع في تكلفة ودرجة تعقيد بيانات المتواليات الجينية المُولّدة فرصاً لتوسيع قدرات التسلسل؛ ومع ذلك، لا تزال هناك تحديات تكتنف التنفيذ على نطاق واسع، بالإضافة إلى عدم توزّع قدرات وبيانات التسلسل بالتساوي في جميع أنحاء العالم، مع زيادة تمثيل بيانات المتواليات الجينية لفيروس كورونا–سارس–2 الصادرة عن البلدان المرتفعة الدخل.

الجدول 1– الأهداف الصحيّة العامّة للتسلسل الجينومي لفيروس كورونا–سارس–2

أنشطة تتطلب جهداً محدوداً وبعد إنجازها قد لا تحتاج إلى تسلسل أو يُجرى تسلسل عَرَضيّ في بعض الأحيان للمتابعة	أنشطة تتطلب عمليات تسلسل متواصلة على مدى فترة زمنية أطول	
-تحديد فيروس كورونا–سارس–2 كعامل مسبِّب للمرض. -تطوير وسائل تشخيص فيروس كورونا–سارس–2. -دعم تطوير العلاجات واللقاحات. -تحرّي تاريخ الظهور لدى البشر وتقصّي أصل فيروس كورونا–سارس–2 (مستمر). -تجدُّد العدوى: • تقييم وتحسين فهم هذه الظاهرة. • على المستوى الفردي، التفرقة بين العدوى المطوّلة وتجدُّد العدوى.	**تطور فيروس كورونا–سارس–2 وتأثيره فيما يخصّ:** -إحداث تغيير في السلوك الفيروسي (تغيير متعلق بالنمط الظاهري)، على سبيل المثال، إمكانية الانتقال أو قابلية التسبُّب بالمرض؛ -الحصانة (من اللقاحات أو العدوى الطبيعية)؛ -وسائل التشخيص (جزيئية، مصلية، مقايسات المستضدات)؛ -التدخلات العلاجية (مثلاً بالأجسام المضادة أحادية النسيلة).	**رصد الحركة الفيروسية والنشاط الفيروسي:** - تحرّي الانتشار الجغرافي وعودة الظهور بين المجموعات السكانية. - تحرّي حالات تفشي المرض في بيئات وفئات سكانية محددة (مثلاً في المستشفيات). - تتبُّع عودة الأمراض الحيوانية المصدر في اتجاهي حاجز الأنواع البيولوجية. - رصد التصحاح البيئي ومياه الصرف الصحي. - دعم الترصّد التقليدي من خلال التحديد الكمي لفترة انتقال العدوى وتقييم المُحَرِّكات، وتقدير مستوى انتقال العدوى لدى السكان.

الغرض من هذه الوثيقة

تُقَدَّم هذه الوثيقة الموجّهة إلى مقرّري السياسات والجهات صاحبة المصلحة على المستوى الوطني إرشادات حول كيفية تحقيق أقصى فوائد صحية عامة من أنشطة التسلسل الجينومي لفيروس كورونا–سارس–2 على المدى القصير والطويل مع استمرار انتشار الجائحة. ويجري تناول الاعتبارات العملية لتنفيذ برامج التسلسل الجينومي للفيروس، مع تقديم لمحة شاملة عن أهدافه الصحية العامة. وتركز هذه الإرشادات على فيروس كورونا–سارس–2 ولكنها تنطبق على مسببات أمراض أخرى تثير القلق في مجال الصحة العامة. ويُحَبَّذ أن تقوم البلدان الراغبة في بناء قدرات تسلسل فيروس كورونا–سارس–2 بذلك كجزء من خطة أوسع لبناء القدرات على كشف ورصد مسبِّبات سائر الأمراض التي تثير القلق في مجال الصحة العامة.

إرشادات إضافيّة من المنظمة

وضعت المنظمة الدليل التنفيذي المعنون التسلسل الجينومي لفيروس كورونا–سارس–2: دليل تنفيذي لتعظيم المردود الصحي العام بالتعاون مع خبراء مختصين بالتسلسل من جميع أنحاء العالم. ويعرض هذا الدليل خلفية أكثر اكتمالاً عن تسلسل فيروس كورونا– سارس–2، وهو موجّه لأولئك الضالعين فعلياً في تنفيذ برامج التسلسل *(17)*. كما يتضمن استعراضاً متعمّقاً لمختلف استخدامات التسلسل ويقدم مشورة تقنية بشأن تسلسل العوامل الممرضة في سياق فيروس كورونا–سارس–2. وإلى جانب الاطّلاع على هذه الوثائق وغيرها من الوثائق المنشورة، ينبغي للمختبرات التي تفتقر إلى الخبرة في مجال التسلسل أن تبحث فعلياً عن فرص للتعاون مع المختبرات ذات الخبرة و/أو تنضمّ إلى شبكات مختبرات ذات خبرة بالتسلسل أو تكوّن مثل هذه الشبكات.

1- مقدّمة تعريفيّة بفيروس كورونا–سارس–2

يصنَّف فيروس كورونا–سارس–2 ضمن جنس *بيتا فيروس كورونا* (*جُنَيس فيروس ساربيكو*) من عائلة *كورونا فيريداي* *(18)*. وهو فيروس مغلّف، موجب الاستشعار، من فصيلة الأحماض النووية الريبية الأحادية الطاق مع جينوم يقدّر بحوالي kb30 *(19)*. ويتيح التسلسل الجيني قراءة الجينومات الفيروسية. وبما أن لكل عامل مُمرِض تسلسلاً جينومياً فريداً، يمكن استخدام هذه الطريقة لتحديد مسبِّبات الأمراض المستجدّة (كما هو الحال في فيروس كورونا–سارس–2) *(20)*. ويرمز جينوم فيروس كورونا–سارس–2 إلى بروتينات غير هيكلية، وأربعة بروتينات هيكلية (شوكي[S]، ومغلف [E]، وغشائي [M]، وقُفَيصة مُنَوّاة [N]) وعدة بروتينات تابعة تقديرية *(21–23)*. ويتطلب دخول الخلية المضيفة لفيروس كورونا–سارس–2 ربط البروتين الشوكي S الفيروسي بمُستقبِل الإنزيم المحوِّل للأنجيوستين 2 (ACE–2) *(24–27)*. ويمثل البروتين الشوكي لفيروس كورونا–سارس–2، وخاصةً نطاق الربط بالمستقبِل (RBD)، هدفاً حيوياً للمناعة الطبيعية والمستحثّة باللقاحات *(28–32)*. ولذلك، فإن تنويع الجين الذي يرمز إلى البروتين الشوكي يمكن أن يؤثر على فعالية اللقاح والمناعة الطبيعية وعلاجات الأجسام المضادة (أحادية النسيلة) *(33)*.

وعندما تتنسّخ الفيروسات، وخاصةً فيروسات الحمض الريبي النووي مثل فيروس كورونا–سارس–2، تحدث تغيرات (طفرات) في الجينوم. وإذا لم يوجد عامل يعيق تطور الطفرة المكتسبة، قد تصبح ثابتة ضمن مجموعات فيروس كورونا–سارس–2. ويقدَّر معدَّل التغيُّر التطوُّري في فيروس كورونا–سارس–2 حالياً بـ 1×10^{-3} استبدال لكل موقع سنوياً على مستوى النيوكليوتيدات *(34)*. ويُترجَم ذلك إلى قرابة استبدال واحد في الجينوم كلّ أسبوعين *(35)*. ويحدّ مثل هذا المعدّل المنخفض نسبيّاً للتطور من الاستبانة الزمنية لوقائع انتقال العدوى الفردية *(35)*. وتُعَدّ دراسة تطور فيروس كورونا–سارس–2 وسرعة تحديد عمليات الاستبدال أو الإدراج أو الحذف التي يمكن أن تؤثر على الخصائص الفيروسية (المتعلقة بالنمط الظاهري) أداة مهمة للرصد الوبائي. ومن بين أبرز نواتج هذا العمل الكشف عن الطفرات المرتبطة بالتغيّرات في إمكانية انتقال الفيروس و/أو قدرته الإمراضية، أو تلك التي يمكن أن تقلل من جدوى التدابير المضادة الطبية (وسائل التشخيص واللقاحات والعلاجات). كما يمكن أن تساعد متابعة طفرات الفيروسات زمنياً ومكانياً على تتبُّع انتشار العوامل الممرِضة ودعم تعزيز الفهم لطرق وديناميات انتقال العدوى المحتملة. ويمكن إعادة بناء التاريخ التطوُّري لمسبِّبات الأمراض من خلال تحليل تطوّر السلالات. وقد توفر تحليلات تطوّر سلالات الفيروس وتفاعلاتها الديناميكية (أي كيفية تشكُّل التسلسل الأحيائي للفيروس عبر العمليات الوبائية والتطورية) معلومات مستفيضة لدعم التصدّي للفاشية.

2- وضع نهج أمثل لتسلسل فيروس كورونا-سارس- 2 في السياق المحلي

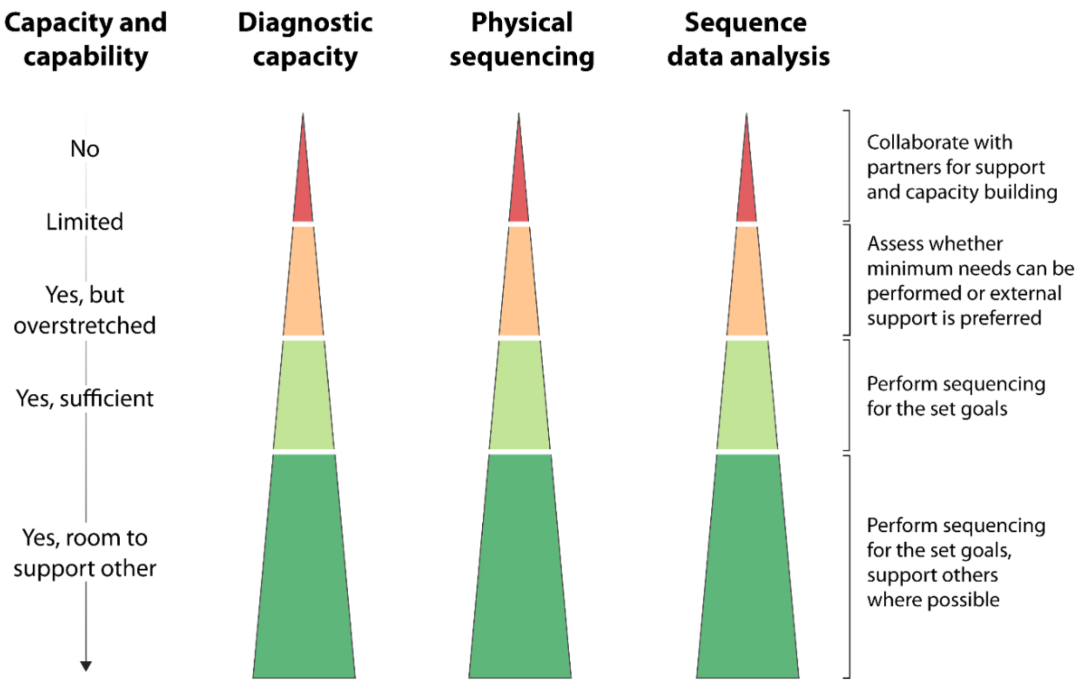
2–1 [illegible]

رغم التراجع الكبير لتكلفة التسلسل الجيني على مدى العقود الماضية، ما زال التسلسل يتطلب استثمارات واسعة النطاق في الموارد (المالية والهيكلية والبشرية). وقبل البدء في مشاريع التسلسل، تتمثل الخطوة الأولى الحاسمة في تحديد ما إذا كان التسلسل مجدياً حقاً لبلوغ هدف محدد أو ما إذا كانت هناك نهوج أخرى أكثر فعاليةً من حيث الوقت أو التكلفة. وقد ينطوي هذا القرار على النظر فيما إذا كان تسلسل الفيروس وحده كافياً لبلوغ الهدف المحدد أو ما إذا كان ينبغي إدراجه كعنصر أصغر في نهج متعدد التخصصات. ويشار إلى أن التأثير المباشر للأنشطة المتحورة حول الأوبئة، والتي تدرج محللي البيانات الجينومية مباشرةً ضمن أفرقة التحرّي والاستجابة في مجال الصحة العامة، يفوق على الأرجح مثيلتها التي يُجرى بها تحليل جينومي للفيروس كنشاط منفصل أو ثانوي.

وحيثما تكون الموارد اللازمة لدعم تحديد التسلسل محدودة، قد يكون من الضروري قصر أهداف برنامج التسلسل على أنشطة ذات إمكانات سريرية و/أو صحية عامة عالية ويمكن الحفاظ عليها. وقد تعطي مثل هذه البرامج الأولوية لتسلسل فيروس كورونا–سارس–2: '1' من

الأفراد الذين يتم تطعيمهم ضد الفيروس ولكنهم يصابون به فيما بعد رغم إظهار استجابة مناعية مناسبة للقاح؛ '2' في ظروف الخطر، مثلاً حيثما يوجد تفاعل وثيق بين الإنسان والحيوان مع وجود عدد كبير من الحيوانات المعرضة للإصابة بعدوى فيروس كورونا–سارس–2، أو عندما يكون هناك مرضى منقوصو المناعة مع ذرف ممتدّ لفترات طويلة، خاصةً عند تلقّي علاج بالأجسام المضادة للفيروس؛ '3' عندما تكون هناك زيادة أو تغيُّر غير متوقع في إمكانية انتقال فيروس كورونا–سارس–2 و/أو فوعته؛ '4' عندما يكون هناك شك في حدوث تغيير في أداء طرق التشخيص (الأجسام المضادة، المستضدّات، المقايسات الجزيئية) أو العلاجات؛ '5' أثناء عمليات تحرّي البؤر الوبائية عندما يكون التسلسل داعماً لفهم أحداث انتقال العدوى و/أو تقييم فعالية إجراءات مكافحة العدوى.

ويقدم الشكل 1 لمحة عامة للركائز الأساسية المطلوبة للتسلسل. وفي حالة انعدام أو محدوديّة توفر القدرات في الركائز الثلاث جميعها، قد يلزم بناء شراكات مع مجموعات أخرى من أجل تحقيق أهداف التسلسل. وعلى العكس من ذلك، إذا توفرت قدرات وموارد كافية لواحدة أو أكثر من الركائز، يمكن للمختبر أن ينظر في دعم سائر الشركاء الذين تكون لديهم برامج تسلسل ناشئة. وسيتباين الطلب على القدرات في مختلف مراحل تفشي المرض وربما اقتضى الأمر أن تنتقل المختبرات من استراتيجية إلى أخرى.



الشكل 1– بناء القدرات المتعلقة بالركائز المطلوبة للتسلسل من أجل اختيار أفضل نهج لَنسَق برنامج التسلسل

Capacity and capability	القدرات والإمكانات
Diagnostic capacity	القدرات التشخيصية
Physical sequencing	التسلسل المادي
Sequence data analysis	تحليل بيانات التسلسل
No	لا توجد قدرات
Limited	قدرات محدودة
Yes, but overstretched	توجد قدرات، لكنها مثقلة بالأعباء
Yes, sufficient	توجد قدرات كافية

Yes, room to support other	توجد قدرات، وثمة مجال لدعم قدرات أخرى
Collaborate with partners for support and capacity building	تعاون مع الشركاء لتقديم الدعم وبناء القدرات
Assess whether minimum needs can be performed or external support is preferred	تقييم ما إذا كان يمكن تلبية الحد الأدنى من الاحتياجات أم يُفضَّل توفير دعم خارجي
Perform sequencing for the set goals	إجراء تسلسل للأهداف المحددة
Perform sequencing for the set goals, support others where possible	إجراء تسلسل للأهداف المحددة، ودعم أهداف أخرى حيثما أمكن

2-2 [illegible]

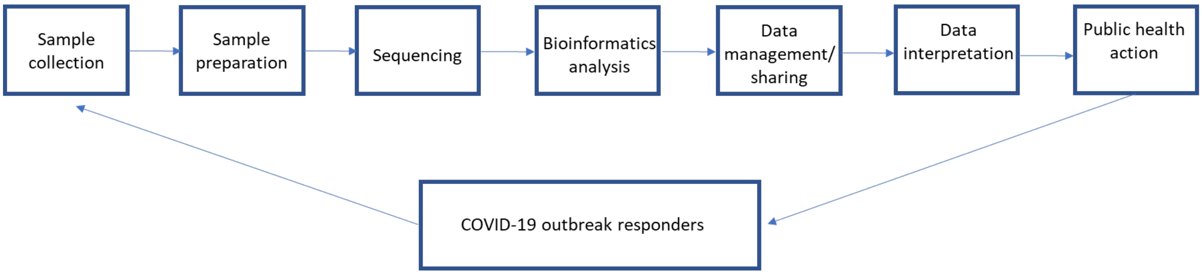
أثبتت شبكات مختبرات المنظمة نجاحاً في أدائها الوظيفي، عبر إتاحة التعاون عالمياً مع تكييف الشبكات على الصعيد الإقليمي لتلائم الاحتياجات الوطنية والإقليمية المحددة *(36–39)*. ومن خلال بناء شبكة تسلسل عالمية قوية ومرنة كهذه، يمكن تعظيم مردود تسلسل فيروس كورونا–سارس–2 والعوامل الممرِضة الناشئة/العائدة على الصحة العامة. وفي الوقت الراهن، تدعم مختبرات المنظمة المرجعية المعنية بالفحص التأكيدي لمرض كوفيد–19 بعض هذه الاحتياجات الخاصة باالتسلسل والتحليل *(40)*. وتملك عدة مناطق قدرات في مجال التسلسل، أو هي في طور الإعداد، ستمكِّنها من الانضمام إلى الشبكة العالمية للمختبرات/مجموعات التسلسل. ولتحديد المساهمة التي يمكن أن تقدمها المختبرات في الشبكة، يمكن إجراء تقييم عالمي للقدرات مقابل كل ركيزة مدرجة في الشكل 1. وقد استثمرت شبكات مختبرات مختلفة مختصة بعوامل مُمرِضة معيّنة (مثل تلك العاملة في مجال مقاومة مضادات الميكروبات، وفيروس كورونا المسبِّب لمتلازمة الشرق الأوسط التنفسية، والأنفلونزا، والحصبة، والحصبة الألمانية، وفيروس شلل الأطفال، والسل) في قدرات التسلسل كجزء من أنشطتها في مجال الترصد *(8، 9، 41–43)*. وإزاء ارتفاع تكاليف التسلسل حالياً ونظراً لإمكانية استخدام أجزاء كثيرة من مسار عمل التسلسل لأغراض مختلفة في مجال مُسَبّبات الأمراض أو التسلسل، فإنه يُحَبَّذ التعاون على المستوى الوطني بما يضمن الاستخدام الأمثل للقدرات الموجودة. وينبغي أن تركز برامج بناء القدرات على نهج تدريجي لبناء الكفاءات. ويتعين أن تكون أولويات بناء القدرات قائمة على السياق. وفيما يخص بعض البلدان، سيكون من المجدي بناء القدرات في مجال المختبرات الرطبة، بينما ستكون الاستعانة بمصادر خارجية أكثر تأثيراً في مجالات أخرى، كالتسلسل الفعلي والتركيز على المعلوماتية الأحيائية وإدارة البيانات وتفسيرها. وتحقيقاً لفعالية التعاون، فإن تبادل البيانات وبروتوكولات التسلسل الموحدة والاجتماعات المشتركة والتدريب والمراجعات التدقيقية واختبارات الكفاءة (التسلسل والتحليل) ووضع معايير مرجعية لتقييم مختلف الإجراءات، سيدعم المضي في تطوير برامج عالية الجودة لتسلسل فيروس كورونا–سارس–2 وللكشف عن مسبّبات الأمراض الناشئة في المستقبل والتصدّي لها. وحيثما يجري تبادل عينات في إحدى الشبكات، ينبغي أيضاً وضع آليات مناسبة لشحن العينات بموجب اشتراطات كافية.

3- الاعتبارات العمليّة لتنفيذ برامج التسلسل الجينومي الفيروسي

نقدم هنا لمحة عامة عن المتطلبات التقنية لوضع برامج التسلسل. وللحصول على معلومات مفصّلة حول تسلسل فيروس كورونا–سارس–2، يُرجى الرجوع إلى الدليل التنفيذي الكامل لتسلسل فيروس كورونا–سارس–2 *(17)*.

3-1 ئالإعنّكئف قطعمككِب صت هصظ اهئا ثكئحكف غنده ز كمنهمئ-زئذ ز- 2

ستحدد أغراض التسلسل تصميم مسار عمل التسلسل (الجدول 1). ويمكن الاطِّلاع على مسائل رئيسية ذات صلة للمساعدة في هذه العملية ضمن الملحق الأول. ويتضمن الملحق الثاني قائمة مرجعية تتضمن الاعتبارات المتعلقة بتخطيط برامج تسلسل فيروس كورونا–سارس–2. ويصوِّر الشكل 2 مسار عمل التسلسل الجينومي الكامل لفيروس كورونا–سارس–2. وينبغي أن يتلقى جميع العاملين الضالعين في برامج التسلسل قدراً مناسباً من التدريب والتعليم للالتزام بالمهمة المقررة. ويتعين تحديد الجهات الرئيسية صاحبة المصلحة والتشاور معها وإشراكها في مرحلة مبكرة. وتشمل قائمة أصحاب المصالح الذين يتوجّب إشراكهم عند وضع برامج التسلسل هيئات الصحة العامة، ومختبرات التشخيص، ومرافق التسلسل، ومجموعات التحليل، والأفرِقة المعنية بالوقاية من العدوى ومكافحتها أو خدمات الصحة المهنية حسب الوضع، ومجموعات الدفاع عن المرضى، وسائر المؤسسات الضالعة في بحوث التداخل بين الفيروسات الإنسانية والحيوانية عند الاقتضاء. وينبغي تطوير قنوات ومسارات للتواصل بما يتماشى مع أهداف البرنامج ومباشرتها في جميع مراحل المشروع من أجل ضمان تحقيق الاستفادة القصوى من استخدام بيانات التسلسل. ومن الضروري إجراء تقييمات منتظمة للتقدم المحرز في المشروع وتقييم نهائي لضمان استخلاص الدروس وإدخال تحسينات عند الحاجة. ويتطلب النجاح في تحقيق أغراض برامج التسلسل المتمحورة حول مسبّبات الأمراض الناشئة إشراك الخبراء في مختلف الميادين مثل: '1' التسلسل من خلال المختبرات الرطبة والتعامل الآمن مع عينات الفيروسات؛ '2' توليد جينومات دقيقة من البيانات غير المعالجة؛ '3' تحليل الجينومات للاستفادة من النتائج في التصدي للفاشية؛ '4' مسبِّبات الأمراض. ويتمتع معظم الخبراء بالمهارة في واحد أو اثنين فقط من هذه المجالات. وفيما يخص المجالين '2' و '3' ، هناك حاجة إلى موارد حاسوبية قوية لتحقيق نتائج سريعة. ولذلك فإن التعاون بين الخبراء ذوي المهارات المختلفة وتجميع الموارد مهم في كثير من الأحيان لتحقيق نتائج دقيقة وفعالة في الوقت المناسب يمكن أن تؤثر حقاً على الصحة العامة.



الشكل 2– مسار عمل التسلسل الجينومي الكامل لفيروس كورونا–سارس–2. ويتطلب النجاح في تنفيذ مسار العمل هذا تواصلاً على المستوى الثنائي بين الخبراء المشاركين في مختلف المراحل؛ وبالشكل الأمثل يتناقش القائمون على تفسير البيانات مباشرةً مع أولئك الضالعين في اختيار وإعداد العينات لتحديد العينات التي سيتم اختيارها من عملية التسلسل.

Sample collection	جمع العينات
Sample preparation	إعداد العينات
Sequencing	التسلسل
Bioinformatics analysis	التحليل المعلوماتي الأحيائي
Data management/sharing	إدارة/تبادل البيانات
Data interpretation	تفسير البيانات
Public health action	الإجراءات الصحية العامة
COVID-19 outbreak responders	الجهات المعنية بالتصدي لفاشية كوفيد–19

3–2 الاعتبارات الأخلاقية

من المهم أن يجري استعراض الآثار الأخلاقية عند تصميم برامج التسلسل. وينبغي تحديد المخاطر المحتملة للأضرار الاجتماعية التي قد تلحق بالمشاركين في البحوث، كما يتعين تحديد استراتيجيات لتخفيفها. ويجب تقييم أي استقصاءات مقترحة والموافقة عليها من قِبَل لجنة مراجعة أخلاقية، تأخذ في الاعتبار القيمة الاجتماعية، والصلاحية العلمية، واختيار المشاركين، ونسبة المخاطر إلى الفوائد، والموافقة المستنيرة، والاحترام المستمرّ للمشاركين *(44–46)*. وحيثما افتقر الباحثون إلى الخبرة في تحديد القضايا الأخلاقية المحتملة التي تحيط بتسلسل مسبّبات الفاشيات مثل فيروس كورونا–سارس–2، يشجَّع بقوة على التعاون الدولي وإشراك ذوي الخبرات *(44)*. وينبغي أن يكفل التعاون بين الباحثين في جميع أنحاء العالم إقامة شراكات بحثية تعاونية منصفة ومفيدة للجميع. ويتعيّن تشجيع الباحثين المحليين على القيام بأدوار قيادية وفاعلة في جميع مراحل عملية البحث، لكونهم الأصلح لفهم نظم الرعاية الصحية والبحوث لديهم والأقدر على ترجمة النتائج إلى سياسة عامة *(44، 45)*. وتناقَش الاعتبارات الأخلاقية المتعلقة بتبادل التسلسل الجينومي والبيانات الوصفية في الفرع 3–7.

3–3 الاعتبارات المتعلقة باستراتيجية أخذ العينات

بمجرد تحديد الأهداف، يلزم وضع استراتيجية ملائمة لأخذ العينات مع الجهات المعنية صاحبة المصلحة. ويمكن الاطّلاع على التفاصيل المتعلقة بأخذ العينات في الدليل التنفيذي لتسلسل فيروس كورونا–سارس–2 *(17)*. وكوضع أمثل، ينبغي تسجيل أسباب اختيار عينات التسلسل في البيانات الوصفية، حيث إن إدراج مجموعات فرعية غير عشوائية من العينات يمكن أن يؤثر على موثوقية بعض التحليلات الجينية مثل تحليلات تطور السلالات وتفاعلاتها الديناميكية. وتشمل الإرشادات التشخيصية لفيروس كورونا–سارس–2 *(47)* نصائح عملية بشأن كيفية جمع العينات السريرية. وقبل التسلسل، من المستحسن إثراء عينة المادة الوراثية لفيروس كورونا–سارس–2 تناسبياً مع المواد الوراثية الأخرى. وفي هذه الخطوة، يراعى الحرص على عدم تلويث العينة *(17، 48، 49)*. وتمثل النُهُج القائمة على تفاعل البوليمراز التسلسلي طريقة غير مكلفة وسريعة ومريحة لزيادة كمية المواد الوراثية للفيروسات المتاحة في عينة ما قبل تسلسلها، ومنها على سبيل المثال النهج الذي صمّمته شبكة ARTIC *(51–53)*. ولمزيد من التفاصيل التقنية وكيفية اختيار الطريقة المثلى لمختلف البيئات، نحيل إلى الدليل التنفيذي لتسلسل فيروس كورونا–سارس–2 *(17)*. وبعد إعداد العينة الأولية لإثراء المادة الوراثية لفيروس كورونا–سارس–2، يمكن عادةً إعداد مكتبات باستخدام بروتوكولات تسلسل قياسية مناسبة لأي فيروس.

3–4 الاعتبارات المتعلقة بالتكنولوجيا

تشمل استراتيجيات تسلسل فيروس كورونا سارس–2 نُهُجاً مستهدفة تعتمد على المعرفة بالجينوم، ونُهُجاً جينومية وصفية لا تتطلب معرفة مسبقة بالتسلسل الجينومي *(54، 55)*. ويوجز الملحق الثالث المزايا والقيود الرئيسية لكل تكنولوجيا تسلسل شائعة الاستخدام. وقبل الاستثمار في بناء قدرات التسلسل، ينبغي إيلاء الاعتبار لمتطلبات مختلف التكنولوجيات من حيث الموارد البشرية، وكفاءات العاملين، والبنية التحتية المختبرية، ووقت التشغيل، والتكاليف، وسهولة الاستخدام، والمعالجة اللاحقة للبيانات، والإنتاجية (معدل إنتاج البيانات) ودقة التسلسل. وسيتوقف عدد العينات التي تحتاج إلى تحليل على غرض التسلسل. وعند حساب التكاليف، لا يُنظَر في شراء معدات التسلسل فحسب، بل أيضاً في التكاليف المتكررة للكواشف وعقود الصيانة والخدمات. ولا تغطّي هذه الإرشادات التكاليف، ولكن يمكن الاطّلاع على لمحة عامة حديثة موسّعة في المرجع *(8)*. وينبغي أن تتوفّر البنية التحتية الأساسية لدعم إجراء تسلسل موثوق به، بما في ذلك وصلات موثوقة بالإنترنت والإمدادات الكهربائية، وبيئة مناسبة (كالخلو من الاهتزازات والغبار، وتسجيل درجات الحرارة والرطوبة وتنظيمها على النحو اللازم لبعض المنصات)، وتسجيل بيانات تخزين العينات. ويتعيّن تنفيذ تدابير مناسبة للسلامة البيولوجية والأمن البيولوجي. ويمكن أن يساعد تقييم التكاليف والاحتياجات من البنية التحتية الأساسية على البتّ فيما إذا كان ينبغي إجراء التسلسل الفعلي داخلياً أو يفضَّل الاستعانة بمصادر خارجية. ومع التغير السريع في التكنولوجيا؛ سوف تصبح بعض التقنيات بالية أو سيتحول المصنِّعون إلى آلات و/أو كواشف مختلفة. وقبل ضخّ استثمارات ضخمة، يُستحسَن تحديد المدة التي ستلتزم فيها الشركة المصنِّعة بتزويد الكواشف ودعم صيانة وإصلاح عيوب المنصات

المختارة موضع الاهتمام. وعند التخطيط لبرنامج ما، ينبغي أيضاً مراعاة توافر كواشف مساعِدة ومعدات إضافية لدعم أعمال التسلسل (مثل طرائق الاستخراج [إما آلياً أو يدوياً]، وأدوات لتحديد كمية المواد الوراثية، وأدوات للتضخيم والحضانة، وتنقية العينات، وتخزين العينات والكواشف). ويتعيّن أن تتوفّر للمختبرات التي تجري التسلسل الجينومي قدرات عالية الجودة في تقنية تفاعل البوليمراز التسلسلي لفيروس كورونا–سارس–2 مؤكّدة بضمانات داخليّة وخارجيّة للجودة. وبالإضافة إلى ذلك، يجب وضع مؤشرات للجودة ورصدها لكل خطوة من هذه العملية.

3-5 *الاعتبارات المعلوماتيّة الأحيائيّة والحسابيّة*

تختلف متطلبات الأجهزة الحاسوبية حسب النهج المتّبع (للحصول على تفاصيل، نحيل إلى الدليل التنفيذي *(17)*). ويتوقف حجم البيانات غير المعالَجة الناتجة على طريقة التسلسل (انظر الملحق الثالث) وعدد العينات الخاضعة للتسلسل *(56)*. كما تختلف القدرة الحسابية المطلوبة لتحليل البيانات وفقاً لغرض وطريقة التسلسل. فعلى سبيل المثال، قد يتطلب تطور السلالات الجينومية وضبطها قوة حسابية عالية الأداء، لا سيما عندما تكون مجموعات البيانات كبيرة. وينبغي مراعاة تكاليف البنية الحسابية المطلوبة لتخزين هذه البيانات ومعالجتها عند وضع مسار للتسلسل. وسيعتمد المسار المعلوماتي الأحيائي على المراحل المختبرية السابقة للتسلسل، ومنصة التسلسل، والكواشف المستخدمة. وللاطّلاع على وصف مفصّل للمسارات المعلوماتية الأحيائية، نحيل إلى الإرشادات التنفيذية *(17)*.

3-6 *ىإلإعكئثئ ةطفسئعق ب ائصكبهـ اضركثئ ةطفنهزئ ة*

لم يتم بعد تحديد تسميات ثابتة لفيروس كورونا–سارس–2. وفي غياب تسمية متفق عليها، تُستخدَم عموماً ثلاث استراتيجيات رئيسية للتسميات. ويمكن تعريف السلالات أو الفروع الحيوية على أساس الفيروسات التي تشترك في سلف مشترك محدد بتطور السلالات. وتهدف المبادرة العالمية لتبادل بيانات أنفلونزا الطيور ومشروع Nextstrain إلى توفير تصنيف واسع لتنوع السلالات المنتشرة عالميًا من خلال تسمية مختلف الفروع الحيوية لتطور السلالات. وقد اقترح Rambaut وآخرون تسمية ديناميكية لسلالات فيروس كورونا–سارس–2 تركز على سلالات الفيروسات التي تنتشر بشكل نشط وتلك التي تنتشر إلى مواقع جديدة *(57)*. ويتوفر برنامج حاسوبي لإسناد متواليات جديدة تلقائيًا إلى نسب و/أو فرع حيوي *(58–60)*. ومع تزايد التنوع في جينومات فيروس كورونا–سارس–2، يتعاظم الطلب على تسميات موحدة *(57، 61، 62)*. وفي حين لا توجد تسميات متسقة، فإن أفضل نهج هو إدراج السلالات و/أو الفروع الحيوية الخاصة التي تستخدم الأنظمة الثلاثة الشائعة الاستعمال جميعها، أو على الأقل تحديد التسميات المستخدمة صراحةً.

3-7 *ائصسئطكبطك ةدملكِب هئكبئخطكبئمئ ةطك مشغكِب*

من شأن التبادل السريع لبيانات المتواليات الجينية للعوامل الممرِضة، إلى جانب البيانات الوصفية الوبائية والسريرية المحجوبة المصدر ذات الصلة، أن يزيد من أثر التسلسل الجينومي في الاستجابة الصحية العامة *(63–65)*. وقد كان التوسع في تبادل متواليات فيروس كورونا–سارس–2، فضلاً عن البروتوكولات التشخيصية وبروتوكولات التسلسل والعينات، مفيداً على الصعيد العالمي لتحقيق القدرة على التشخيص الجزيئي في أنحاء العالم *(66–68)*. وينبغي أن يواصل المجتمع العلمي/الطبي الاستفادة من التعاون العالمي وتبادل البيانات في الوقت المناسب أثناء فاشية فيروس كورونا–سارس–2 والفاشيات الناشئة في المستقبل. وهناك خياران قائمان بذاتهما متاحان لتبادل بيانات التسلسل الجينومي لفيروس كورونا–سارس–2 وهما: "المِلك العام" و"النفاذ العام" *(69)*. وتوفِّر قواعد بيانات المِلك العام إمكانية الوصول إلى البيانات دون اشتراط هوية من يحصلون على البيانات ويستخدمونها، ومنها على سبيل المثال مبادرة التعاون الدولي بشأن قواعد بيانات تسلسل النوكليوتيدات، التي يديرها بنك بيانات الحامض النووي في اليابان، والمعهد الأوروبي للمعلوماتية الأحيائية التابع لمختبر البيولوجيا الجزئية الأوروبي، والمركز الوطني لمعلومات التكنولوجيا البيولوجية. وفي قواعد البيانات التي يمكن للجمهور الوصول إليها، مثل المبادرة العالمية لتبادل بيانات أنفلونزا الطيور، يجب على المستعملين تحديد هويتهم لضمان الشفافية في استخدام البيانات، والسماح برقابة فعالة، وحماية

حقوق المساهمين بالبيانات، وبذل قصارى الجهود للتعاون مع مقدِّمي البيانات، والتنويه بمساهمتهم في النتائج المنشورة. والأمثلة المذكورة مجانية ومتاحة للجمهور. وعند وضع مشاريع تسلسل العوامل المسبِّبة للأمراض، يتحتّم تحديد أيٍّ من هذه الخيارات هو الأنسب، إن لم يكن كليهما، وما إذا كانت هناك أساليب أخرى للوصول إلى بيانات المتواليات الجينيّة وتبادلها *(44)*. ومن المهم لضمان استمرار تبادل البيانات الجينية الإقرار الواجب بفضل أولئك القائمين بجمع العينات السريرية وتوليد المتواليات الجينومية للفيروسات. وينبغي دائماً الاعتراف بمصادر البيانات حيثما تُستخدَم بيانات متاحة للجمهور، ويتعين الاستشهاد بالمنشورات والمقالات قبل نشرها حيثما كانت متاحة.

ويمكن تبادل بيانات المتواليات بأشكال متعددة قيّمة ، بما في ذلك المتواليات التوافقية والمتواليات المتوافَق عليها جزئياً وبيانات المتواليات الأولية. وينبغي تقييم جودة بيانات المتواليات، بما في ذلك التلوث المحتمل بأجزاء الحامض النووي المضخّم أو المكبّر الناتجة عبر تفاعل البوليمراز التسلسلي، تقييماً دقيقاً قبل تبادلها. ويتعين أن تتصل المختبرات بمنصات تبادل المتواليات لتحديث المتواليات الجزئية التي سبق تقديمها حال اكتشاف خطأ ما وتصحيحه. ومن المهم تبادل القراءات الأولية لتسلسل الفيروسات (أي جميع الشظايا الفردية لجينوم الفيروس الخاضعة للتسلسل قبل تجميعها في جينوم توافقي واحد) حيث يتيح ذلك المقارنة المباشرة لتأثير مختلف النهوج المعلوماتية الأحيائية لتوليد الجينوم التوافقي ويسهِّل تصحيح الأخطاء إذا لزم الأمر. ونظراً لضخامة حجم بيانات مكتبات التسلسل، قد يكون تبادل البيانات على مستوى القراءة أكثر صعوبةً في البيئات التي تتسم بمحدودية سرعات التحميل على الإنترنت أو تقطُّع الاتصالات بشكل غير منتظم. وينبغي أن تحمي أي بيانات مشتركة إغفال هوية المريض. ولضمان عدم الكشف عن شخصية المريض، يجب تصفية البيانات الأولية التي تحتوي على قراءات بشرية للاحتفاظ فقط ببيانات المتواليات الجينية غير البشرية (أي الفيروسية) قبل تبادلها *(43)*. ومن الضروري تبادل البيانات الوصفية المترابطة، مثل تاريخ جمع العينات أو موقع أخذ العينات التقريبي، لإتاحة استخدام بيانات المتواليات في العديد من تطبيقات تطور السلالات. ومع ذلك، ينبغي النظر بعناية في تحديد البيانات الوصفية التي يمكن تقاسمها بشكل معقول دون المساس بخصوصية المريض.

وكثيراً ما يتم تبادل التحليلات الأولية لبيانات المتواليات الجينية من خلال المنتديات والمنصات وخوادم الطبعات الأولية *(70-72)*. وينبغي للعلماء، من خلال منشوراتهم، كما هو الحال في جميع التقارير العلمية، أن ينظروا في مَواطِن القوة والضعف في تحليلاتهم، وكيف يمكن تفسير التحليلات أو بلورتها من قِبَل مختلف القطاعات المستهدفة قبل استعراضها على مستوى الأقران. ويُشجَّع العلماء على تقديم تفسير واضح لاستنتاجاتهم بغية الحدّ من سوء الفهم أو إساءة استخدام النتائج.

4- أغراض الصحّة العامّة للتسلسل الجينومي لفيروس كورونا-سارس-2

فيما يلي أمثلة على أهم أغراض الصحة العامة لتسلسل فيروس كورونا-سارس-2؛ وللحصول على توصيفات مفصّلة، يُرجى الرجوع إلى الدليل التنفيذي لتسلسل فيروس كورونا-سارس-2 *(17)*.

4-1 تحديد وتوصيف فيروس كورونا-سارس-2 ووضع تدابير مضادّة

كان تقاسم التسلسل الجيني الكامل للفيروس المستجدّ في أوائل كانون الثاني/يناير 2020 أساسياً في توصيف فيروس كورونا-سارس-2، مما أتاح التطوير السريع لوسائل التشخيص ودعم تطوير العلاجات واللقاحات *(73-80)*. ويعزز التسلسل الجيني فهمنا لأصول الفيروسات الجديدة وانتقالها. ومن خلال دراسة الجينومات الأولية لفيروس كورونا-سارس-2 المتوفرة من ووهان، جمهورية الصين الشعبية والمناطق المحيطة بها، أمكن تحديد آخر تاريخ ممكن لظهورها باعتباره تشرين الثاني/نوفمبر -كانون الأول/ديسمبر 2019 *(74، 75، 81، 82)*. ومن خلال أخذ عينات من مجموعة واسعة من الحيوانات، يجري دعم البحوث المتعلقة بتحديد المصدر الحيواني الأوّلي و/أو العائل الوسيط المحتمل *(81، 83، 84)*.

4–2 رصد انتقال العدوى والانتشار الجغرافي

علم تطور السلالات هو وسيلة لتقصّي العلاقات التطوّرية بين الكائنات الحية المختلفة باستخدام تسلسلاتها الجينية. ويُستخدَم في كل فرع تقريباً من فروع علم الأحياء وله العديد من التطبيقات المهمة لتوجيه استجابات الصحة العامة *(17، 85–87)*. ويعزّز توافر البيانات الوبائية أو السريرية المتعلقة بأخذ عينات من المتوالية الجينومية للفيروسات (غالباً ما يشار إليها باسم البيانات الوصفية، مثل تاريخ أخذ العينات، وموقع المريض، والمعالم السريرية) من تفسير تحليلات تطور السلالات. وتختلف البيانات الوصفية المطلوبة وفقاً لهدف التسلسل الجينومي. ويمكن الاطّلاع على الجوانب التقنية لتحليلات تطور السلالات وتفاعلاتها الديناميكة والبيانات الوصفية والمخاطر الشائعة لإساءة تفسيرها في الدليل التنفيذي لتسلسل فيروس كورونا–سارس–2 *(17)*.

4–2–1 [illegible]

تُستخدم التحليلات الجغرافية لتطور السلالات التي تستخدم التسلسلات الجينومية للفيروسات والمعلومات المتعلقة بموقع أخذ العينات لتتبُّع سريان فيروس كورونا–سارس–2 على الصعيد العالمي *(13، 47، 88–90)*. وغالباً ما تتطلّب عمليات إعادة البناء الجغرافي لتطور السلالات إمكانات مهنية عالية، ويمكن أن تساعد استراتيجيات المعاينة الجزئية على تقليل هذا العبء الحسابي. ويمكن أن يكون الاستدلال على حركة الفيروسات أو بلد منشأ فروع حيوية/سلالات محددة ذا قيمة، ولكن ينبغي القيام به بحذر لوجود عدة عوامل تحيز ممكنة في تقدير إعادة البناء الجغرافي لتطور السلالات. وعلى سبيل المثال، فإن عدم وجود جينومات متاحة لفيروس كورونا–سارس–2 من مناطق معينة قد يقلل من احتمالات إعادة بناء تلك المناطق باعتبارها المصدر الجغرافي لسلالة/فرع حيوي. وقد تكون المتواليات الجينومية مرتبطة في بعض قواعد البيانات بموقع أخذ العينات الفيروسية، بدلاً من الموقع المشتبه فيه لإصابة أحد المرضى. وحيثما اختلفت هذه المواقع لأن المريض تنقّل بين وقت الإصابة بالعدوى ووقت أخذ العينات الفيروسية، يمكن أن يؤدي التحليل الجغرافي لتطور السلالات إلى إعادة بناء غير دقيقة لأصل فروع حيوية/سلالات محددة *(91)*. وينبغي تفسير هذه النتائج بحذر وليس على افتراض أن نتائج التطور الجغرافي للسلالات تمثل الأنماط الحقيقية للانتشار الفيروسي المكاني–الزمني (الزمان والمكان).

كما يمكن استخدام طرق الاستدلال على الانتشار المكاني–الزمني للفاشية من أجل تحرّي العوامل التي أدت إلى نشر الفيروس *(92)*. وقد يساعد تحديد محركات انتقال العدوى على تشكيل استراتيجيات جديدة لمنع انتشار المرض. وقد استُخدِم هذا النهج، على سبيل المثال، في فاشيات مرض فيروس الإيبولا في غرب أفريقيا *(93، 94)*. وبالنسبة لفيروس كورونا–سارس–2، استخدمت عدة بلدان التسلسل الجينومي لتحديد مساهمة انتقال العدوى محلياً مقارنةً بالحالات الوافدة، واستفادت من هذه المعلومات للمساعدة في اتخاذ قرارات بشأن السياسات العامة *(89، 90، 95–100)*. وغالباً ما يتطلب تحديد التفاعلات الديناميكية للعوامل المهمة لفهم انتقال العدوى قدرات حسابية، ويحتاج إلى تنظيم بيانات مستفيضة عن العوامل التفسيرية المحتملة (مثل الكثافة السكانية البشرية، والتنقّل البشري). ولذلك، غالباً ما يتم الانتهاء من التحليلات بعد أسابيع أو أشهر من التسلسل الجينومي الفيروسي. ومع ذلك فإن إجراء تحليلات، حتى لو كانت رجعية الأثر، مفيد لتوجيه التدخلات الخاصة بفيروس كورونا–سارس–2 أو مسبِّبات الأمراض الناشئة المحتملة.

4–2–2 [illegible]

استُخدِمَ التجميع المتعلق بتطور السلالات في دعم عمليات تحرّي بؤر وفاشيات فيروس كورونا–سارس–2. ويمكن الاسترشاد بتحليلات بؤر انتقال العدوى في اتخاذ القرارات المحلية بشأن مدى الحاجة إلى تدابير رقابية لمنع انتقال العدوى مستقبلاً في بيئات محددة لتفشّي المرض *(101)*. وبالنظر إلى المعدل التطوري البطئ نسبياً لفيروس كورونا–سارس–2 (استبدال واحد للنوكليوتيدات كل أسبوعين)، من المتوقع ألا يمكن تتبُّع العديد من أحداث انتقال العدوى الفردية استناداً إلى بيانات المتواليات الجينومية *(35)*. ومن شأن تجميع متواليات لتطور السلالات من مرضى يتشاركون نفس المصدر الافتراضي للتعرض أن يكون متسقا مع ذلك التعرّض (وإن لم يكن دليلاً قوياً على ذلك). وعلى النقيض

من ذلك، فإن فصل المتواليات الفيروسية لتطور السلالات من مرضى يتشاركون نفس المصدر الافتراضي للتعرض يشير بقوة إلى أن المصدر الشائع للعدوى قد تم تحديده بشكل غير صحيح.

4-2-3 [illegible]

يمكن أن تساعد النُهُج الميقاتية الجزيئية لتطور السلالات في تقدير الحدود العليا والدنيا لوقت دوران السلالات الوراثية الفيروسية الاعتيانية في مجموعة سكانية معينة *(74، 90، 102–106)*. ومن شأن هذا النهج أن يوفر معلومات أكثر دقةً عن فترة انتقال العدوى الفيروسية بدءاً من التحديد السريري للحالات، لا سيما في المراحل المبكرة أو المتأخرة من تفشي المرض عندما يكون الترصد محدوداً. ويمكن أن تحدد دراسة التباين في المتواليات الجينومية المكتشفة ما إذا كان هناك انتقال محلي غير مكتشف سريرياً. وفي هذه الظروف، ينبغي تنفيذ برامج محسَّنة للترصّد التشخيصي حال الاشتباه في حدوث انتشار غير مكتشَف.

كما قد يفيد تحليل المتواليات الجينومية في تقدير عدد الأفراد المصابين بالعدوى من فرد واحد من مجموعة سكانية معينة (رقم التكاثر [R_0])، ودعم تقييم التغيرات النسبية في حجم الفاشية بمرور الوقت. ويمكن استخدام هذه المعلومات لتقييم أثر التدابير الرقابية المحددة.

4-2-4 [illegible]

فيما يخص مسبّبات أمراض مثل فيروس شلل الأطفال، يمثل رصد مياه الصرف الصحي أداة مهمة لتَتَبُّع السريان الصامت للفيروسات في المجتمع المحلي. ويتيح هذا النهج فرصاً للكشف عن السريان (قبل اكتشاف المرضى الأوّليّين سريريّاً)، وتقدير مدى الانتشار، وفهم الصلة الجينية والتنوع *(107، 108)*. وقد أثبتت عدة بلدان جدوى الكشف الجزيئي عن الحمض النووي الريبي لفيروس كورونا–سارس–2 في مياه الصرف الصحي *(109–115)*. وبناءً على ذلك، فإن الترصّد البيئي نهج واعد، لا سيما في بيئات الانتشار المنخفض، لتحديد الناقلين غير المعروفين، ويُستخدَم كنظام "للإنذار المبكر" بظهور فيروس كورونا–سارس–2 أو بحدوث تغيرُّات في معدل انتشاره *(109، 116، 117)*.

4-2-5 [illegible]

يمكن أن تتسبّب الفيروسات التاجية الموسمية في تجدُّد إصابة البشر بالعدوى *(118)*. وفيما يخص فيروس كورونا–سارس–2، تم توثيق حالات تجدّد للعدوى *(119–124)*. وفي هذا السياق، يمكن مقارنة المتواليات الجينومية الاعتيانية لفيروس كورونا–سارس–2 من النوبات الأولى واللاحقة لتحديد ما إذا كان كشف الفيروس مُجَدّداً لدى الفرد هو تجدّد للعدوى أو نتيجة لذرف فيروسي طويل الأمد *(125، 126)*. وإذا اتسمت المتواليات من كل نوبة بفروق وراثية قوية، كتلك التي تحدث في سلالات/فروع حيوية مختلفة مدعومة بشكل جيد، يمكن اعتبار النوبات اللاحقة بمثابة تجدُّد للعدوى. وتُعدّ الفحوصات المصلية المصاحبة ضرورية لفهم ما إذا كان تجدُّد العدوى مرتبطاً بسلالة متمايزة مستضدّيّاً أو بعدم وجود استجابة مناعية وقائية من العدوى الأولية. لذا فإن التسلسل يمكن أن يدعم تحسين فهم تواتر تجدّد العدوى وعوامل خطورتها المحتملة *(125، 126)*.

4-3 رصد تطورفيروس كورونا–سارس–2

4-3-1 [illegible]

يمكن استخدام التسلسل الجينومي لتحديد الاستبدالات الجينية التي قد تغير من خصائص العدوى الفيروسية (تغيّر متعلق بالنمط الظاهري)، مثل إمكانية الانتقال أو الفوعة. وتكتسب جميع الفيروسات تغيّرات جينية أثناء دورانها، ولكن الغالبية العظمى من التغيّرات المكتسبة لا تؤثر تأثيراً كبيراً على سلوك الفيروس. ومع ذلك، فإن ثمة تغيّرات وراثية نادرة في فيروس كورونا–سارس–2 قد تسبِّب تغيّرات متعلقة بالنمط الظاهري ذات أهمية للصحة العامة. ويطرح تحديد وإثبات أثر هذه التغيّرات تحديات. وبشكل عام، يصعب تقديم أدلة يقينية حول ما إذا

كانت الزيادة في معدل الانتشار النسبي لطفرة (طفرات) معيّنة عبر الزمن ترجع إلى اختلاف متعلق بالنمط الظاهري. فهيمنة فرع حيوي محدد/سلالة محددة من الفيروسات لدى السكان، على سبيل المثال، قد تكون راجعة إلى سلوك المجموعة البشرية المصابة بالعدوى أكثر مما تعزى إلى سلوك الفيروس نفسه. وفي معظم الوقت، يرجَّح أن تكون هذه الأنماط عشوائية. ومع ذلك، إذا كان تحليل تطور السلالات يلمِّح إلى التأثير الوبائي أو السريري المحتمل لطفرات/سلالات متحوّرة محددة، يلزم إجراء دراسات جينومية سريرية بالشكل الصحيح من أجل تقييم السلالات المتحورة المرشّحة التي قد تضفي تغييرات متعلقة بالنمط الظاهري تُلاحَظ سريرياً في الفيروس. وينبغي استخدام نُهُج موحدة لتقييم التغيّرات الجينية المطروحة باعتبارها تسبّب تغييرات متعلقة بالنمط الظاهري، بما في ذلك دراسات نمذجة البروتين لتقييم الأثر المحتمل والتجارب التي تُجرى في المختبر أو في الجسم الحي باستخدام فيروس متحول (مستنسخ) مع الطفرات المحددة المثيرة للقلق لتأكيد أو رفض الخصائص المحددة للسلالات المتحورة المرشحة. وقد أنشأت المنظمة فريقاً عاملاً مخصصاً، منبثقاً من شبكة المختبرات المرجعية المعنية بفيروس كورونا-سارس-2. ويركز هذا الفريق العامل المعني بتطور فيروس كورونا-سارس-2 على تطور الفيروس لتزويد المنظمة ببيانات لتحديد وتقييم الطفرات ذات الصلة المحتملة، فضلاً عن تقديم المشورة بشأن التخفيف من المخاطر *(16، 40، 127)*.

4-3-2 ذثت آتدطس مذ غندم ز كمنهمئ-زئذ ز-2 عوطئئاندطصد شئنح

كأقل تقدير، ينبغي كوضع أمثل أن يكشف الترصّد العالمي لجينومات فيروس كورونا-سارس-2 عن ظهور سلالات للفيروس بنُسخ جينية متحوّرة تؤثر على فعالية التدابير المضادة. ويتعيّن أن يترافق رصد التغيّرات الجينومية التي تطرأ على فيروس كورونا-سارس-2 والتي قد تقلّل من فعالية اللقاحات مع بدء حملات التطعيم ضد الفيروس. ويجب أن يشمل رصد وتحرّي الأسباب المحتملة لفشل اللقاحات إجراء تقييمات جينومية لتقييم طفرات الإفلات الفيروسي المحتملة. وبالإضافة إلى ذلك، يمكن أن يساعد التسلسل في تحديد طفرات إفلات الأجسام المضادة أحادية النسيلة *(128)* والعلاجات المستقبلية. وقد استُخدم الرصد الجينومي لتحديد مقاومة الأدوية لمسبِّبات أمراض أخرى، بما في ذلك الأنفلونزا وفيروس العوز المناعي البشري والمتفطّرة السُّليّة *Mycobacterium tuberculosis* *(9، 129)*.

كما يمكن استخدام التسلسل الجينومي لرصد التغيرات الجينية الفيروسية التي تؤثر على وسائل التشخيص الجزيئي. ويعدّ استخدام أهداف متعددة للكشف عن فيروس كورونا-سارس-2، مثل تفاعل البوليميراز التسلسلي المتعدد الذي يستهدف منطقتين أو أكثر من جينوم الفيروس، نهجاً فعالاً من حيث التكلفة لتقليل فرص وجود سلبيات كاذبة في المقايسات نتيجةً لتطور الفيروس *(47,127)*. ويمكن إجراء تسلسل لجينوم الفيروس أو الجين المستهدف عند وجود فشل ثابت في اكتشاف هدف واحد أو اختلافات لوحِظت حديثاً في حساسية المقايسات التي تستهدف مناطق مختلفة من أجل تحديد السبب المحتمل. ولمزيد من المعلومات، انظر الإرشادات المبدئية حول تشخيص حالات العدوى بفيروس كورونا-سارس-2 *(47)*. كما قد تؤثر الطفرات الفيروسية على المقايسة المستضدّيّة أو المصليّة، ويمكن أن يساعد التسلسل الجينومي في اكتشاف الفشل المحتمل لمثل هذه المقايسات في مرحلة مبكرة *(130-132)*.

4-3-3 طسمذ غندم ز كمنهمئ-زئذ ز-2 عصتطئئنع انكطفندمزئ تئأمحئكبِوك ثنئمكب

عندما ينتقل فيروس من نوع إلى آخر، قد يتكيف الفيروس مع عائله الجديد. ويتشابه مُستقبِل الإنزيم المحوِّل للأنجيوستين 2 (ACE-2) الذي يستهدفه فيروس كورونا-سارس-2 بين مختلف البشر وعلى نطاق مجموعة واسعة من الحيوانات (معظمها من الثدييات) *(133، 134)*. ولذا فإن هناك إمكانية لانتقال العدوى من الإنسان إلى الحيوان (مقصور على البشر). وفي حين يشير تجانس المُستقبِل ACE-2 إلى أن ثمة حيوانات أخرى قد تكون عرضة لفيروس كورونا-سارس-2، فإن البروتينات الأخرى الحاسمة للنسخ الفيروسي قد تختلف وتمنع الإصابة بالعدوى في هذه الحيوانات المرشحة. ولذلك، هناك حاجة إلى بيانات مناسبة عن العدوى في الإطار الحقيقي أو التجريبي لتحديد قابلية حيوانات محددة للتأثر. وقد تبيّن أنّ هناك حيوانات مختلفة عرضة للإصابة بفيروس كورونا-سارس-2 *(15،127، 135-151)*، ومن المعروف أن الفيروس قابل للانتقال لدى أنواع حيوانات معينة (مثل المنك والهامستر). كما تجلّت مقاومة بعض أنواع الحيوانات للعدوى بفيروس كورونا-سارس-2. وقد تظهر تغيّرات جينية في التسلسل الذي يرمز إلى البروتين الشوكي الفيروسي الذي يرتبط بالمستقبِلات -

ACE2، وتسهّل الانتقال إلى أنواع مضيفة جديدة. ويمثل البروتين الشوكي لفيروس كورونا-سارس-2، وخاصةً نطاق الربط بالمستقبِل RBD، هدفاً حيوياً للمناعة الطبيعية والمستحثّة باللقاحات *(28-32)*. وقد لوحظ بالفعل تنويع للمناطق الجينومية التي ترمز إلى البروتين الشوكي في حالات نقل فيها بشر مصابون بفيروس كورونا-سارس- 2 العدوى إلى حيوانات المنك، وحدثت عودة للانتقال الثانوي الحيواني المنشأ إلى البشر *(149)*. ولذلك، فإن تنويع الجين الشوكي بعد تبادل فيروس كورونا-سارس-2 من الإنسان إلى الحيوان يزيد على الأرجح من خطر نشوء سلالات يمكن أن تؤدي بسهولة إلى تجدّد إصابة البشر بالعدوى، وقد يرتبط بتراجع نجاعة اللقاح أو القابلية للعلاج بالأجسام المضادة الأحادية النسيلة *(33)*. ودرءاً لوقوع هذه الأحداث، تُشجَّع البلدان على إجراء تقييمات للمخاطر بشأن الانتشار المحتمل إلى أنواع أخرى تعيش مع البشر أو بالقرب منهم في بيئات حيوانية محلية أو ريفية أو زراعية أو غيرها *(127، 152-154)*. وينبغي وضع استراتيجيات للتخفيف من المخاطر، كما يلزم إجراء رصد كافٍ لضمان الكشف عن هذه الأحداث في الوقت المناسب. ويتطلب الرصد موارد، ويتعين اعتماد استراتيجيات محددة الهدف حيثما أمكن ذلك. ويستلزم ذلك استراتيجية لتوحيد الأداء في مجال الصحة حيث تعمل مختلف التخصصات معاً، بما في ذلك الخدمات الصحية العامة والسريرية والمهنية، والسلطات البيطرية والمعنية بالحياة البرية وإدارة الغابات والموارد الطبيعية *(127، 152، 155-157)*. وينبغي أن يركز هذا التعاون أيضاً على وضع بروتوكولات مشتركة لتقصّي الفاشيات والوقاية من العدوى ومكافحتها، وفحص البشر والحيوانات الذين يُحتمَل إصابتهم بالعدوى، وتبادل بيانات التسلسل. وحال ملاحَظة عدوى بشرية أو عدوى ثانوية حيوانية المنشأ، يمكن أن يساعد تسلسل الجينومات الفيروسية في تقييم المخاطر الجديدة المحتملة المرتبطة بهذه الأحداث.

أساليب البحث

تم وضع هذه الإرشادات المبدئية بالاقتران مع الدليل التنفيذي المعنون "*التسلسل الجينومي لفيروس كورونا-سارس-2: دليل تنفيذي لتعظيم المردود الصحي العام*". وقد أُعِدّ الدليل التنفيذي بالتشاور مع خبراء ذوي خبرة في مختلف مجالات التسلسل الجيني من التحالف العالمي للمختبرات المختصّة بمسببّات الأمراض التي تنطوي على تهديدات خطيرة، والشبكة المرجعية المعنية بالفحص التأكيدي لمرض كوفيد-19، والشبكة العالمية للإنذار بحدوث الفاشيات والاستجابة لها. وبعد مناقشات أوّليّة أجراها فريق معني بالكتابات الفنية بقيادة مستشار مؤقت وأعضاء من فريق مختبر منظمة الصحة العالمية المختص بكوفيد-19، تم طلب مساهمات من خبراء آخرين داخل المنظمة وخارجها، وعُقد اجتماعان على الإنترنت لحل المسائل المعلّقة. وفي وقت لاحق، وُضِعت صيغة لهذه الإرشادات المبدئية تستهدف الجهات الوطنية صاحبة المصلحة، وتتضمّن ملخصاً للمعلومات ذات الصلة المستقاة من هذه الإرشادات المبدئية ومعلومات إضافية مُجدية لهذا القطاع المستهدف. وعُمِّمت هذه الإرشادات المبدئية فيما بعد على الخبراء لإدخال مساهماتهم، دعماً لصياغة الدليل التنفيذي، من الشبكة المرجعية المعنية بالفحص التأكيدي لمرض كوفيد-19، ومراكز التنسيق الخاصة بالمختبرات الإقليمية والجهات الأخرى صاحبة المصلحة، على النحو الوارد في كلمات الشكر والتقدير.

خطط التحديث

تواصل منظمة الصحة العالمية مراقبة الوضع عن كثب لمتابعة أي تغيّرات يمكن أن تؤثّر على هذه الإرشادات المبدئية. وفي حال طرأ تغيير على أيٍّ من العوامل ذات الصلة، سوف تصدر المنظمة إرشادات إضافية مُحَدَّثة. وبخلاف ذلك، تبقى وثيقة الإرشادات المبدئيّة هذه صالحة لمدّة عام من تاريخ إصدارها.

المساهمون في هذا العمل

الفريق التوجيهي التابع لمنظمة الصحة العالمية: سيلين بارماداس؛ سيباستيان كونياه؛ روجر إيفانز؛ بروس آلان غوردون؛ فارجا غرابوفاك؛ ريبيكا غرانت؛ فرانسيس إنباناثان؛ فرانك كونينغز؛ كارين ناهابتيان؛ ماركو ماركليفيتز؛ ماري–جو ميدينا؛ كيت أوليف ميدليكوت؛ ميك مولدرز؛ مارك دي بركينز؛ مجدي سمعان؛ أوليفر شمول؛ ماريا فان كيركهوف؛ كارين فو أيجي؛ جوانا زفيتيينغا.

المساهمون الخارجيون: كيم بنشوب، المعهد الوطني الهولندي للصحة العامة والبيئة (RIVM)، بيلتهوفن، هولندا؛ أنطونينو دي كارو، معهد لازارو سبالانزاني للأمراض المعدية، إيطاليا؛ نونو رودريغيز فاريا، الكلية الملكية، لندن وجامعة أوكسفورد، أكسفورد، المملكة المتحدة؛ تانيا غولوبتشيك، جامعة أكسفورد، أكسفورد، المملكة المتحدة؛ كيث هاميلتون، المنظمة العالمية لصحة الحيوان (OIE)؛ إدوارد هولمز، جامعة سيدني، سيدني، أستراليا؛ سارة سي هيل، الكلية البيطرية الملكية، لندن وجامعة أكسفورد، أكسفورد، المملكة المتحدة؛ إريك كارلسون، معهد باستير كمبوديا، كمبوديا؛ منغ لينغ موي، جامعة ناغازاكي، ناغازاكي، اليابان؛ ليو بون، جامعة هونغ كونغ، إقليم هونغ كونغ الإداري الخاص (SAR)، الصين؛ جيمس شيبرد، جامعة غلاسغو، غلاسغو، المملكة المتحدة؛ إيتيين سيمون–لوريير، معهد باستير، باريس، فرنسا. والخبراء الآخرون الذين ساهموا في الدليل التنفيذي لتسلسل فيروس كورونا–سارس–2 الذي استُخدِم كأساس لإعداد هذه الوثيقة: كريستيان أندرسن، مؤسسة سكريبس للبحوث، لا جولا، كاليفورنيا، الولايات المتحدة الأمريكية؛ جوليو كرودا، وزارة الصحة، ريو دي جانيرو، البرازيل؛ توليو دي أوليفيرا، جامعة كوازولو–ناتال، دوربان، جنوب أفريقيا؛ سايمون ديليكور، جامعة بروكسل الحرة، بروكسل، بلجيكا؛ ناثان غروباو، جامعة ييل، نيو هيفن، كونكتيكت، الولايات المتحدة الأمريكية؛ ليانا كيفيتزوبولو، كو لويفن – جامعة لويفن، بلجيكا؛ ماريون كوبامانز، إيراسموس إم سي، روتردام، هولندا؛ تومي لام، جامعة هونغ كونغ، إقليم هونغ كونغ الإداري الخاص (SAR)، الصين؛ فيليب ليمي، كو لويفن – جامعة لويفن، بلجيكا؛ تسي مين ماك، المركز الوطني للأمراض المعدية، سنغافورة؛ مارسيو روبرتو نونس، معهد إيفاندرو تشاغاس، آنانينديوا، بارا، البرازيل؛ باس أود مونينك، إيراسموس إم سي، روتردام، هولندا؛ غوستافو بالاسيوس، الوكالة الأمريكية للتنمية الدولية، واشنطن العاصمة، الولايات المتحدة الأمريكية؛ ستيفن بولان، هيئة الصحة العامة الإنكليزية، لندن، المملكة المتحدة؛ تيموثي فاوغان، مدرسة زيوريخ التقنية العليا (ETH Zurich)، زيوريخ، سويسرا؛ جوش كويك، جامعة برمنغهام، برمنغهام، المملكة المتحدة؛ أندرو رامباوت، جامعة إدنبره، إدنبره، المملكة المتحدة؛ شانتال رويسكن، RIVM، بيلتهوفن، هولندا؛ تانيا شتادلر، مدرسة زيورخ التقنية العليا (ETH Zurich)، سويسرا؛ مارك سانتشارد، جامعة كاليفورنيا في لوس أنجيليس، لوس أنجيليس، كاليفورنيا، الولايات المتحدة الأمريكية؛ هوايو تيان، جامعة بيجين النظامية، بيجين، الصين؛ ليا فان دير هويك، مركز أمستردام الطبي، أمستردام، هولندا؛ إيريك فولتز، الكلية الملكية، لندن، المملكة المتحدة.

إعلانات المصالح

قدّم جميع المساهمين وثائق إعلان المصالح لاستعراضها. وتم استبعاد المساهمين الذين أقرّوا بأن لديهم تضارباً محتملاً في المصالح أو تحيّزاً لمنتجات محدّدة من تقديم المشورة بشأن اختيار المنصّات.

الجهة المموّلة

بتمويل من منظمة الصحة العالمية.

المراجع

1. Fraser C, Donnelly CA, Cauchemez S, Hanage WP, Van Kerkhove MD, Hollingsworth TD, et al. Pandemic potential of a strain of influenza A (H1N1): early findings. Science. 2009;324:1557–61. doi: 10.1126/science.1176062.
2. Rambaut A, Holmes E. The early molecular epidemiology of the swine-origin A/H1N1 human influenza pandemic. PLoS Curr. 2009;1:RRN1003. doi: 10.1371/currents.rrn1003.
3. Smith GJD, Vijaykrishna D, Bahl J, Lycett SJ, Worobey M, Pybus OG, et al. Origins and evolutionary genomics of the 2009 swine-origin H1N1 influenza A epidemic. Nature. 2009;459:1122–5. doi: 10.1038/nature08182.
4. Mena I, Nelson MI, Quezada-Monroy F, Dutta J, Cortes-Fernández R, Lara-Puente JH, et al. Origins of the 2009 H1N1 influenza pandemic in swine in Mexico. eLife. 2016;5:e16777. doi: 10.7554/eLife.16777.
5. Ladner JT, Wiley MR, Mate S, Dudas G, Prieto K, Lovett S, et al. Evolution and spread of Ebola virus in Liberia, 2014–2015. Cell Host Microbe. 2015;18:659–69. doi: 10.1016/j.chom.2015.11.008.
6. Stadler T, Kühnert D, Rasmussen DA, Plessis dL. Insights into the early epidemic spread of Ebola in Sierra Leone provided by viral sequence data. PLoS Curr. 2014;6. doi: 10.1371/currents.outbreaks.02bc6d927ecee7bbd33532ec8ba6a25f.
7. Smits SL, Pas SD, Reusken CB, Haagmans BL, Pertile P, Cancedda C, et al. Genotypic anomaly in Ebola virus strains circulating in Magazine Wharf area, Freetown, Sierra Leone, 2015. Euro Surveill. 2015;20. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2015.20.40.30035.

8- التسلسل الجينومي الكامل لترصّد مقاومة الميكروبات للأدوية، GLASS. جنيف: منظمة الصحة العالمية؛ 2020 (https://apps.who.int/iris/handle/10665/334354?locale-attribute=ar&، تم الاطّلاع في 20 تشرين الثاني/نوفمبر 2020).

9- استخدام تكنولوجيات تسلسل الجيل التالي لكشف الطفرات المرتبطة بمقاومة الأدوية في مُركّب المُتفطِّرة السُليّة *Mycobacterium tuberculosis*: إرشادات تقنية. جنيف: منظمة الصحة العالمية؛ 2018 (https://apps.who.int/iris/handle/10665/274443?locale-attribute=ar&، تم الاطّلاع في 15 تشرين الثاني/نوفمبر 2020).

10- التسلسل الجينومي الكامل لترصّد الأمراض المنقولة بالغذاء. جنيف: منظمة الصحة العالمية؛ 2018 (https://apps.who.int/iris/handle/10665/272430?locale-attribute=ar&، تم الاطّلاع في 25 تشرين الثاني/نوفمبر 2020).

11- تسلسل الجيل التالي لفيروسات الأنفلونزا: معلومات عامة لمراكز الأنفلونزا الوطنية (بالإنكليزية). جنيف: منظمة الصحة العالمية؛ 2020 (https://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/national_influenza_centres/NGS_guidance_for_NICs.pdf?ua=1، تم الاطّلاع في 20 تشرين الثاني/نوفمبر 2020).

12. GISAID (https://www.gisaid.org/, accessed 5 January 2021).
13. Genomic epidemiology of novel coronavirus: global subsampling [website]. Nextstrain; 2020 (https://nextstrain.org/ncov/global, accessed 4 December 2020).
14. Volz E, Baguelin M, Bhatia S, Boonyasiri A, Cori A, Cucunuba Z, et al. Report 5 - phylogenetic analysis of SARS-CoV-2. London: Imperial College London; 2020 (http://www.imperial.ac.uk/medicine/departments/school-public-health/infectious-disease-epidemiology/mrc-global-infectious-disease-analysis/covid-19/report-5-phylogenetics-of-sars-cov-2/, accessed 26 June 2020).
15. Oude Munnink BB, Sikkema RS, Nieuwenhuijse DF, Molenaar RJ, Munger E, Molenkamp R, et al. Transmission of SARS-CoV-2 on mink farms between humans and mink and back to humans. Science. 2020. doi: 10.1126/science.abe5901.

16- تقرير عن وضع مرض فيروس كورونا (كوفيد-19) – (بالإنكليزية) 185. جنيف: منظمة الصحة العالمية؛ 2020 (https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200723-covid-19-sitrep-185.pdf?sfvrsn=9395b7bf_2، تم الاطّلاع في 15 تشرين الثاني/نوفمبر 2020).

17- التسلسل الجينومي لفيروس كورونا-سارس-2: دليل تنفيذي لتعظيم المردود الصحي العام (بالإنكليزية). جنيف: منظمة الصحة العالمية؛ 2020. (https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/338480/9789240018440-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y، تم الاطّلاع في 8 كانون الثاني/يناير 2021).

18. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV); 2020 (https://talk.ictvonline.org/, accessed 27 July 2020).
19. Gorbalenya ABS, Baric R, de Groot R, Drosten C, Gulyaeva A, Haagmans B, et al. The species *Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus*: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. Nat Microbiol. 2020;5:536–44. doi: 10.1038/s41564-020-0695-z.
20. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. N Engl J Med. 2020;382:727–33. doi: 10.1056/NEJMoa2001017.
21. Naqvi AAT, Fatima K, Mohammad T, Fatima U, Singh IK, Singh A, et al. Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: structural genomics approach. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis. 2020;1866:165878. doi: 10.1016/j.bbadis.2020.165878.
22. Yoshimoto FK. The proteins of severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2 or n-CoV19), the cause of COVID-19. Protein J. 2020;39:198–216. doi: 10.1007/s10930-020-09901-4.
23. Kim D, Lee JY, Yang JS, Kim JW, Kim VN, Chang H. The architecture of SARS-CoV-2 transcriptome. Cell. 2020;181:914–21 e10. doi: 10.1016/j.cell.2020.04.011.
24. Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. Lancet. 2020;395:565–74. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30251-8.
25. Yan R, Zhang Y, Li Y, Xia L, Guo Y, Zhou Q. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. Science. 2020;367:1444–8. doi: 10.1126/science.abb2762.

26. Ni W, Yang X, Yang D, Bao J, Li R, Xiao Y, et al. Role of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) in COVID-19. Crit Care. 2020;24:422. doi: 10.1186/s13054-020-03120-0.
27. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Kruger N, Herrler T, Erichsen S, et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. Cell. 2020;181:271–80 e8. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.052.
28. Amanat F, Krammer F. SARS-CoV-2 vaccines: status report. Immunity. 2020;52:583–9. doi: 10.1016/j.immuni.2020.03.007.
29. Brouwer PJM, Caniels TG, van der Straten K, Snitselaar JL, Aldon Y, Bangaru S, et al. Potent neutralizing antibodies from COVID-19 patients define multiple targets of vulnerability. Science. 2020;369:643–50. doi: 10.1126/science.abc5902.
30. Tai W, He L, Zhang X, Pu J, Voronin D, Jiang S, et al. Characterization of the receptor-binding domain (RBD) of 2019 novel coronavirus: implication for development of RBD protein as a viral attachment inhibitor and vaccine. Cell Mol Immunol. 2020;17:613–20. doi: 10.1038/s41423-020-0400-4.
31. Shi R, Shan C, Duan X, Chen Z, Liu P, Song J, et al. A human neutralizing antibody targets the receptor-binding site of SARS-CoV-2. Nature. 2020;584:120–4. doi: 10.1038/s41586-020-2381-y.
32. Rogers TF, Zhao F, Huang D, Beutler N, Burns A, He WT, et al. Isolation of potent SARS-CoV-2 neutralizing antibodies and protection from disease in a small animal model. Science. 2020;369:956–63. doi: 10.1126/science.abc7520.
33. Li Q, Wu J, Nie J, Zhang L, Hao H, Liu S, et al. The impact of mutations in SARS-CoV-2 spike on viral infectivity and antigenicity. Cell. 2020;182:1284–94 e9. doi: 10.1016/j.cell.2020.07.012.
34. Candido DS, Claro IM, de Jesus JG, Souza WM, Moreira FRR, Dellicour S, et al. Evolution and epidemic spread of SARS-CoV-2 in Brazil. Science. 2020;369:1255–60. doi: 10.1126/science.abd2161.
35. van Dorp L, Acman M, Richard D, Shaw LP, Ford CE, Ormond L, et al. Emergence of genomic diversity and recurrent mutations in SARS-CoV-2. Infect Genet Evol. 2020;83:104351. doi: 10.1016/j.meegid.2020.104351.
36. Xu W, Zhang Y, Wang H, Zhu Z, Mao N, Mulders MN, et al. Global and national laboratory networks support high quality surveillance for measles and rubella. Int Health. 2017;9:184–9. doi: 10.1093/inthealth/ihx017.
37. Mulders MN, Serhan F, Goodson JL, Icenogle J, Johnson BW, Rota PA. Expansion of surveillance for vaccine-preventable diseases: building on the global polio laboratory network and the global measles and rubella laboratory network platforms. J Infect Dis. 2017;216:S324–S30. doi: 10.1093/infdis/jix077.
38. Diop OM, Kew OM, de Gourville EM, Pallansch MA. The global polio laboratory network as a platform for the viral vaccine-preventable and emerging diseases laboratory networks. J Infect Dis. 2017;216:S299–S307. doi: 10.1093/infdis/jix092.
39. Hay AJ, McCauley JW. The WHO Global Influenza Surveillance and Response System (GISRS): a future perspective. Influenza Other Respir Viruses. 2018;12:551–7. doi: 10.1111/irv.12565.
40- اختصاصات مختبرات منظمة الصحة العالمية المرجعية المختصة بالفحص التأكيدي لمرض كوفيد-19. جنيف: منظمة الصحة العالمية؛ 2020 (https://www.who.int/ar/publications/m/item، تم الاطّلاع في 26 حزيران/يونيو 2020).
41. RubeNS database for rubella sequences (http://www.who-rubella.org/, accessed 26 June 2020).
42. MeaNS: Measles nucleotide surveillance (http://www.who-measles.org, accessed 26 June 2020).
43. Roy S, LaFramboise WA, Nikiforov YE, Nikiforova MN, Routbort MJ, Pfeifer J, et al. Next-generation sequencing informatics: challenges and strategies for implementation in a clinical environment. Arch Pathol Lab Med. 2016;140:958–75. doi: 10.5858/arpa.2015-0507-RA.
44. Mutenherwa F, Wassenaar DR, de Oliveira T. Experts' perspectives on key ethical issues associated with HIV phylogenetics as applied in HIV transmission dynamics research. J Empir Res Hum Res Ethics. 2019;14:61–77. doi: 10.1177/1556264618809608.
45. Emanuel EJ, Wendler D, Grady C. What makes clinical research ethical? JAMA. 2000;283:2701–11. doi: 10.1001/jama.283.20.2701.
46- المبادئ التوجيهية لمنظمة الصحة العالمية بشأن القضايا الأخلاقية في مجال الترصّد الصحي العام (بالإنكليزية). جنيف: منظمة الصحة العالمية؛ 2017 (https://www.who.int/ethics/publications/public-health-surveillance/en/، تم الاطّلاع في 15 تشرين الثاني/نوفمبر 2020).
47- الاختبارات التشخيصية لفيروس كورونا-سارس-2: إرشادات مبدئيّة. 11 أيلول/سبتمبر 2020. جنيف: منظمة الصحة العالمية؛ 2020 (https://www.who.int/ar/publications/i/item، تم الاطّلاع في 6 كانون الأول/ديسمبر 2020).
48. MacCannell D. SARS-CoV-2 sequencing (https://github.com/CDCgov/SARS-CoV-2_Sequencing, accessed 1 November 2020).
49. Cesare MD. Probe-based target enrichment of SARS-CoV-2 [Protocol]. Univeristy of Oxford; 2020. doi: 10.17504/protocols.io.bd5di826.
50. Vogels CBF, Brito AF, Wyllie AL, Fauver JR, Ott IM, Kalinich CC, et al. Analytical sensitivity and efficiency comparisons of SARS-CoV-2 RT–qPCR primer–probe sets. Nat Microbiol. 2020:5:1299–1305. doi: 10.1038/s41564-020-0761-6.
51. Quick J, Grubaugh ND, Pullan ST, Claro IM, Smith AD, Gangavarapu K, et al. Multiplex PCR method for minION and Illumina sequencing of Zika and other virus genomes directly from clinical samples. Nat Protoc. 2017;12:1261–76. doi: 10.1038/nprot.2017.066.
52. Grubaugh ND, Gangavarapu K, Quick J, Matteson NL, De Jesus JG, Main BJ, et al. An amplicon-based sequencing framework for accurately measuring intrahost virus diversity using PrimalSeq and iVar. Genome Biol. 2019;20:8. doi: 10.1186/s13059-018-1618-7.
53. Matteson N, Grubaugh N, Gangavarapu K, Quick J, Loman N, Andersen K. PrimalSeq: Generation of tiled virus amplicons for MiSeq sequencing [Protocol]. 2020. doi: 10.17504/protocols.io.bez7jf9n.
54. Quince C, Walker AW, Simpson JT, Loman NJ, Segata N. Shotgun metagenomics, from sampling to analysis. Nat Biotechnol. 2017;35:833–44. doi: 10.1038/nbt.3935.
55. Bragg L, Tyson GW. Metagenomics using next-generation sequencing. Methods Mol Biol. 2014;1096:183–201. doi: 10.1007/978-1-62703-712-9_15.
56. Xiao M, Liu X, Ji J, Li M, Li J, Yang L, et al. Multiple approaches for massively parallel sequencing of SARS-CoV-2 genomes directly from clinical samples. Genome Med. 2020;12:57. doi: 10.1186/s13073-020-00751-4.

57. Rambaut A, Holmes EC, O'Toole Á, Hill V, McCrone JT, Ruis C, et al. A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology. Nat Microbiol. 2020;5:1403–7. doi: 10.1038/s41564-020-0770-5.
58. Singer J, Gifford R, Cotten M, Robertson D. CoV-GLUE: A web application for tracking SARS-CoV-2 genomic variation. Preprints. 2020:2020060225. doi: 10.20944/preprints202006.0225.v1.
59. CoVsurver: mutation analysis of hCoV-19. GISAID (https://www.gisaid.org/epiflu-applications/covsurver-mutations-app/, accessed 11 December 2020).
60. Pangolin COVID-19 lineage assigner (https://pangolin.cog-uk.io/, accessed 11 December 2020).
61. Fauquet CM, Fargette D. International Committee on Taxonomy of Viruses and the 3,142 unassigned species. Virol J. 2005;2:64. doi: 10.1186/1743-422X-2-64.
62. Alm E, Broberg EK, Connor T, Hodcroft EB, Komissarov AB, Maurer-Stroh S, et al. Geographical and temporal distribution of SARS-CoV-2 clades in the WHO European Region, January to June 2020. Euro Surveill. 2020;25. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.32.2001410.

63- بيان للسياسات العامة المتعلقة بتبادل منظمة الصحة العالمية للبيانات في سياق الطوارئ الصحية العامة (لغاية 13 نيسان/أبريل 2016). جنيف: منظمة الصحة العالمية؛ 2016 (https://apps.who.int/iris/handle/10665/254440?locale-attribute=ar&، تم الاطّلاع في 25 تشرين الثاني/نوفمبر 2020).

64- الإطار الخاص بالتأهب للأنفلونزا الجائحة لتبادل فيروسات الأنفلونزا والتوصل إلى اللقاحات والفوائد الأخرى (بالإنكليزية). جنيف: منظمة الصحة العالمية؛ 2011 (https://apps.who.int/gb/pip/pdf_files/pandemic-influenza-preparedness-en.pd، تم الاطّلاع في 20 تشرين الثاني/نوفمبر 2020).

65- المجلس التنفيذي، الدورة الأربعون بعد المائة، البند 5-7 من جدول الأعمال المؤقت، "استعراض الإطار الخاص بالتأهب لمواجهة الأنفلونزا الجائحة، تقرير من المديرة العامة". جنيف: منظمة الصحة العالمية؛ 2016 (https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/EB140/B140_16-ar.pdf، تم الاطّلاع في 15 تشرين الثاني/نوفمبر 2020).

66- توصيات بشأن استراتيجيّة الفحوص المختبريّة لمرض كوفيد-19. جنيف: منظمة الصحة العالمية؛ 2020 (https://apps.who.int/iris/handle/10665/331509?locale-attribute=ar&، تم الاطّلاع في 6 كانون الأول/ديسمبر 2020).

67- إرشادات للمختبرات القائمة بشحن العينات إلى مختبرات منظمة الصحة العالمية المختصة بالفحص التأكيدي لفيروس كوفيد-19. جنيف: منظمة الصحة العالمية؛ 2020 (https://apps.who.int/iris/handle/10665/331639?locale-attribute=ar&، تم الاطّلاع في 4 كانون الأول/ديسمبر 2020).

68- المقايسات الجزئية لتشخيص مرض كوفيد-19: جدول موجز للبروتوكولات المتوفّرة. جنيف: منظمة الصحة العالمية؛ 2020 (https://www.who.int/ar/publications/m/item، تم الاطّلاع في 4 كانون الأول/ديسمبر 2020).

69- صحيفة وقائع: بيانات المتواليات الجينية وقواعد البيانات الخاصة بها (بالإنكليزية). جنيف: منظمة الصحة العالمية؛ 2018 (https://www.who.int/influenza/pip/GSD_EN_V2_10Sep2018.pdf?ua=1، تم الاطّلاع في 11 كانون الأول/ديسمبر 2020).

70. medRxiv: The Preprint Server for Health Sciences (https://www.medrxiv.org/, accessed 1 November 2020).
71. bioRxiv: The Preprint Server for Biology (https://www.biorxiv.org/, accessed 1 November 2020).
72. Virological (https://virological.org/, accessed 1 November 2020).
73. Wu F, Zhao S, Yu B, Chen Y-M, Wang W, Song Z-G, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. Nature. 2020;579:265–9. doi: 10.1038/s41586-020-2008-3.
74. Lu J, du Plessis L, Liu Z, Hill V, Kang M, Lin H, et al. Genomic epidemiology of SARS-CoV-2 in Guangdong Province, China. Cell. 2020;181:997–1003.e9. doi: 10.1016/j.cell.2020.04.023.
75. Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. Nature. 2020;579:270–3. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7.
76. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Euro Surveill. 2020;25. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045.
77. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases by RT-PCR. Hong Kong University Medical School; 2020 (https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/peiris-protocol-16-1-20.pdf?sfvrsn=af1aac73_4, accessed 1 December 2020).
78. Melén K, Kakkola L, He F, Airenne K, Vapalahti O, Karlberg H, et al. Production, purification and immunogenicity of recombinant Ebola virus proteins: a comparison of Freund's adjuvant and adjuvant system 03. J Virol Methods. 2017;242:35–45. doi: 10.1016/j.jviromet.2016.12.014.

79- صيغة شمولية للقاحات كوفيد-19 المرشّحة. جنيف: منظمة الصحة العالمية (https://www.who.int/ar/publications/m/item، تم الاطّلاع في 26 حزيران/يونيو 2020).

80. Ren Y, Zhou Z, Liu J, Lin L, Li S, Wang H, et al. A strategy for searching antigenic regions in the SARS-CoV spike protein. Genomics Proteomics Bioinformatics. 2003;1:207–15. doi: 10.1016/s1672-0229(03)01026-x.
81. Li Q, Guan X, Wu P, Wang X, Zhou L, Tong Y, et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia. N Engl J Med. 2020;382:1199–207. doi: 10.1056/NEJMoa2001316.
82. Andersen K. Clock and TMRCA based on 27 genomes. Scripps Research; 2020 (https://virological.org/t/clock-and-tmrca-based-on-27-genomes/347, accessed 26 June 2020).

83- تقرير البعثة المشتركة بين منظمة الصحة العالمية والصين بشأن مرض فيروس كورونا 2019 (كوفيد-19). جنيف: منظمة الصحة العالمية؛ 2020 (https://www.who.int/ar/publications/i/item، تم الاطّلاع في 15 تموز/يوليو 2020).

84. Cui J, Li F, Shi Z-L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. Nat Rev Microbiol. 2019;17:181–92. doi: 10.1038/s41579-018-0118-9.

85. Grenfell BT, Pybus OG, Gog JR, Wood JLN, Daly JM, Mumford JA, et al. Unifying the epidemiological and evolutionary dynamics of pathogens. Science. 2004;303:327–32. doi: 10.1126/science.1090727.
86. Volz EM, Koelle K, Bedford T. Viral phylodynamics. PLoS Comput Biol. 2013;9. doi: 10.1371/journal.pcbi.1002947.
87. Pybus OG, Rambaut A. Evolutionary analysis of the dynamics of viral infectious disease. Nat Rev Genet. 2009;10:540–50. doi: 10.1038/nrg2583.
88. Lai A, Bergna A, Caucci S, Clementi N, Vicenti I, Dragoni F, et al. Molecular tracing of SARS-CoV-2 in Italy in the first three months of the epidemic. Viruses. 2020;12. doi: 10.3390/v12080798.
89. Fauver JR, Petrone ME, Hodcroft EB, Shioda K, Ehrlich HY, Watts AG, et al. Coast-to-coast spread of SARS-CoV-2 during the early epidemic in the United States. Cell. 2020;181:990–6.e5. doi: 10.1016/j.cell.2020.04.021.
90. Candido DdS, Claro IM, Jesus dJG, Souza dWM, Moreira FRR, Dellicour S, et al. Evolution and epidemic spread of SARS-CoV-2 in Brazil. Science. 2020;369:1255–60. doi: 10.1101/2020.06.11.20128249.
91. Lemey P, Hong S, Hill V, Baele G, Poletto C, Colizza V, et al. Accommodating individual travel history, global mobility, and unsampled diversity in phylogeography: a SARS-CoV-2 case study. bioRxiv. 2020. doi: 10.1101/2020.06.22.165464.
92. Lemey P, Rambaut A, Bedford T, Faria N, Bielejec F, Baele G, et al. Unifying viral genetics and human transportation data to predict the global transmission dynamics of human influenza H3N2. PLoS Pathog. 2014;10:e1003932. doi: 10.1371/journal.ppat.1003932.
93. Dudas G, Carvalho LM, Bedford T, Tatem AJ, Baele G, Faria NR, et al. Virus genomes reveal factors that spread and sustained the Ebola epidemic. Nature. 2017;544:309–15. doi: 10.1038/nature22040.
94. Dellicour S, Baele G, Dudas G, Faria NR, Pybus OG, Suchard MA, et al. Phylodynamic assessment of intervention strategies for the West African Ebola virus outbreak. Nat Commun. 2018;9:1–9. doi: 10.1038/s41467-018-03763-2.
95. Lemey P, Rambaut A, Drummond AJ, Suchard MA. Bayesian phylogeography finds its roots. PLoS Comput Biol. 2009;5:e1000520. doi: 10.1371/journal.pcbi.1000520.
96. Lemey P, Rambaut A, Welch JJ, Suchard MA. Phylogeography takes a relaxed random walk in continuous space and time. Mol Biol Evol. 2010;27:1877–85. doi: 10.1093/molbev/msq067.
97. Bloomquist EW, Lemey P, Suchard MA. Three roads diverged? Routes to phylogeographic inference. Trends Ecol Evol. 2010;25:626–32. doi: 10.1016/j.tree.2010.08.010.
98. Faria NR, Suchard MA, Rambaut A, Lemey P. Towards a quantitative understanding of viral phylogeography. Curr Opin Virol. 2011;1:423–9. doi: 10.1016/j.coviro.2011.10.003.
99. Lemey P, Hong S, Hill V, Baele G, Poletto C, Colizza V, et al. Accommodating individual travel history, global mobility, and unsampled diversity in phylogeography: A SARS-CoV-2 case study. bioRxiv. 2020:165464. doi: 10.1101/2020.06.22.165464.
100. Reusken CB, Buiting A, Bleeker-Rovers C, Diederen B, Hooiveld M, Friesema I, et al. Rapid assessment of regional SARS-CoV-2 community transmission through a convenience sample of healthcare workers, the Netherlands, March 2020. Euro Surveill. 2020;25. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.12.2000334.
101. Worby CJ, Lipsitch M, Hanage WP. Shared genomic variants: identification of transmission routes using pathogen deep-sequence data. Am J Epidemiol. 2017;186:1209–16. doi: 10.1093/aje/kwx182.
102. Duchene S, Featherstone L, Haritopoulou-Sinanidou M, Rambaut A, Lemey P, Baele G. Temporal signal and the phylodynamic threshold of SARS-CoV-2. bioRxiv. 2020:077735. doi: 10.1101/2020.05.04.077735.
103. Volz E, Fu H, Wang H, Xi X, Chen W, Liu D, et al. Genomic epidemiology of a densely sampled COVID19 outbreak in China. medRxiv. 2020:20033365. doi: 10.1101/2020.03.09.20033365.
104. Bedford T, Greninger AL, Roychoudhury P, Starita LM, Famulare M, Huang M-L, et al. Cryptic transmission of SARS-CoV-2 in Washington State. Science. 2020;370:571–5. doi: 10.1101/2020.04.02.20051417.
105. Zehender G, Lai A, Bergna A, Meroni L, Riva A, Balotta C, et al. Genomic characterization and phylogenetic analysis of SARS-CoV-2 in Italy. J Med Virol. 2020;92:1637–40. doi: 10.1002/jmv.25794.
106. Worobey MA-O, Pekar JA-O, Larsen BA-O, Nelson MA-O, Hill V, Joy JB, et al. The emergence of SARS-CoV-2 in Europe and North America. Science. 2020;370:564–70. doi: 10.1126/science.abc8169.
107. Asghar H, Diop OM, Weldegebriel G, Malik F, Shetty S, El Bassioni L, et al. Environmental surveillance for polioviruses in the Global Polio Eradication Initiative. J Infect Dis. 2014;210 Suppl 1:S294–303. doi: 10.1093/infdis/jiu384.
108. Paul JR, Trask JD, Gard S. Ii. Poliomyelitic virus in urban sewage. J Exp Med. 1940;71:765–77. doi: 10.1084/jem.71.6.765.
109. Nemudryi A, Nemudraia A, Wiegand T, Surya K, Buyukyoruk M, Cicha C, et al. Temporal detection and phylogenetic assessment of SARS-CoV-2 in municipal wastewater. Cell Rep Med. 2020;1:100098. doi: 10.1016/j.xcrm.2020.100098.
110. Wu F, Zhang J, Xiao A, Gu X, Lee WL, Armas F, et al. SARS-CoV-2 titers in wastewater are higher than expected from clinically confirmed cases. mSystems. 2020;5. doi: 10.1128/mSystems.00614-20.
111. Ahmed W, Angel N, Edson J, Bibby K, Bivins A, O'Brien JW, et al. First confirmed detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewater in Australia: a proof of concept for the wastewater surveillance of COVID-19 in the community. Sci Total Environ. 2020;728:138764. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.138764.
112. Wurtzer SMV, Mouchel JM, Maday Y, Teyssou R, Richard E, Almayrac JL, Moulin L. Evaluation of lockdown impact on SARS-CoV-2 dynamics through viral genome quantification in Paris wastewaters. medRxiv. 2020. doi: 10.1101/2020.04.12.20062679.
113. La Rosa G, Iaconelli M, Mancini P, Bonanno Ferraro G, Veneri C, Bonadonna L, et al. First detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewaters in Italy. Sci Total Environ. 2020;736:139652. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.139652.
114. Gertjan Medema LH, Goffe Elsinga, Ronald Italiaander, Anke Brouwer. Presence of SARS-coronavirus-2 RNA in sewage and correlation with reported COVID-19 prevalence in the early stage of the epidemic in the Netherlands. Environ Sci Technol Lett. 2020. doi: 10.1021/acs.estlett.0c00357.
115. Lodder W, de Roda Husman AM. SARS-CoV-2 in wastewater: potential health risk, but also data source. Lancet Gastroenterol Hepatol. 2020;5:533–4. doi: 10.1016/S2468-1253(20)30087-X.

116– موجز علمي: حالة الترصّد البيئي لفيروس كورونا–سارس–2. جنيف: منظمة الصحة العالمية؛ 2020 (https://www.who.int/ar/publications/i/item، تم الاطّلاع في 12 كانون الأول/ديسمبر 2020).
117– مشاورة خبراء سريعة بشأن الترصّد البيئي لفيروس كورونا–سارس–2 في مياه الصرف الصحي: تقرير موجز (بالإنكليزية). جنيف: منظمة الصحة العالمية؛ 2020 (https://www.euro.who.int/en/health-topics/environment-and-health/water-and-sanitation/publications/2020/rapid-expert-consultation-on-environmental-surveillance-of-sars-cov-2-in-wastewater-summary-report-2020 ، تم الاطّلاع في 12 كانون الأول/ديسمبر 2020).
118. Edridge AWD, Kaczorowska JM, Hoste ACR, Bakker M, Klein M, Jebbink MF, et al. Coronavirus protective immunity is short lasting. medRxiv. 2020. doi: 10.1101/2020.05.11.20086439.
119. To KK, Hung IF, Ip JD, Chu AW, Chan WM, Tam AR, et al. COVID-19 re-infection by a phylogenetically distinct SARS-coronavirus-2 strain confirmed by whole genome sequencing. Clin Infect Dis. 2020. doi: 10.1093/cid/ciaa1275.
120. Goldman JD, Wang K, Roltgen K, Nielsen SCA, Roach JC, Naccache SN, et al. Reinfection with SARS-CoV-2 and failure of humoral immunity: a case report. medRxiv. 2020. doi: 10.1101/2020.09.22.20192443.
121. Gupta V, Bhoyar RC, Jain A, Srivastava S, Upadhayay R, Imran M, et al. Asymptomatic reinfection in two healthcare workers from India with genetically distinct SARS-CoV-2. Clin Infect Dis. 2020. doi: 10.1093/cid/ciaa1451.
122. Mulder M, van der Vegt D, Oude Munnink BB, GeurtsvanKessel CH, van de Bovenkamp J, Sikkema RS, et al. Reinfection of SARS-CoV-2 in an immunocompromised patient: a case report. Clin Infect Dis. 2020. doi: 10.1093/cid/ciaa1538.
123. Tillett RL, Sevinsky JR, Hartley PD, Kerwin H, Crawford N, Gorzalski A, et al. Genomic evidence for reinfection with SARS-CoV-2: a case study. Lancet Infect Dis. 2020. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30764-7.
124. Van Elslande J, Vermeersch P, Vandervoort K, Wawina-Bokalanga T, Vanmechelen B, Wollants E, et al. Symptomatic SARS-CoV-2 reinfection by a phylogenetically distinct strain. Clin Infect Dis. 2020. doi: 10.1093/cid/ciaa1330.
125. Common investigation protocol for investigating suspected SARS-CoV-2 reinfection. Atlanta: United States Centers for Disease Control and Prevention; 2020 (https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/php/reinfection.html, accessed 1 November 2020).
126. Reinfection with SARS-CoV-2: considerations for public health response. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control; 2020 (https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/Re-infection-and-viral-shedding-threat-assessment-brief.pdf, accessed 1 November 2020).
127– التأهّب والاستجابة لحالات الطوارئ: السلالات المتحورة لفيروس كورونا–سارس–2. أخبار عن فاشيات الأمراض (بالإنكليزية). جنيف: منظمة الصحة العالمية؛ 31 كانون الأول/ديسمبر 2020 (https://www.who.int/csr/don/31-december-2020-sars-cov2-variants/en/، تم الاطّلاع في 31 كانون الأول/ديسمبر 2020).
128. Baum A, Fulton BO, Wloga E, Copin R, Pascal KE, Russo V, et al. Antibody cocktail to SARS-CoV-2 spike protein prevents rapid mutational escape seen with individual antibodies. Science. 2020;369:1014–8. doi: 10.1126/science.abd0831.
129. Inzaule SC, Hamers RL, Paredes R, Yang C, Schuurman R, Rinke de Wit TF. The evolving landscape of HIV drug resistance diagnostics for expanding testing in resource-limited settings. AIDS Rev. 2017;19:219–30 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28182618, accessed 15 November 2020).
130. Sepulveda N, Phelan J, Diez-Benavente E, Campino S, Clark TG, Hopkins H, et al. Global analysis of *Plasmodium falciparum* histidine-rich protein-2 (pfhrp2) and pfhrp3 gene deletions using whole-genome sequencing data and meta-analysis. Infect Genet Evol. 2018;62:211–9. doi: 10.1016/j.meegid.2018.04.039.
131. Cremer J, Hofstraat SHI, van Heiningen F, Veldhuijzen IK, van Benthem BHB, Benschop KSM. Genetic variation of Hepatitis B surface antigen among acute and chronic Hepatitis B virus infections in the Netherlands. J Med Virol. 2018;90:1576–85. doi: 10.1002/jmv.25232.
132. Hollinger FB. Hepatitis B virus genetic diversity and its impact on diagnostic assays. J Viral Hepat. 2007;14 Suppl 1:11–5. doi: 10.1111/j.1365-2893.2007.00910.x.
133. Lam SD, Bordin N, Waman VP, Scholes HM, Ashford P, Sen N, et al. SARS-CoV-2 spike protein predicted to form complexes with host receptor protein orthologues from a broad range of mammals. Sci Rep. 2020;10:16471. doi: 10.1038/s41598-020-71936-5.
134. Damas J, Hughes GM, Keough KC, Painter CA, Persky NS, Corbo M, et al. Broad host range of SARS-CoV-2 predicted by comparative and structural analysis of ACE2 in vertebrates. Proc Natl Acad Sci U S A. 2020;117:22311–22. doi: 10.1073/pnas.2010146117.
135. Freuling CM, Breithaupt A, Müller T, Sehl J, Balkema-Buschmann A, Rissmann M, et al. Susceptibility of raccoon dogs for experimental SARS-CoV-2. bioRxiv. 2020. doi: 10.1101/2020.08.19.256800v1.
136. Schlottau K, Rissmann M, Graaf A, Schon J, Sehl J, Wylezich C, et al. SARS-CoV-2 in fruit bats, ferrets, pigs, and chickens: an experimental transmission study. Lancet Microbe. 2020;1:e218–e25. doi: 10.1016/S2666-5247(20)30089-6.
137. Shi J, Wen Z, Zhong G, Yang H, Wang C, Huang B, et al. Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS-coronavirus 2. Science. 2020;368:1016–20. doi: 10.1126/science.abb7015.
138. Kim YI, Kim SG, Kim SM, Kim EH, Park SJ, Yu KM, et al. Infection and rapid transmission of SARS-CoV-2 in ferrets. Cell Host Microbe. 2020;27:704–9 e2. doi: 10.1016/j.chom.2020.03.023.
139. Halfmann PJ, Hatta M, Chiba S, Maemura T, Fan S, Takeda M, et al. Transmission of SARS-CoV-2 in domestic cats. N Engl J Med. 2020;383:592–4. doi: 10.1056/NEJMc2013400.
140. Ruiz-Arrondo I, Portillo A, Palomar AM, Santibanez S, Santibanez P, Cervera C, et al. Detection of SARS-CoV-2 in pets living with COVID-19 owners diagnosed during the COVID-19 lockdown in Spain: a case of an asymptomatic cat with SARS-CoV-2 in Europe. Transbound Emerg Dis. 2020. doi: 10.1111/tbed.13803.
141. Richard M, Kok A, de Meulder D, Bestebroer TM, Lamers MM, Okba NMA, et al. SARS-CoV-2 is transmitted via contact and via the air between ferrets. Nat Commun. 2020;11:3496. doi: 10.1038/s41467-020-17367-2.

142. Sia SF, Yan LM, Chin AWH, Fung K, Choy KT, Wong AYL, et al. Pathogenesis and transmission of SARS-CoV-2 in golden hamsters. Nature. 2020. doi: 10.1038/s41586-020-2342-5.
143. Munster VJ, Feldmann F, Williamson BN, van Doremalen N, Pérez-Pérez L, Schulz J, et al. Respiratory disease and virus shedding in rhesus macaques inoculated with SARS-CoV-2. medRxiv. 2020. doi: 10.1101/2020.03.21.001628v1.
144. Zhao Y, Wang J, Kuang D, Xu J, Yang M, Ma C, et al. Susceptibility of tree shrew to SARS-CoV-2 infection. Sci Rep. 2020;10:16007. doi: 10.1038/s41598-020-72563-w.
145. Woolsey C, Borisevich V, Prasad AN, Agans KN, Deer DJ, Dobias NS, et al. Establishment of an African green monkey model for COVID-19. bioRxiv. 2020. doi: 10.1101/2020.05.17.100289.
146. Lu S, Zhao Y, Yu W, Yang Y, Gao J, Wang J, et al. Comparison of nonhuman primates identified the suitable model for COVID-19. Signal Transduct Target Ther. 2020;5:157. doi: 10.1038/s41392-020-00269-6.
147. Sit THC, Brackman CJ, Ip SM, Tam KWS, Law PYT, To EMW, et al. Infection of dogs with SARS-CoV-2. Nature. 2020. doi: 10.1038/s41586-020-2334-5.
148. Newman A, Smith D, Ghai RR, Wallace RM, Torchetti MK, Loiacono C, et al. First reported cases of SARS-CoV-2 infection in companion animals - New York, March–April 2020. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2020;69:710–3. doi: 10.15585/mmwr.mm6923e3.
149. Oreshkova N, Molenaar RJ, Vreman S, Harders F, Oude Munnink BB, Hakze-van der Honing RW, et al. SARS-CoV-2 infection in farmed minks, the Netherlands, April and May 2020. Euro Surveill. 2020;25. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.23.2001005.
150. Cahan E. COVID-19 hits U.S. mink farms after ripping through Europe. Science Magazine. 2020 (https://www.sciencemag.org/news/2020/08/covid-19-hits-us-mink-farms-after-ripping-through-europe, accessed 13 November 2020).
151. Abdel-Moneim AS, Abdelwhab EM. Evidence for SARS-CoV-2 infection of animal hosts. Pathogens. 2020;9. doi: 10.3390/pathogens9070529.
152. Exposure of humans or animals to SARS-CoV-2 from wild, livestock, companion and aquatic animals. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2020 (http://www.fao.org/3/ca9959en/ca9959en.pdf, accessed 1 December 2020).
153. Guidelines to mitigate the impact of the COVID-19 pandemic on livestock production and animal health. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2020 (http://www.fao.org/3/ca9177en/CA9177EN.pdf, accessed 1 December 2020).
154. Guidance on working with farmed animals of species susceptible to infection with SARS-CoV-2. Paris: World Organisation for Animal Health (OIE); 2020 (https://www.oie.int/fileadmin/Home/MM/Draft_OIE_Guidance_farmed_animals_cleanMS05.11.pdf, accessed 8 December 2020).
155. El Zowalaty ME, Jarhult JD. From SARS to COVID-19: a previously unknown SARS-related coronavirus (SARS-CoV-2) of pandemic potential infecting humans: call for a One Health approach. One Health. 2020;9:100124. doi: 10.1016/j.onehlt.2020.100124.
156. Leroy EM, Ar Gouilh M, Brugere-Picoux J. The risk of SARS-CoV-2 transmission to pets and other wild and domestic animals strongly mandates a One-Health strategy to control the COVID-19 pandemic. One Health. 2020;10:100133. doi: 10.1016/j.onehlt.2020.100133.
157. Guidelines for working with free-ranging wild mammals in the era of the COVID-19 pandemic. Paris: World Organisation for Animal Health (OIE); 2020 (https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Our_scientific_expertise/docs/pdf/COV-19/A_WHSG_and_OIE_COVID-19_Guidelines.pdf, accessed 10 December 2020).

المُلحَق الأول: أسئلة رئيسيّة ينبغي النظر فيها قبل بدء برنامج التسلسل

(1) ما هي النواتج المتوقعة من برنامج التسلسل؟

(2) ما هي العينات التي ينبغي إخضاعها للتسلسل لتحقيق النواتج المتوقعة المحددة في الخطوة 1؟ ما هي البيانات الوصفية أو مصادر البيانات الإضافية التي تُعتبَر مهمة؟

(3) ما هي الجهات الرئيسية صاحبة المصلحة وما هي مسؤولياتها؟ كيف يمكن إشراكها بفعالية؟

(4) كيف يمكن نقل العينات والمعلومات بسرعة وبشكل مناسب بين الجهات صاحبة المصلحة، حسب الاقتضاء؟

(5) هل تم تصميم المشروع وفقاً للقوانين المحلية والوطنية والدولية والمبادئ التوجيهية الأخلاقية؟

(6) هل يتوفر القدر الكافي من التمويل والمعدات والموارد البشرية لتنفيذ جميع مراحل استرجاع العينات، وتسلسل المختبرات الرطبة، والمعلوماتية الحيوية، وتحليلات التفاعلات الديناميكية لتطور السلالات وغيرها، وتبادل البيانات، وإبلاغ النتائج في الوقت المناسب إلى الجهات المناسبة صاحبة المصلحة؟

(7) كيف يمكن تحقيق الأهداف دون تعطيل مجالات أخرى من العمل المختبري، مثل وسائل التشخيص السريري، وتجنب ازدواجية الجهود؟

(8) كيف سيُقيَّم البرنامج من حيث فعالية التكلفة والأثر؟

المُلحَق الثاني: قائمة مرجعيّة لوضع برنامج تسلسل فيروس كورونا– سارس–2

الأهداف

- ☐ تحديد الأهداف المتوقعة من برنامج التسلسل؛ ما هي المعلومات المرجّح أن يوفرها التسلسل كمعلومات إضافية أو أكثر فعاليةً من حيث التكلفة مقارنةً بالنُهُج القائمة؟

تحديد وإشراك الجهات صاحبة المصلحة

- ☐ تحديد الجهات الرئيسية صاحبة المصلحة.
- ☐ مناقشة أهداف البرنامج مع كبار ممثلي مجموعات الجهات صاحبة المصلحة وتحديد مسؤوليات كل مجموعة.
- ☐ النظر في تبادل المواد التعليمية حول إمكانات ومتطلبات تسلسل فيروس كورونا–سارس–2 مع الجهات صاحبة المصلحة.
- ☐ تحديد الروابط اللازمة بين الجهات الرئيسية صاحبة المصلحة لتحقيق السرعة في حركة العينات وطلبات الحصول على المعلومات واستخدام النتائج.
- ☐ ضمان إقامة روابط واضحة ومناسبة بين الجهات صاحبة المصلحة.

الاعتبارات التقنيّة

- ☐ تحديد مستوى أخذ العينات الجينومية المطلوب لتحقيق الأهداف المرجوة، في إطار التناقش مع كبار أعضاء الأفرقة المعنية بتحديد وتحليل الحالات.
- ☐ تحديد البيانات الوصفية المطلوبة لتحقيق الأهداف المرجوة، في إطار التناقش مع كبار أعضاء الأفرقة المعنية بتحديد وتحليل الحالات.
- ☐ اختيار بروتوكولات إعداد العينات والمكتبات المناسبة.
- ☐ اختيار البروتوكولات المعلوماتية الأحيائية المناسبة.
- ☐ اختيار البروتوكولات التحليلية المناسبة.

الاعتبارات الأخلاقيّة

- ☐ النظر في المكان الذي سيتم فيه إجراء التسلسل والتحليل (مثلاً، مختبر تشخيصي قائم أو مختبر تجاري أو أكاديمي خارجي).
- ☐ تحديد مصادر التمويل المناسبة بما يكفي لدعم التسلسل المختبري وعمليات تخزين وتحليل البيانات.
- ☐ ضمان توافر الكواشف والموارد الحسابية الكافية وإمكانية الحصول عليها بشكل مستدام حسب الاقتضاء.
- ☐ ضمان وجود موارد بشرية كافية ومناسبة لتنفيذ البرنامج في كل مرحلة.

- ضمان الحفاظ على سلامة العينة في جميع الخطوات بامتداد مسار العمل عن طريق تدابير خاصة بسلسلة أجهزة التبريد أو غيرها من التدابير.
- ضمان جمع وتخزين البيانات الوصفية بشكل كافٍ وربطها بالعينات البيولوجية بالشكل الصحيح.
- النظر في الضغط الإضافي المحتمل الذي سيضعه التسلسل على أذرُع الاستجابة الصحية العامة القائمة، والبحث عن سبل للتخفيف من وطأته.
- فيما يخصّ برامج التسلسل الواسعة النطاق، تحديد كيفية تبسيط عملية تبادل البيانات والعينات بين المجموعات المشارِكة (مثلاً، جدوى استخدام نموذج واحد لتحديد الهوية ونماذج شكلية متطابقة للبيانات الوصفية).

ضمان بيئة آمنة وأخلاقيّة

- إجراء مراجعات أخلاقية مناسبة لتوليد واستخدام وتخزين بيانات التسلسل والبيانات الوصفية المرتبطة بها.
- إجراء تقييمات لمخاطر أنشطة التسلسل لضمان السلامة البيولوجية المناسبة في جميع المراحل.
- إجراء تقييمات لمخاطر أنشطة التسلسل لضمان الأمن البيولوجي المناسب، إذا كان ذلك مناسباً في إطار القوانين الوطنية والإقليمية.
- النظر في الأثر الواقع على الموارد البشرية، بما في ذلك إعادة توزيع العاملين أو تعيين موظفين إضافيين للإبقاء على عبء العمل الفردي عند مستويات معقولة.
- ضمان إمكانية انتقال العاملين إلى العمل وتواجدهم في مكان العمل بأمان ووفقاً للمبادئ التوجيهية الوطنية بشأن منع انتقال العدوى أثناء تفشي جائحة كوفيد-19.
- تحديد استراتيجيات للحفاظ على برنامج التسلسل إذا مرض العاملون الرئيسيون أو توجّب عليهم الخضوع للعزل الذاتي.

مشاركة البيانات

- ضمان اتفاق جميع الجهات صاحبة المصلحة على المتواليات والبيانات الوصفية التي سيتم تبادلها علناً، ومن خلال أي منصات وفي أي توقيت .
- ضمان اتفاق جميع الجهات صاحبة المصلحة على ما إذا كان ينبغي أن تقتصر أي بيانات وصفية على عدد محدود من المستخدمين المحليين، ووضع استراتيجيات لتبادل تلك البيانات بشكل آمن.
- ضمان توافق تبادل البيانات مع الأطر التنظيمية الوطنية والدولية.

التقييم

- ضمان إتاحة فرص منتظمة لتقييم برنامج التسلسل، بما في ذلك النجاحات والتحديات المستمرة.
- كفالة تنفيذ إطار للرصد والتقييم من أجل تقييم أداء برنامج التسلسل من الناحية التقنية (الجودة النوعية، وما إلى ذلك) ومن حيث نجاح البرنامج في تحقيق أغراضه.

المُلحَق الثالث: المنصّات الشائعة الاستخدام لتحليل تسلسل فيروس كورونا–سارس–2 وخصائصها

الأداة (أ)	المزايا	المحدّدات	وقت تشغيل الأداة	خَرج التسلسل	مقارنة التكاليف النسبيّة
تسلسل Sanger	إمكانية الوصول على نطاق واسع سهولة الاستخدام تسلسل فعال من حيث التكلفة إذا كان عدد الأهداف المطلوبة قليلاً	خَرج منخفض جداً وجوب إجراء تضخيم وتسلسل أجزاء الحامض النووي المضخّم أو المُكبَّر (في كثير من الأحيان لا تزيد عن 1000 bp) بشكل فردي مكلّف للجينومات الكاملة غير مناسب في مجال علم الميتاجينوميات	عادةً بضع ساعات	100 kB-2 Mb لكل شوط واحد	تكلفة منخفضة نسبياً لبضعة أهداف
Illumina (على سبيل المثال، iSeq, MiniSeq, MiSeq, NextSeq, HiSeq, NovaSeq)	نواتج التسلسل قد تكون عالية جداً دقة عالية جداً iSeq منقّال أساليب التعامل مع البيانات راسخة	باستثناء Illumina iSeq ، الشراء والصيانة مكلّفان مقارنةً ببعض المنصات الأخرى الحد الأقصى لطول القراءة 2 x 300 bp	10-55 ساعة، حسب الأداة	1.2–6000 Gb ، حسب الأداة	تكاليف الصيانة وبدء التشغيل مرتفعة تكاليف التشغيل معتدلة
تقنيات Oxford Nanopore (Flongle, MinION, GridION, PromethION)	تسلسل مباشر محمول بيانات في الزمن الحقيقي تكاليف بدء التشغيل والصيانة منخفضة	صعوبات مع البوليمرات المتجانسة يبلغ معدّل الخطأ في القراءة ~5% (R9.4 خليّة تدفّق) ، لذلك فإن استخدام مسارات عمل مناسبة أمر بالغ الأهمية للحصول على تسلسل توافقي عالي الدقة	يوفّر قراءات على الفور يمكن مراقبته وتشغيله لمدة تصل إلى عدة أيام حسب الحاجة	يتراوح من < 2 Gb لخليّة تدفّق Flongle إلى 220 Gb لخليّة تدفّق PromethION	لا تحتاج إلى صيانة وتكاليف بدء التشغيل منخفضة نسبياً تكاليف التشغيل معتدلة

	يمكن أن يتوقف إجراء التسلسل بمجرد تحقيق بيانات كافية يمكن تحقيق أطوال قراءة ممتدّة للغاية (تتجاوز الطول الكامل لجينوم فيروس كورونا-سارس-2)	غير مناسب حالياً لتحديد التباين داخل العائل ما لم يتم استخدام تسلسل مضاعَف *(52)*		يمكن استخدام ما يصل إلى 48 خليّة تدفّق على PromethION	
Ion Torrent	سرعة زمن التفريغ وإعادة التحميل بمجرد بدء التسلسل	صعوبات مع البوليمرات المتجانسة الشراء مكلِف أقصى أطوال القراءة النموذجية حوالي 400 bp	2 ساعة –1 يوم، حسب الرقاقة والأداة	30 Mb–50 Gb حسب الأداة والرقائق	معتدل التكاليف

(أ) يُقصَد بهذه القائمة لمختلف التجهيزات تقديم لمحة عامة عن أكثر الأدوات استخداماً في التسلسل الجينومي لفيروس كورونا-سارس-2، ولا تعني ضمناً تأييد منظمة الصحة العالمية لهذه المنتجات.

(ب) يمكن الاطّلاع على تقديرات مختلفة للتكاليف في المرجع *(8)*.

تواصل منظمة الصحة العالمية مراقبة الوضع عن كثب لمتابعة أي تغيّرات يمكن أن تؤثّر على هذه الإرشادات المبدئية. وفي حال طرأ تغيير على أيٍّ من العوامل ذات الصلة، سوف تصدر المنظمة إرشادات إضافيّة مُحَدَّثة. وبخلاف ذلك، تبقى وثيقة الإرشادات المبدئيّة هذه صالحة لمدّة عام من تاريخ إصدارها.

© منظمة الصحة العالمية 2021. بعض الحقوق محفوظة. هذا المصنف متاح بمقتضى الترخيص CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

WHO reference number: WHO/2019-nCoV/genomic_sequencing/2021.1