



Revisiting SARS-CoV-2 Pathogenesis

พิไลพันธ์ พุฒวันะ

สมาคมไวรัสวิทยา (ประเทศไทย)

ศูนย์วิจัยพัฒนานวัตกรรม และ ชีวการแพทย์สารสนเทศ

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล

22 กรกฎาคม 2568

Pandemic Preparedness: Bridging Lessons
from Influenza to COVID-19 and Beyond
S.D. Avenue hotel



COVID-19 cases and deaths

The first group of patients was reported in Wuhan City on 30 Dec 2019. Thailand was the first country to report an imported case on 12 Jan 2020.

WHO declared a Public Health Emergency of International Concern (PHEIC) on 30 Jan 2020, a pandemic on 11 Mar 2020, and the end of PHEIC on 5 May 2023.

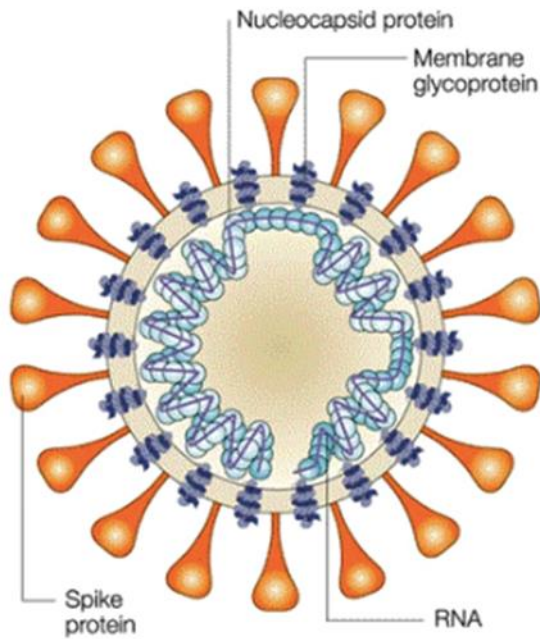
- Global cumulative cases: 778,252,838
- Global cumulative deaths: 7, 097, 851

Death rate = 0.9%

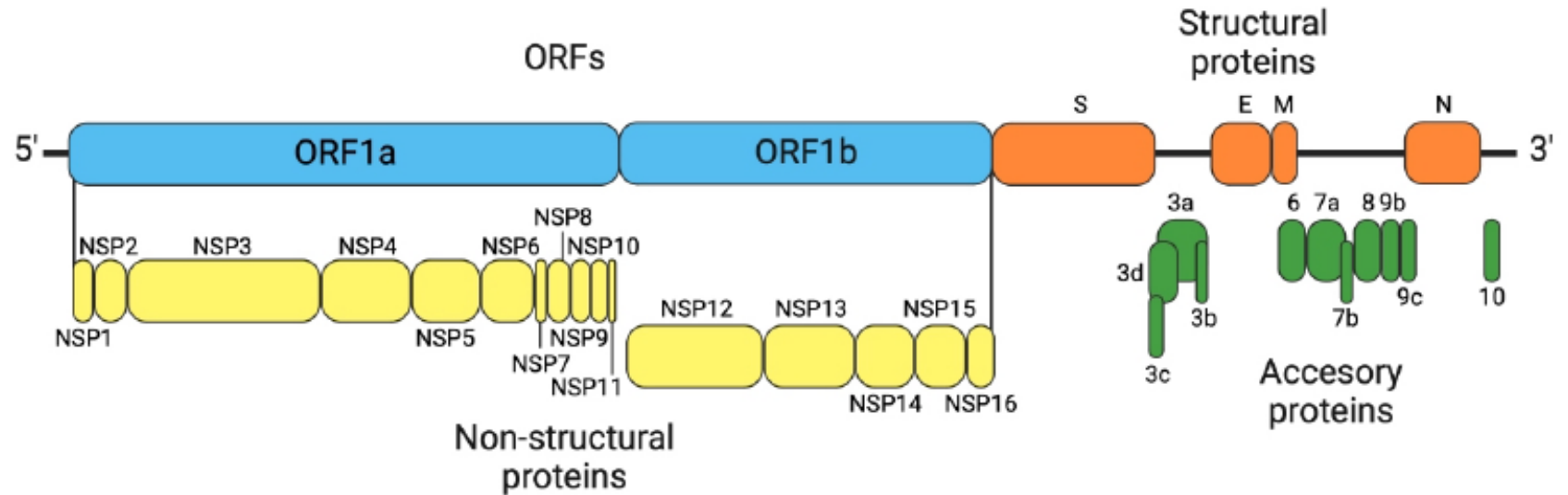
- Thailand cumulative cases: 4,770,149
- Thailand cumulative deaths: 34, 586

Death rate = 0.73%

Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2



Nat Rev Microbiol



Carvajal, et al. Frontier Immunol 2024. DOI 10.3389/fimmu.2024.1363572

RNA genome มีความยาว 30 kb แปลรหัสเป็นโปรตีนโครงสร้างของอนุภาคไวรัส (structural proteins) 4 ชนิด ได้แก่ **spike (S)**, **envelope (E)**, **membrane (M)**, และ **nucleocapsid (N)** และเป็น nonstructural proteins 16 ชนิด (NSP1-16) กับ accessory proteins อีก 9 ชนิด

S กระตุ้นการสร้าง neutralizing (NT) antibodies ซึ่งสามารถคุ้มกัน หรือลดความรุนแรงของโรค



SARS-CoV-2 variant classification

- GISAID clade/lineage: S, L, O, V, G, GH, GR, GRY
- Nextstrain clade: 19, 20, 21
- Pango lineage: A, B, P
- WHO: Alpha, Beta, Gamma, Delta (VOI, VOC)
- US CDC SARS-CoV-2 Interagency Group
- Variant under monitored: Alpha, Beta, Gamma,...
- Variant of Interest
- Variant of Concern
- Variant of High Consequence

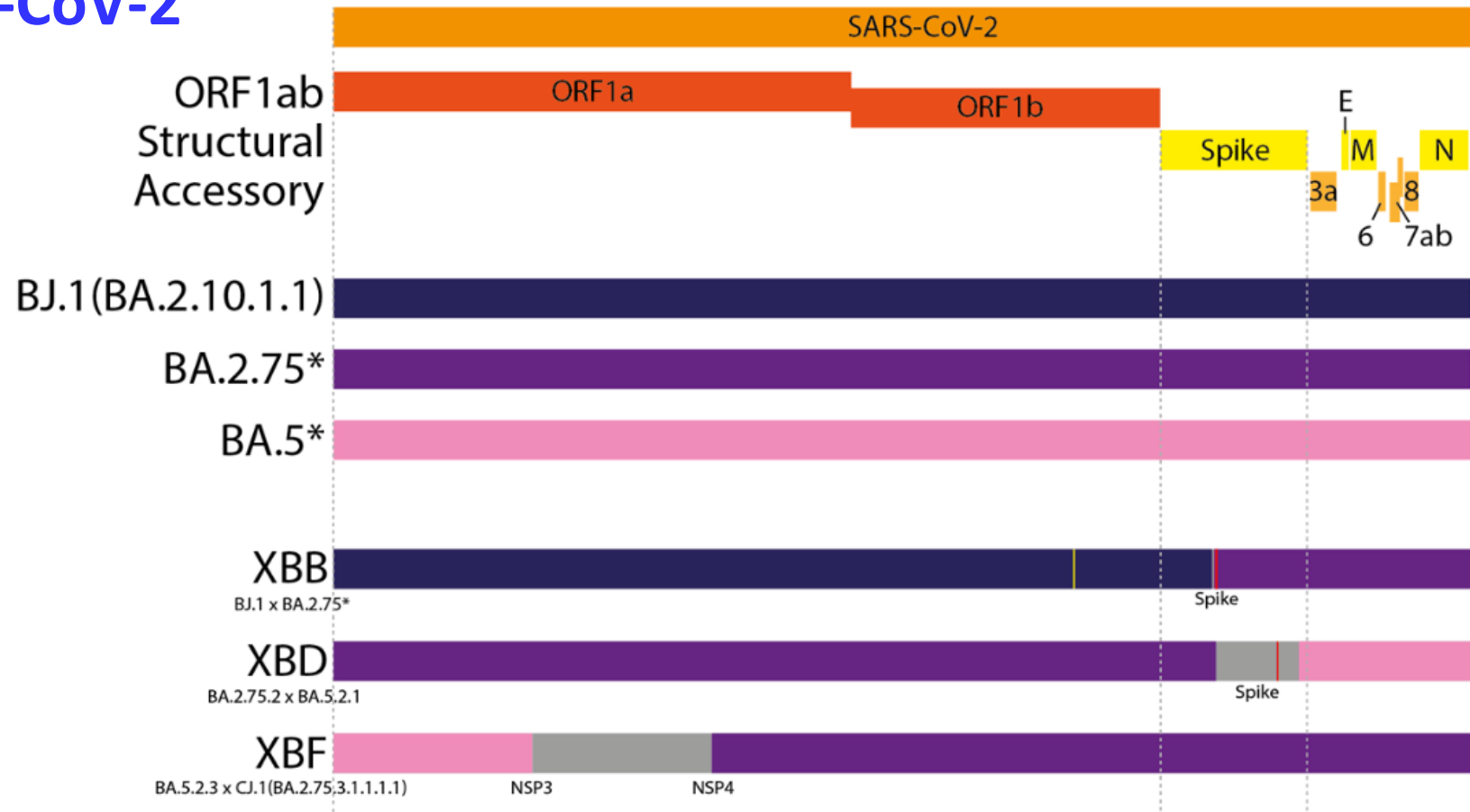
Greek Alphabet and Symbols

A α Alpha	B β Beta	Γ γ Gamma	Δ δ Delta	E ε Epsilon	Z ζ Zeta
H η Eta	Θ θ Theta	I ι Iota	K κ Kappa	Λ λ Lambda	M μ Mu
N ν Nu	Ξ ξ Xi	Ο ο Omicron	Π π Pi	Ρ ρ Rho	Σ σ, ς Sigma
Τ τ Tau	Υ υ Upsilon	Φ φ Phi	Χ χ Chi	Ψ ψ Psi	Ω ω Omega

Table 2: SARS-CoV-2 Variants of Concern (VOCs) and Variants of Interest (VOIs), as of 22 June 2021

WHO label	Pango lineage	GISAID clade	Nextstrain clade	Earliest documented samples	Date of designation
Variants of Concern (VOCs):					
Alpha	B.1.1.7	GR/501Y.V1 (formerly GR/501Y.V1)	20I (V1)	United Kingdom, Sep-2020	18-Dec-2020
Beta	B.1.351	GH/501Y.V2	20H (V2)	South Africa, May-2020	18-Dec-2020
Gamma	P.1	GR/501Y.V3	20J (V3)	Brazil, Nov-2020	11-Jan-2021
Delta	B.1.617.2	G/478K.V1	21A	India, Oct-2020	VOI: 4-Apr-2021 VOC: 11-May-2021
Variants of Interest (VOIs):					
Epsilon	B.1.427/ B.1.429	GH/452R.V1	21C	United States of America, Mar-2020	5-Mar-2021
Zeta	P.2	GR/484K.V2	20B	Brazil, Apr-2020	17-Mar-2021
Eta	B.1.525	G/484K.V3	21D	Multiple countries, Dec-2020	17-Mar-2021
Theta	P.3	GR/1092K.V1	21E	Philippines, Jan-2021	24-Mar-2021
Iota	B.1.526	GH/253G.V1	21F	United States of America, Nov-2020	24-Mar-2021
Kappa	B.1.617.1	G/452R.V3	21B	India, Oct-2020	4-Apr-2021
Lambda	C.37	GR/452Q.V1	20D	Peru, Aug-2020	14-Jun-2021

Recombinant SARS-CoV-2



Roemer, et al. SARS-CoV-2 evolution, post-Omicron

Deltacron = Recombinant Delta virus containing the Omicron spike protein

XBB.1.9.2 = B.1.1.529.2.10.1.1 x B.1.1.529.2.75.3.1.1.1

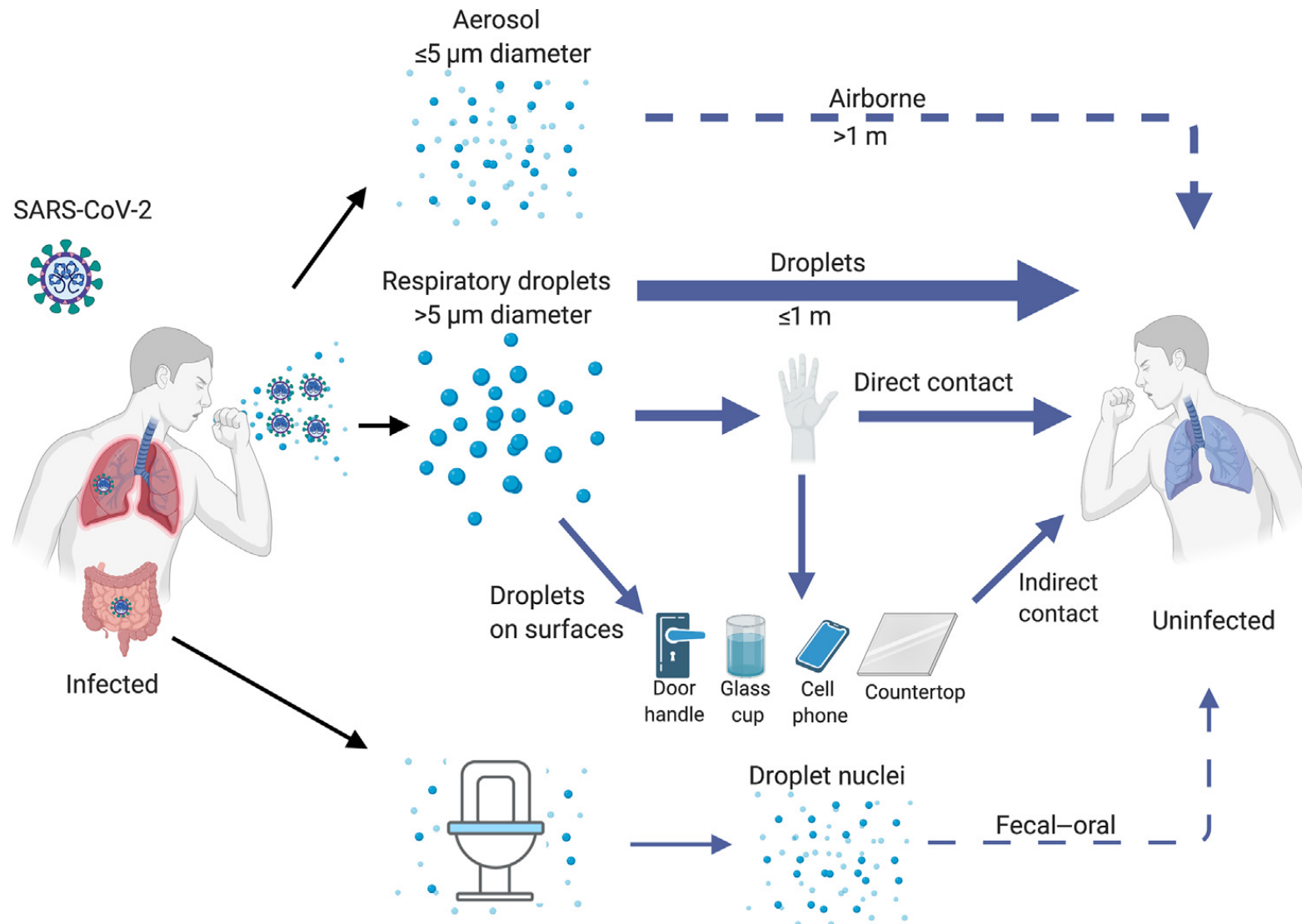
XBB.1.5 = Kraken; XBB.1.16 = Arcturus (Naming by Ryan Gregory- a Twitter user)



Omicron เกิดขึ้นตั้งแต่ พ.ย. 2021 และนับตั้งแต่ 7 ธันวาคม 2021 เป็นต้นมา ได้พบ sublineages มากกว่า 1300 สายพันธุ์ และไวรัสลูกผสมหลายเชื้อ การตั้งชื่อเริ่มต้องการความจำเพาะมากขึ้น

WHO label	Pango lineage	Designation date
-----------	---------------	------------------

Omicron	BA.2.86 (excluding JN.1)	Dec 1, 2023
Omicron	JN.1	Dec 21, 2023
Omicron	XBB.1.5	Mar 7, 2024



การสำรวจหา SARS-CoV-2 RNA ระหว่าง ม.ค.-พ.ค. 2566

-ในตัวอย่างน้ำเสียก่อนส่งเข้าระบบบำบัด
ของโรงงานของ กทม. ตรวจพบ 88/100
(88%) ตัวอย่าง และ ลดลงเหลือ 14/100
(14%) ในน้ำที่ผ่านการบำบัดก่อนปล่อย
ออกจากโรงงาน
(Noisamdaeng, et al.Sci Rep 2025; 15:9663)

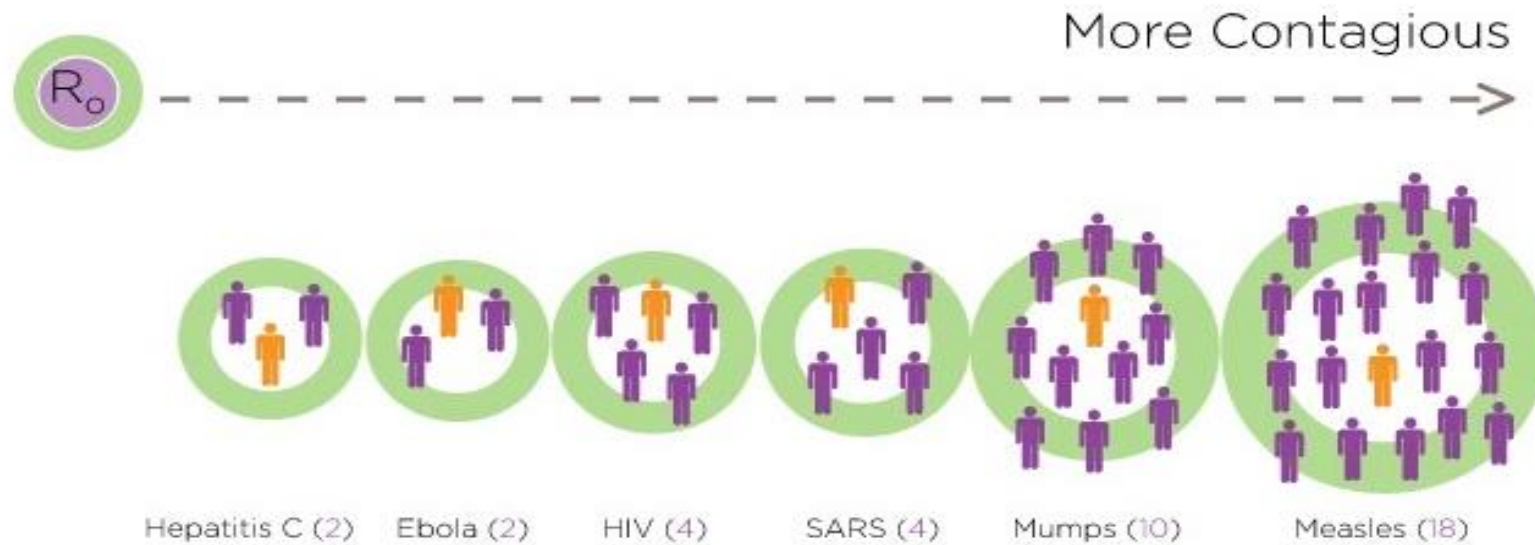
Harrison, et al. Trends Immunol 2020;41: 1100

- **Viral RNA in fecal samples lasted longer than respiratory symptoms.**
- **Nosocomial infection**



Pathogenesis

- Incubation period of 5.2 d (range 2-14 d)
- Infectiousness started 2.3-6 d before symptom, peaked around a day before symptom, and then declined.
- Shifting of high virus load in upper respiratory tract to lower tract at late disease stage
- Virus shedding is longer in severe cases: Asymptomatic 6 d; mild 10 d; moderate 12 d; serious 14 d; critical 32 d.
- Period of infectiousness is far shorter than the duration of RNA shedding.



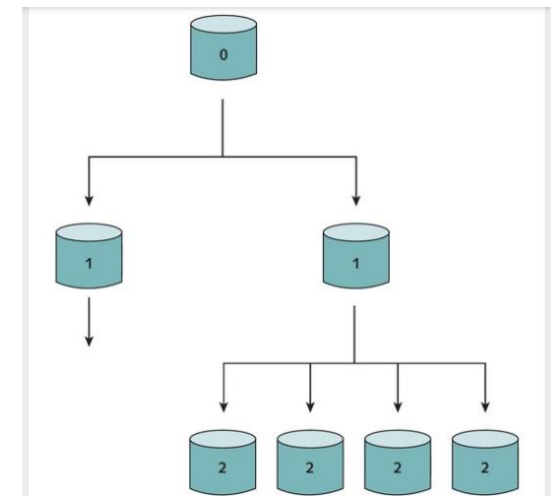
Basic reproductive number (R_0): the number of susceptible individuals directly infected by an infectious person.

R_0 of Wuhan ancestral strain = 2.79

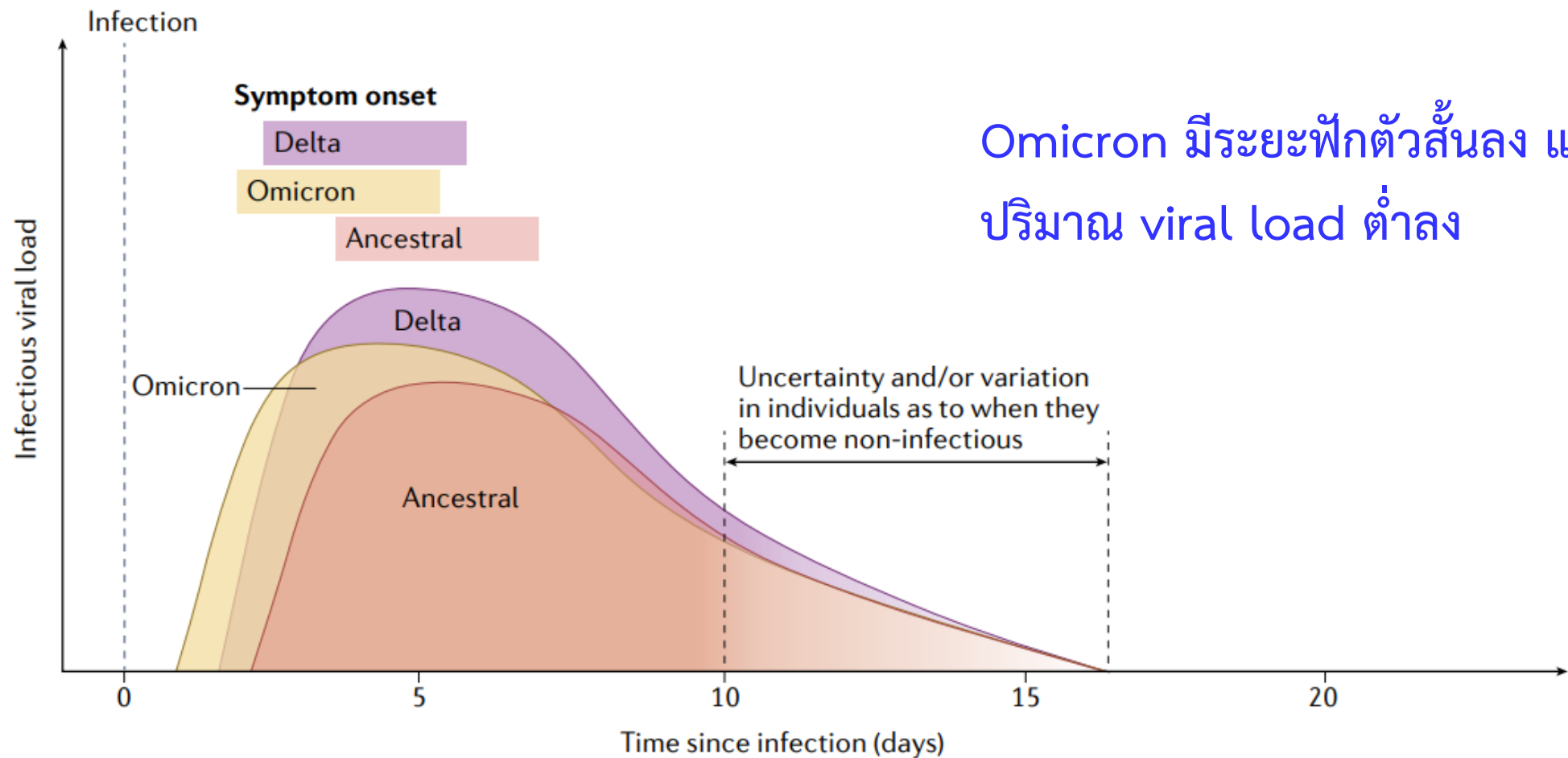
R_0 of Delta ranged from 3.2 and 8 (mean = 5.08)

R_0 of Omicron ranged from 5.5 to 24 (average = 9.5)

แปลว่าinfectious dose ของ Omicron น่าจะลดลง

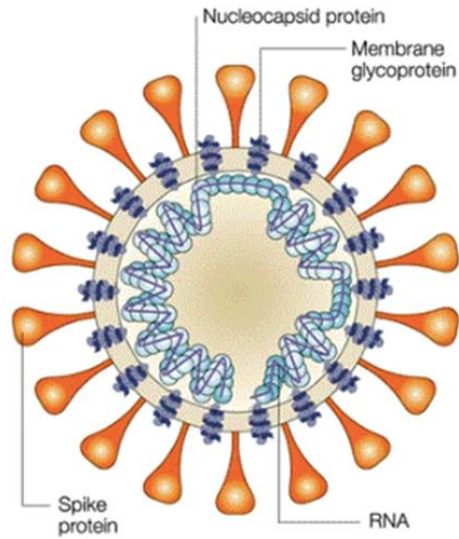


$R_0 = 2$

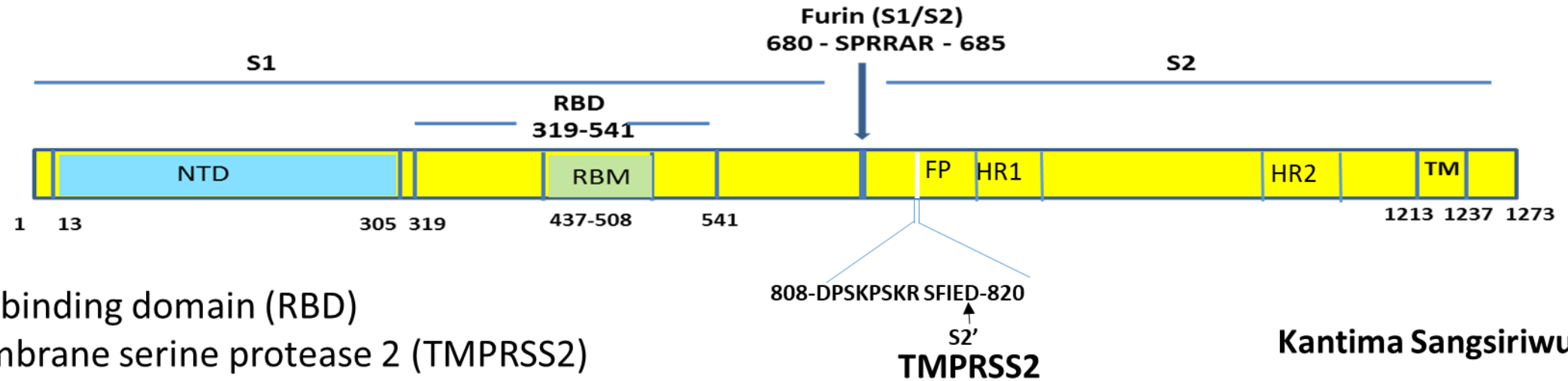


Omicron มีระยะฟักตัวสั้นลง และ
ปริมาณ viral load ต่ำลง

Infectious viral load and symptom onset in SARS-CoV-2 Delta and Omicron BA.1



Nat Rev Microbiol

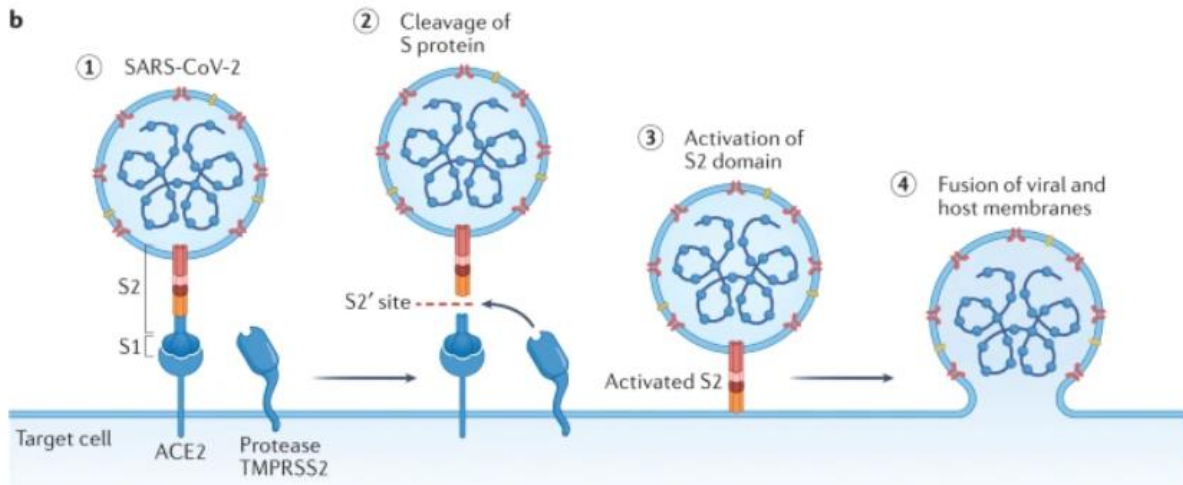


Kantima Sangsiriwut

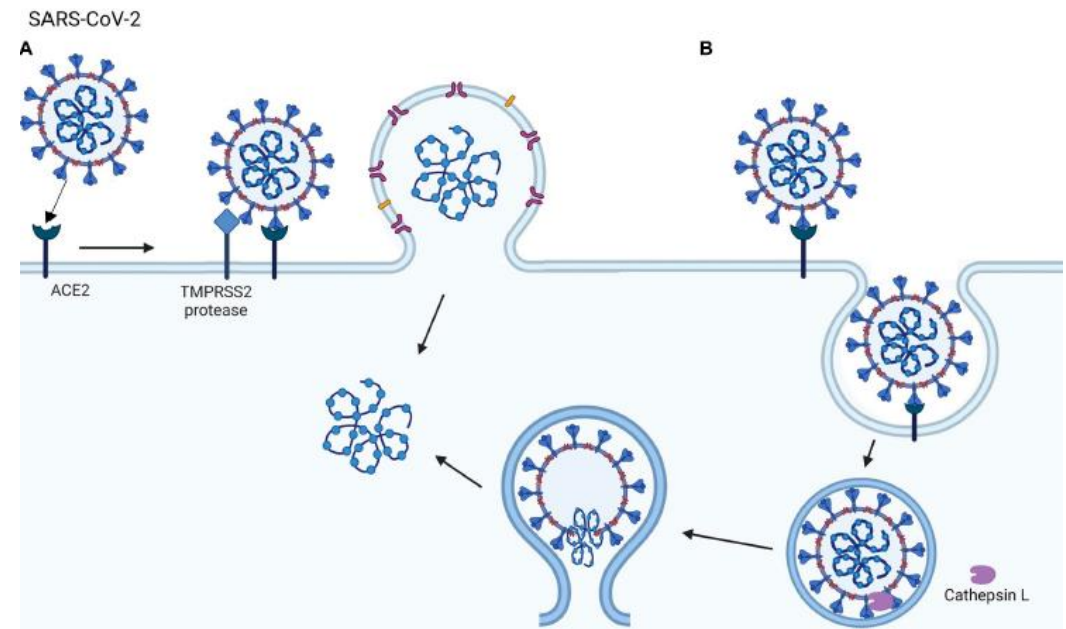
SARS-CoV-2 spike protein

Cell entry

- Membrane fusion between the viral envelope and ACE2 receptor
Fusion requires TMPRESS2 for cleaving S protein into S1/S2'
- Endocytosis
- Neuropilin-1 (NRP1) and NRP2 receptors bind to binding sites generated by furin cleavage of S protein.



Lamers and Haagman. Nat Rev Microbiol 2020; **20**: 270.



Song, et al. Frontier Microbiol 10.3389/fmicb.2023.1258975



- **Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2)**

Play a role in the body's renin-angiotensin system, which regulates blood pressure and fluid balance.

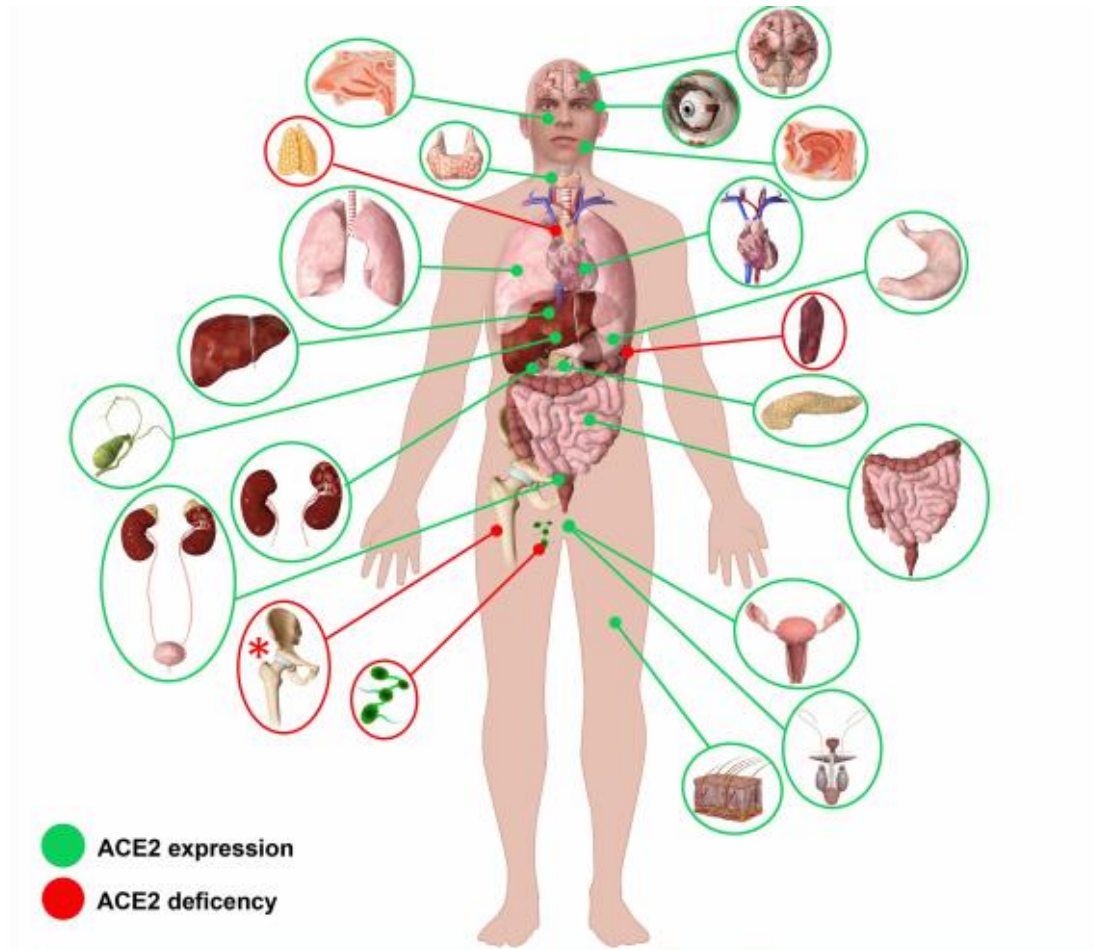
Protect cardiovascular system and blood pressure

Protect against lung injury

- **Transmembrane serine protease (TMPRESS2)**

Function is largely unknown.

Body location of angiotensin converter enzyme 2 (ACE-2)



Roles of ACE2

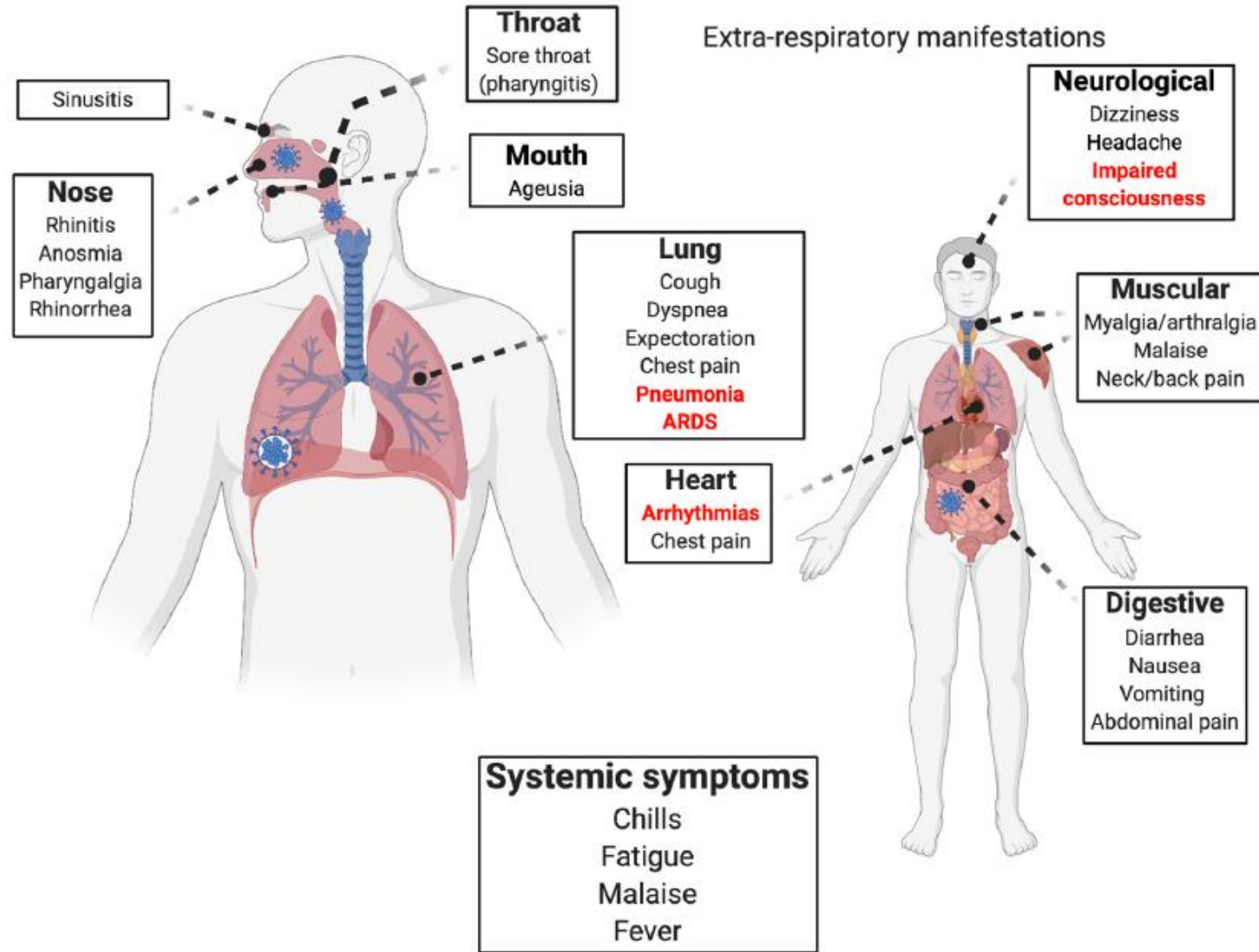
- Protect cardiovascular system and blood pressure
- Protect against lung injury

Salamanner, et al. Froteir Med. 2020; 7:

Respiratory tract manifestations



SARS-CoV-2

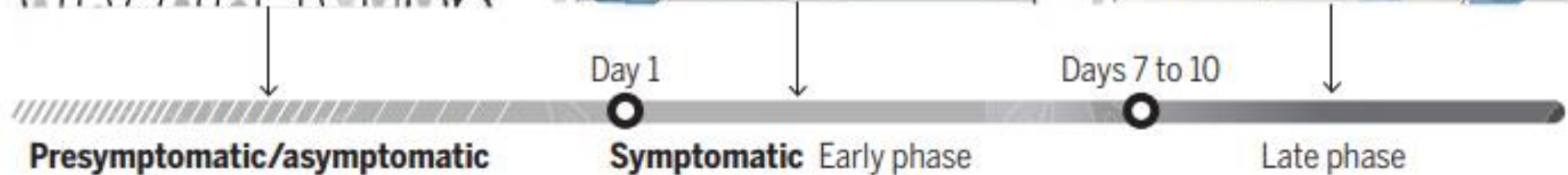
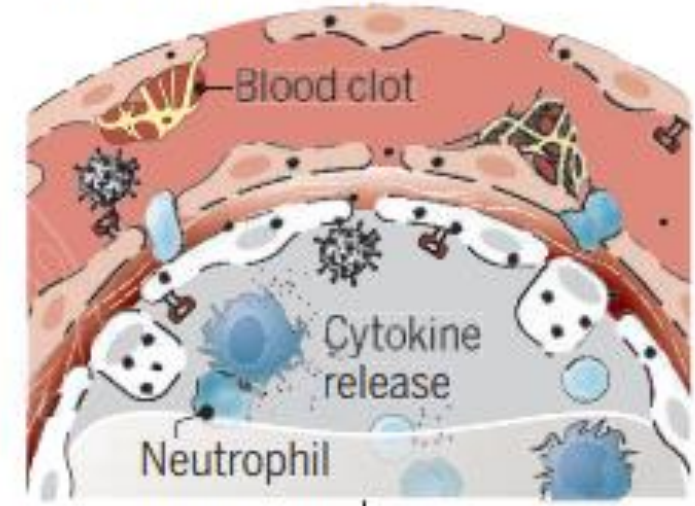
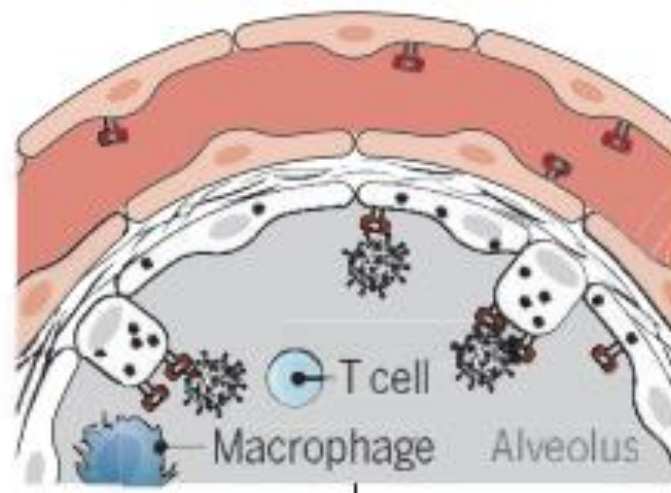
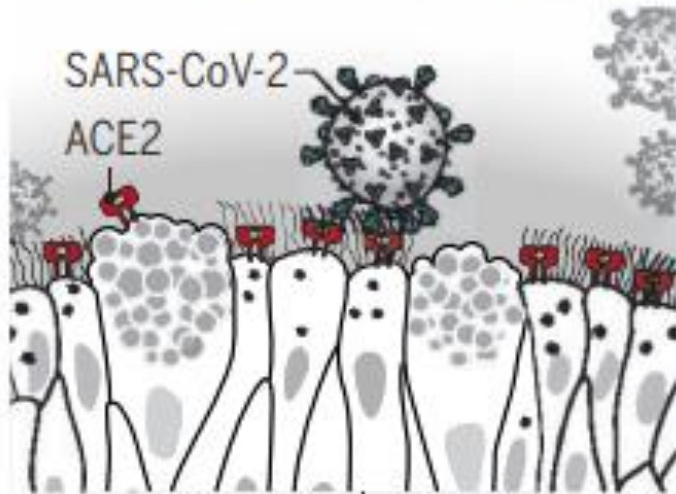


Clinical manifestations of COVID-19

SARS-CoV-2 infects ACE2-expressing nasal epithelial cells in the **upper respiratory tract**.

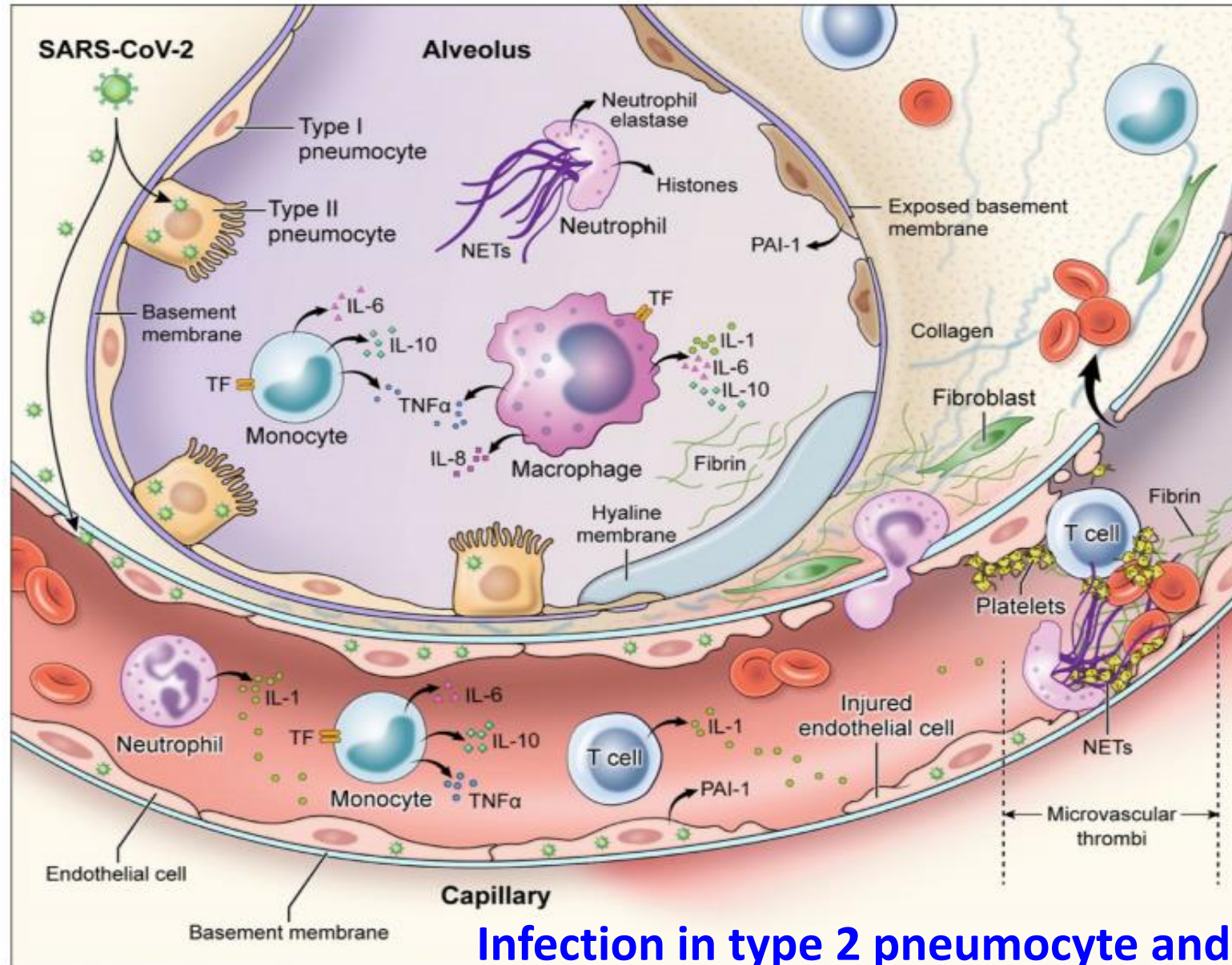
Virus infects ACE2-expressing type II alveolar epithelial cells and patients exhibit **pneumonitis**.

Severe disease involves disruption of the epithelial-endothelial barrier, complement deposition, and hyperinflammation.



SARS-CoV2 spike protein causes lung injury even without the presence of intact virus.

Mechanism of coagulopathy in SARS-CoV-2 pneumonia





Factors affecting pathogenesis

- Host factors
- Viral factors
- Environmental factors: tobacco, smoke, PM2.5??



Host factors: I

- **Some racial groups** are more susceptible to SARS-CoV-2: African American, native American, Latin American
- **HLA-DQ2/8** provided protection against SARS-CoV-2 infection. HLA-DQ plays role in Ag presentation to T cells, recognition of self and non-self tolerance.
- **TMPRSS2 rs12329760 C-allele** was correlated with an elevated risk of developing severe COVID-19.
- **Certain nucleotide polymorphism** led to increase affinity between ACE2 and S protein.



Host factors: II

- SARS-CoV-2 equally affected males and females, but severe cases are more common in males.
- X chromosome contains gene encoded for innate and adaptive immunity
- The differences by sex may be due to
 - Anatomy, (e.g., Males have larger size of respiratory tracts), physiology
 - Hormones: Androgens increase the expression of ACE2 and TMPRSS2 in lung epithelial cells
 - : Testosterone decrease immune response
 - : Estrogen has anti-inflammatory properties, downregulates ACE2 expression in type 2 pneumocytes. (High ACE2 expression was associated with high viral load and disease severity.)



Host factors: III

Old age:

- Older persons had greater expression of TMPRSS-2 than the younger, then the viral entry can be enhanced.
- Naïve T cells are reduced in older age.

• Underlying conditions:

Obesity, diabetes mellitus, cardiovascular disease, chronic pulmonary or renal disease, immunocompromised



Viral factors

- Delta lineages AY.126 and AY.43, and Omicron sublineages BA.1.17, BA.2.56, and BA.5.1, consistently correlated with more severe symptoms.

BA.1.15.1 fell within the milder symptom group

- Wuhan and Delta variants can spread by cell-to-cell transmission. Omicron mutated and impaired this ability, thus its pathogenicity was reduced.



Tissue damage in COVID-19

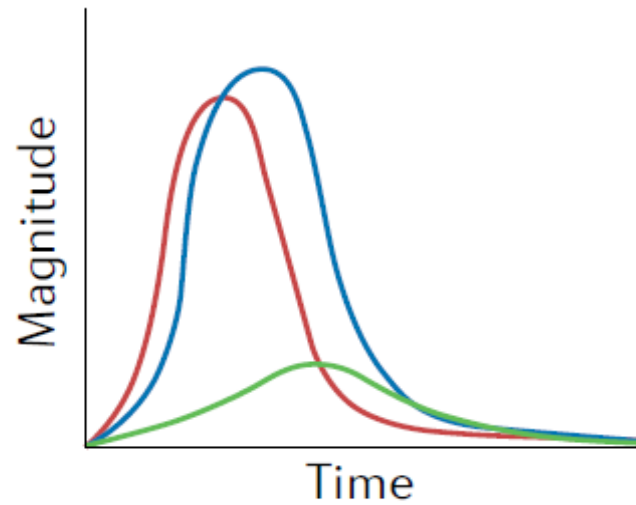
- Direct destruction during virus replication
- Damage by immune system in the fighting against viral infection
- Damage from deregulation of the immune system-immunopathogenesis
- Virus induced ACE2 downregulation



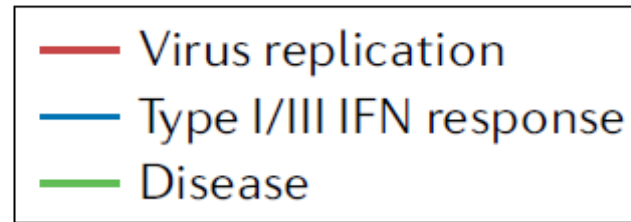
SARS-CoV-2 modulates immune response

- SARS-CoV-2 can infect immune cells.
- Multiple SARS-CoV-2 structural and NSPs antagonized IFN production and signaling, downregulated MHC-I, downregulated HLA-DQ2 etc.
- Patients with severe illness had impaired interferon I response: absence of IFN-beta production, and absence or low IFN-alpha production and activities.

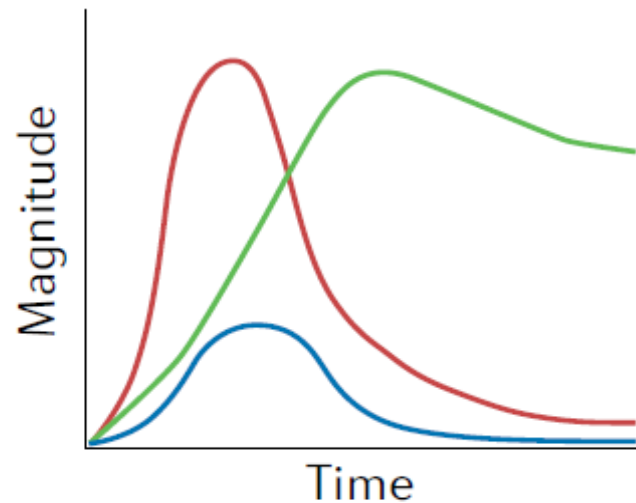
Mild or symptomatic case



- Rapid IFN response
- Few or no symptoms
- Controlled viral replication



Severe COVID-19



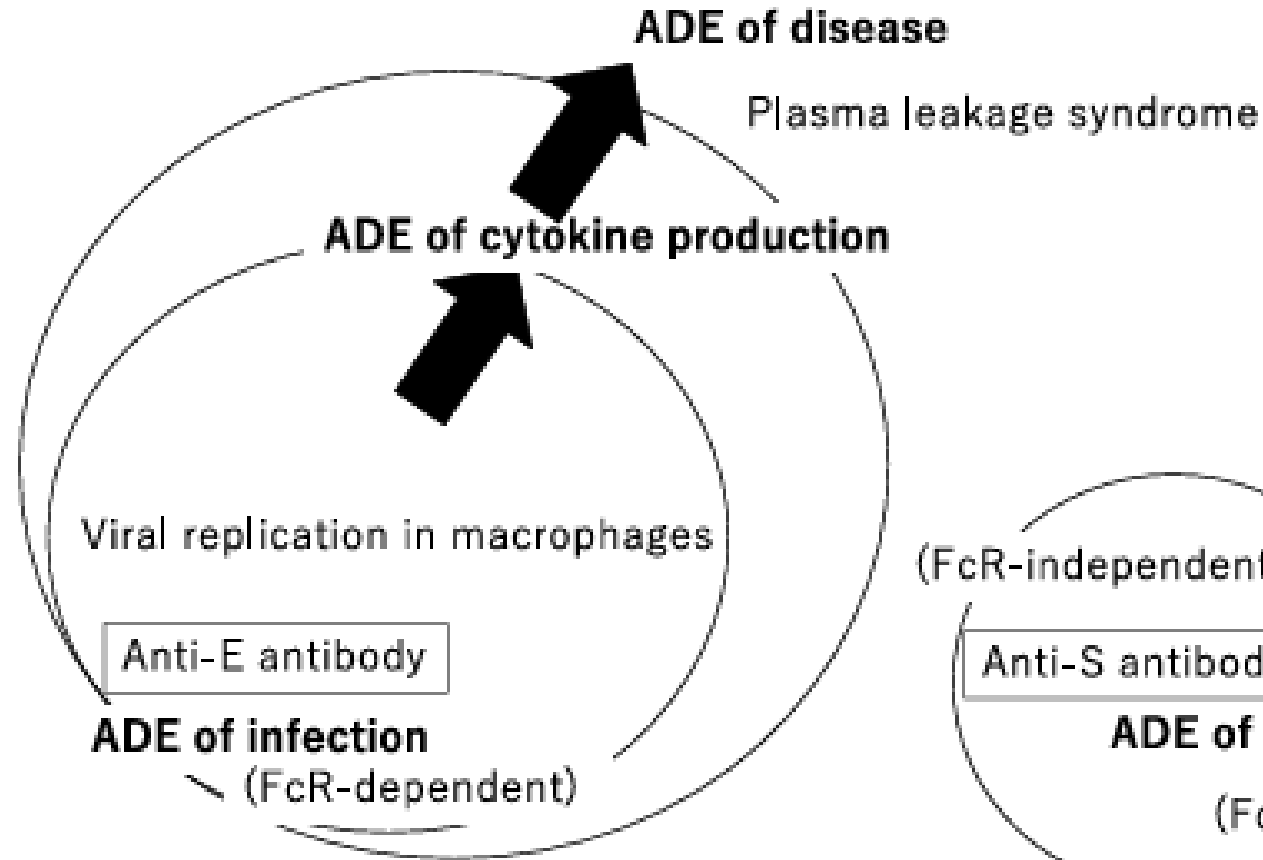
- Delayed or poor IFN response
- Increased viral replication
- Potentially fatal disease
- Auto-IFN antibodies
- Mutations in IFN or TLR signalling genes
- Poor plasmacytoid DC responses
- Inflammatory monocytes and neutrophils
- Immunothrombosis



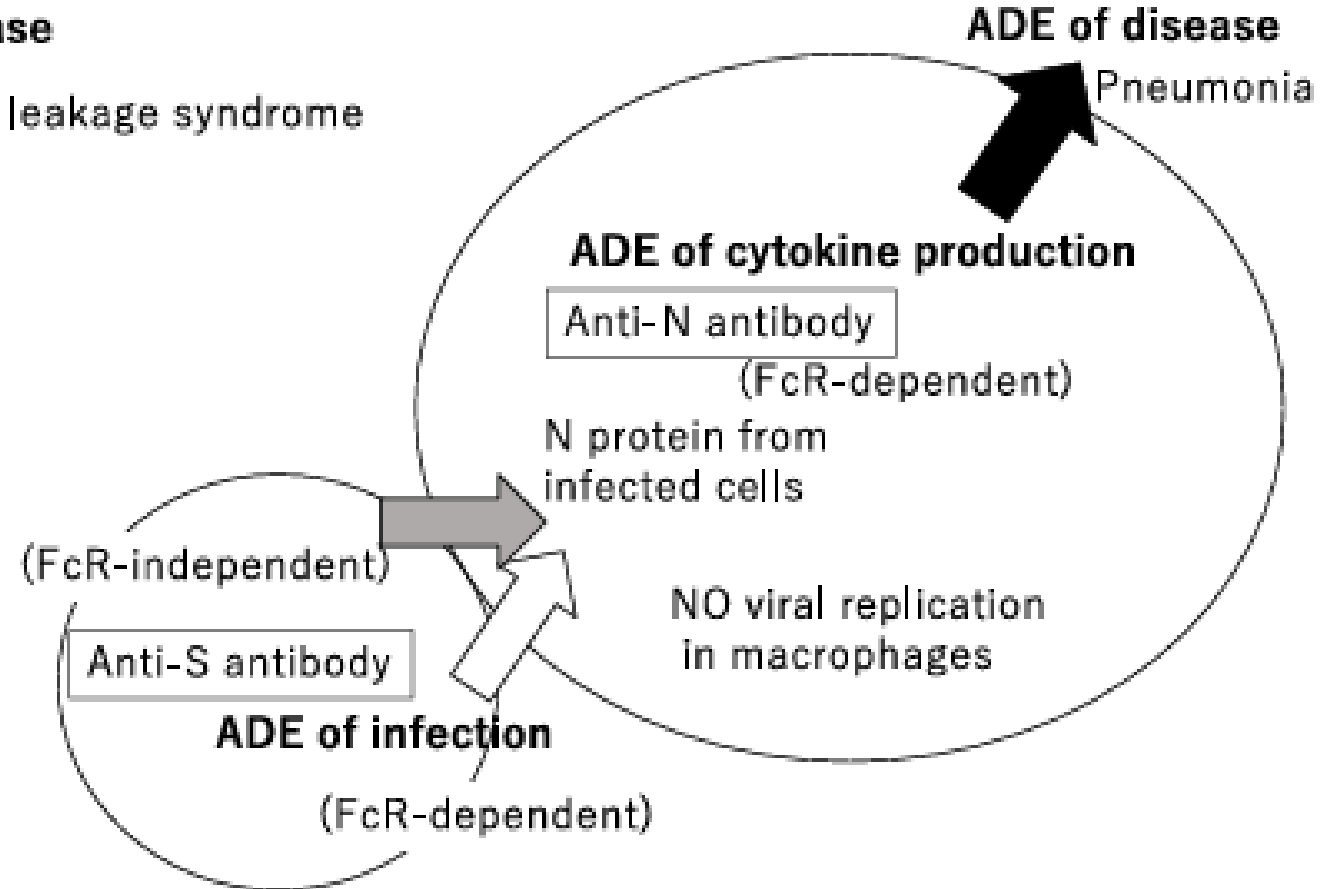
Immunological abnormalities

- SARS-CoV-2 activates NFkB signaling pathway and lead to **excessive proinflammatory cytokine production or cytokine storm**, in particular, IL-6, IL-10
High level of IL6 is related to poor prognosis.
- Autoantibodies to neural cells, type 1-IFN, and other immunomodulatory proteins
- Heterologous antibodies: Ab to the Ag other than SARS-CoV-2 ???
- Antibody dependent enhancement

Dengue virus



SARS-CoV-2





Post COVID-19 condition, long haul COVID, chronic COVID, post acute COVID-19 or long COVID

- ในปี 2565 WHO ได้ให้คำจำกัดความของ **Post COVID-19 conditions** ว่า หมายถึงอาการที่เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง หรือ เป็นอาการที่เกิดขึ้นใหม่ ภายหลังจากที่ติดเชื้อครั้งแรกไปแล้วนานไม่เกิน 3 เดือน โดยที่อาการเหล่านั้นจะเป็นอยู่นานไม่น้อยกว่าสองเดือน และหาสาเหตุอื่นไม่พบ
- ผู้ป่วย **long COVID** ไม่ติดต่อ (not infectious) แต่เป็นไปได้ที่อาจยังมี **inactive viruses** จำนวนน้อยอยู่ใน **tissues**

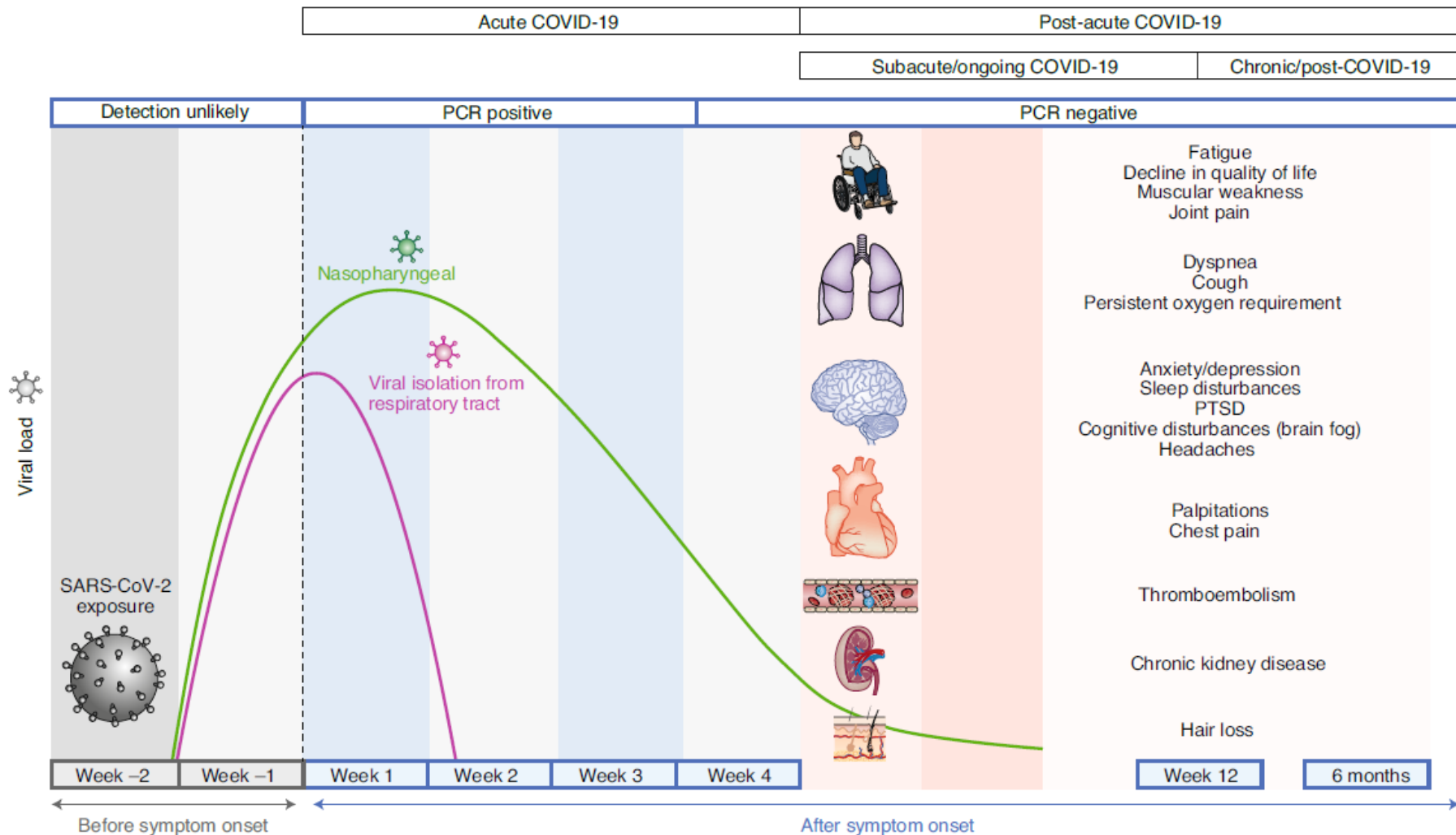


สาเหตุของการเกิด long COVID

- **Immune system over activation:** The immune system remains in a heightened state even after the virus is gone.
- **Microscopic blood clots:** Tiny clots may restrict blood flow to various organs.
- **Autoimmune response:** The body might mistakenly attack its own tissues after COVID.

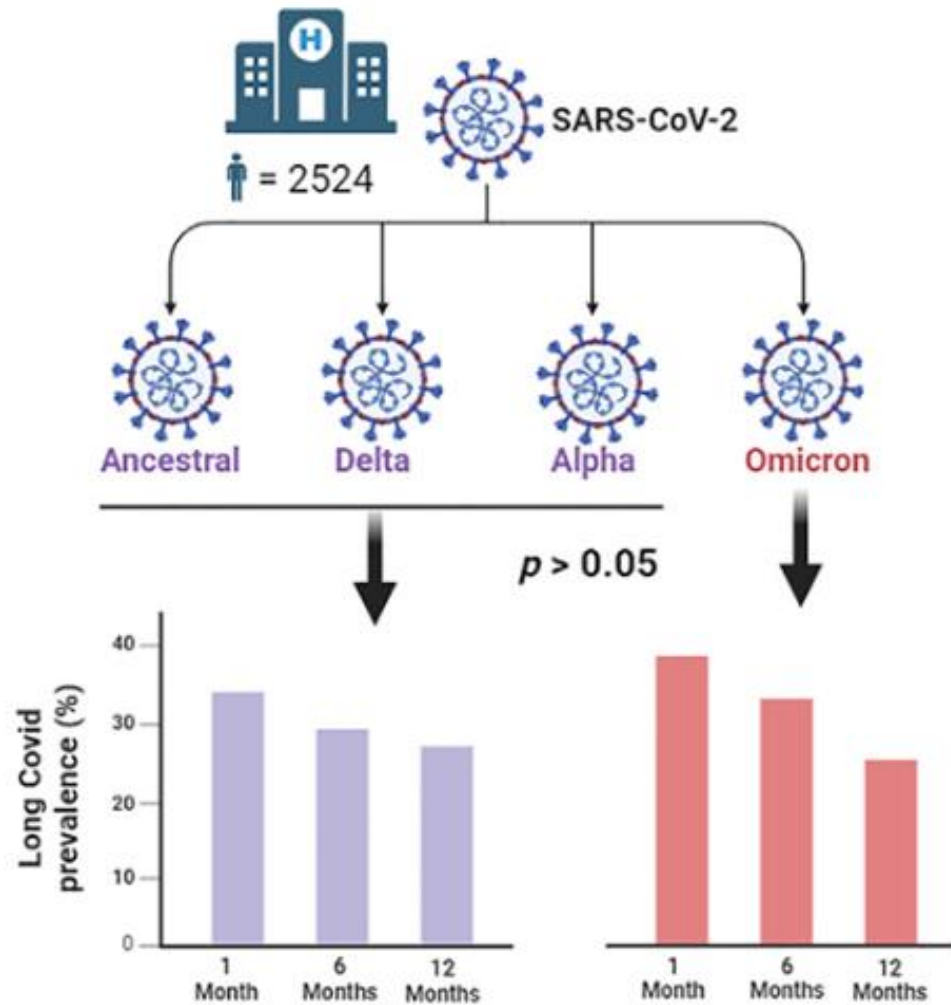


- Long COVID เกิดขึ้นได้ในผู้ป่วยประมาณ 10-20% อาจเกิดขึ้นในผู้ป่วยรายใดก็ได้ แต่มักพบบ่อยกว่าใน severe cases
- อาการที่พบบ่อยในผู้ป่วย long COVID ได้แก่ fatigue, ใจเป็นเวลานาน หายใจถี่ นอนไม่หลับ ปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ หน้าที่ของสมองในกระบวนการรับรู้ และตัดสินใจไม่ทำงาน (cognitive dysfunction- "brain fog", และอาจมีอาการอื่นๆได้อีกมากกว่า 200 ชนิด อาการจะอยู่นานหลายสัปดาห์ หลายเดือน หรือหลายปี หลังจากการติดเชื้อครั้งแรก



Acute COVID-19 usually lasts until 4 weeks from the onset of symptoms, beyond which replication-competent SARS-CoV-2 has not been isolated.

Post-acute COVID-19 is defined as persistent symptoms and/or delayed or long-term complications beyond 4 weeks from the onset of symptoms.



Specific lineages (Delta lineages AY.126 and AY.43, and Omicron sublineages BA.1.17, BA.2.56, and BA.5.1, consistently correlated with more severe symptoms.

Overall, long COVID prevalence and severity were similar across SARS-CoV-2 variants.



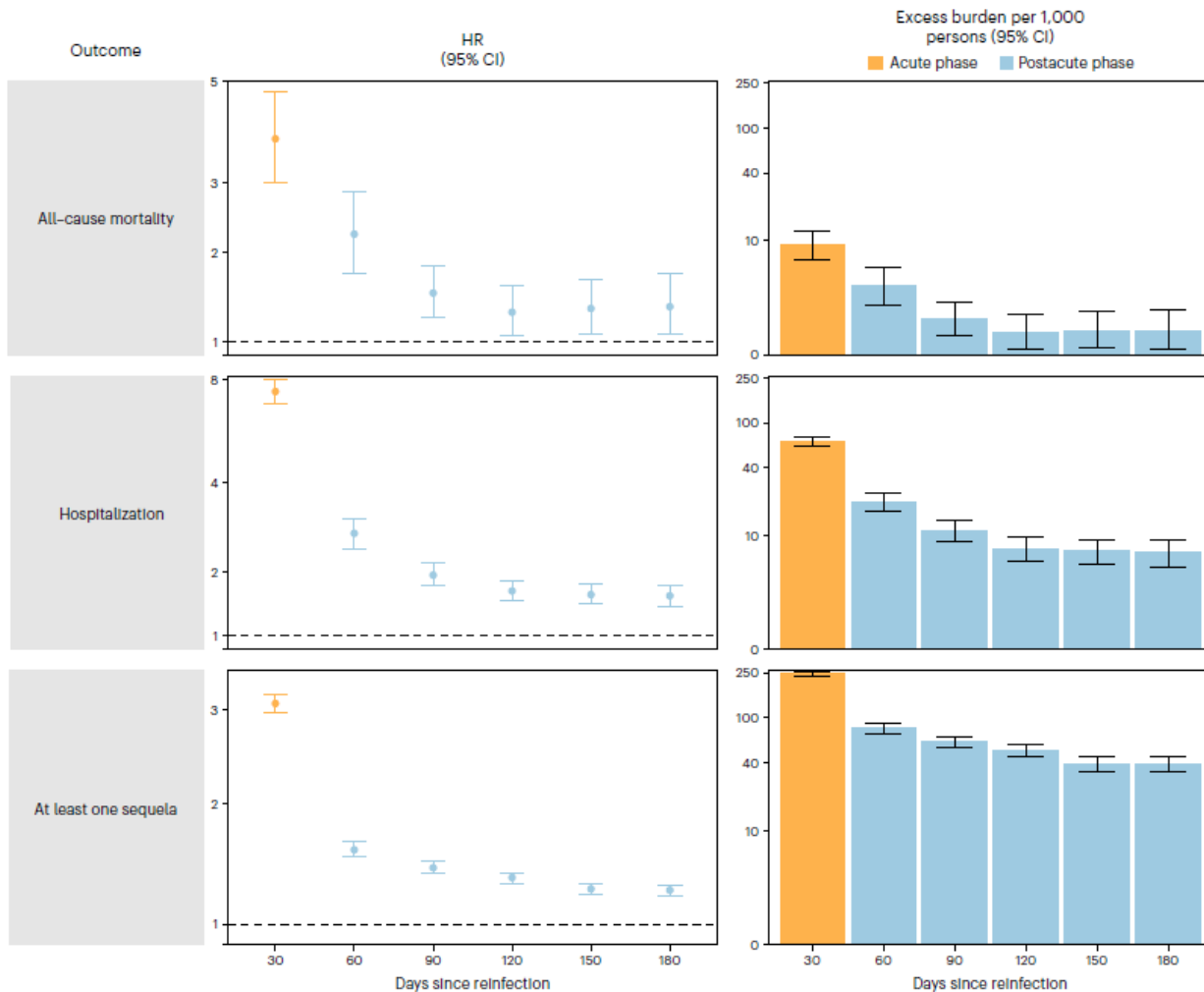
SARS-CoV-2 reinfection

- Reinfection refers to a new infection that occurs after a person has recovered from a previous infection.
- New variants can evade existing immunity.
- New positive viral markers
- Reinfection can occur several times, and can be mild or severe.

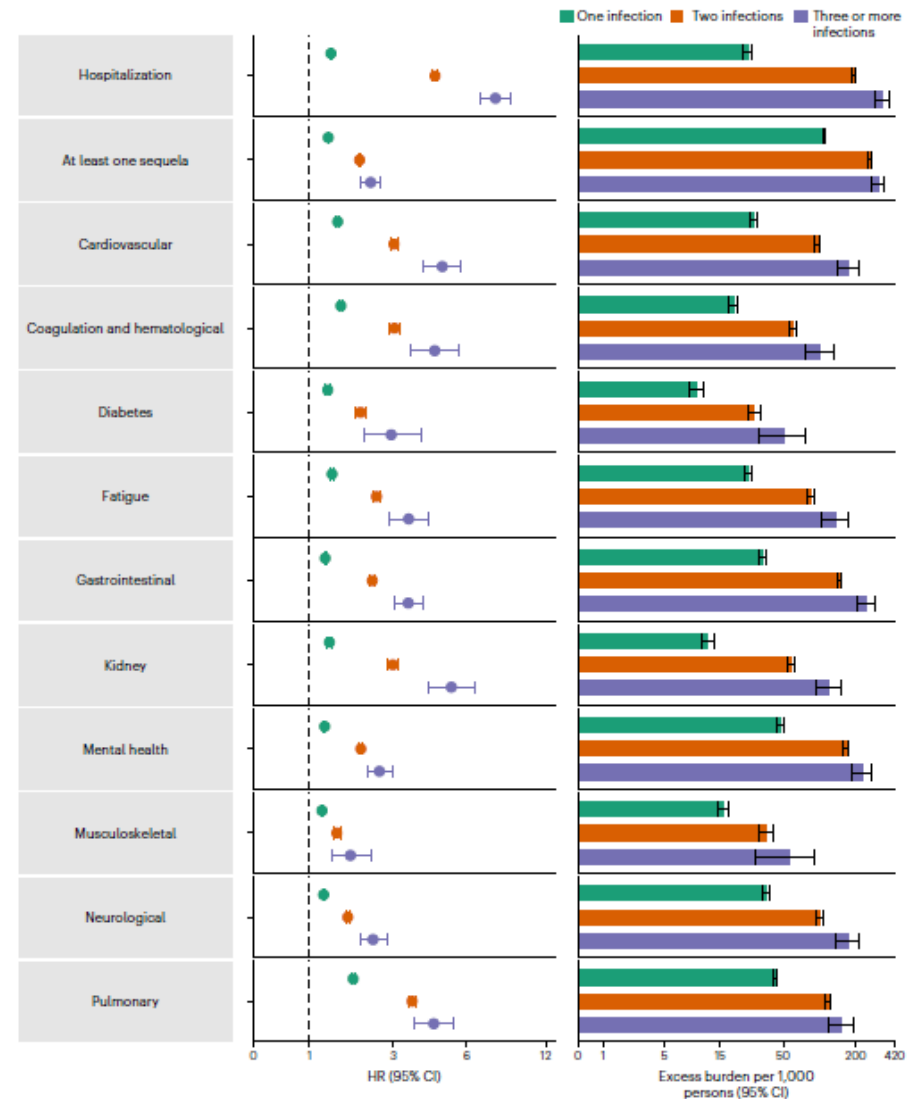
Acute and post-acute sequelae associated with SARS-CoV-2 reinfection



- A cohort of 5,819,264 people in U.S., including 443,588 with one infection, 40,947 with reinfection, and 5,334,729 non-infected controls
- People who had reinfection exhibited increased risks of all-cause mortality, hospitalization and several pre-specified outcomes.
- 92.8% had two infections.
- Time between the first and second infection was 191 d (interquartile range (IQR) = 127–330) and between the second and third was 158 d (IQR = 115–228)



Risk and burden of all-cause mortality, hospitalization and at least one sequela in the acute and post-acute phases of SARS-CoV-2 reinfection versus no reinfection.



Cumulative risk and burden of sequelae in people with 1, 2, and ≥ 3 SARS-CoV-2 infections compared to non-infected controls.

Susceptibility of animals to SARS-CoV-2

- Non-human primates
- Dogs
- Cats
- Ferrets, hamsters, rabbits
- Lions
- Bats
- Minks: Humans - Minks - Humans





ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการปฏิบัติงาน

คุณภาพของน้ำยา

- RT-PCR: Limit of detection = 1000 copies/ml หรือ 25 copies/reaction, LAMP: LOD = 4000 copies/ml
- ATK (antigen detection kits): sensitivity 90%, specificity 98%
- Antibody detection kits): sensitivity 85%, specificity 98%



ถอดบทเรียนสำหรับงานทางห้องปฏิบัติการในอนาคต

- ชนิดของตัวอย่างตรวจสำหรับการทำ RT-PCR และ ATK
น้ำลาย (deep throat saliva) หรือ respiratory samples
- สถานที่สำหรับเก็บตัวอย่างตรวจ ห้องภายในอาคาร อาคารเปิด ตู้พิเศษ รถเคลื่อนที่
- Lab certification และ proficiency test samples
- การรายงานและแปลผลการตรวจ
ชื่อ Test kits, Ct, ยีนที่ตรวจพบ อย่างน้อย 2 ยีน หรือ 2 ตำแหน่งในยีนเดียวกัน
Too long positive RT-PCR แปลว่ามี lived viruses หรือ ซากเชื้อ
ลำดับในการตรวจพบ viral markers ชนิดต่างๆ: จีโนม แอนติเจน และ แอนติบอดี