

## عنوان الاختراع

تطبيق وتركيب وسط ناقل عالمي جديد

MICROBASMED IQ VTM لنقل وحفظ عينات

فايروس كورونا المستجد covid-19

CREATION AND PREPARATION OF A NEW INTERNATIONAL  
TRANSPORT MEDIUM (MICROBASMED IQ VTM) FOR TRANSPORT  
AND PRESERVE OF CORONA VIRUS (COVID-19) SAMPLES

## اسماء المخترعين

أ.د. احسان عيدان عبد الكريم السيمري

أ.م. نظام محمد جمال الدين

أ.م.د. وجدان نزار الموسوي

م.د. دانية مضر الطريحي

أ.د. نائل حسين علي السماك

فرع الأحياء المجهرية - كلية الطب - جامعة البصرة

نقال ٠٧٨٠١٤١٠٨٢٨ E.MAIL: [ihsanalsaimary@gmail.com](mailto:ihsanalsaimary@gmail.com)

# ١- عنوان الاختراع: تخليق وتركيب وسط ناقل عالمي جديد

## MICROBASMED IQ VTM لنقل وحفظ عينات

### فايروس كورونا المستجد covid-19

## ٢- موجز الاختراع

حضر وسط ناقل جديد يستخدم لحفظ نماذج العينات المأخوذة من المريض المصاب بفايروس كورونا Covid-19 لغرض نقلها وتشخيصها باستخدام الطرق الجزيئية المعتمدة عالميا. سمي الوسط الجديد ذو اللون الاخضر MICROBASMED IQ VTM ويمكن استخدام الوسط في حفظ ونقل الفايروسات ذات الحامض النووي RNA , DNA ويحتوي الوسط في تركيبته على سكر الكلوكوز ومصل الالبومين الجيني بالإضافة الى احتواءة على مجموعة من الاملاح بتراكيز خاصة تتناسب مع حاجة فايروس كورونا والخلية المصابة للحياة والبقاء. يمكن استخدام الوسط الناقل الجديد MICROBASMED IQ VTM بديلا عن الأوساط الأخرى العالمية المعروفة كونه يحافظ على حيوية الخلية المصابة وفايروس كورونا ويوفر المكونات الكيميائية الملائمة لبقائهما و الوسط MICROBASMED IQ VTM يعتبر إضافة نوعية عالمية للأوساط الناقلة للفايروسات. كما ان الوسط الجديد يعتبر غير ملائما لمعيشة وانماء الجراثيم والفطريات كونه يحتوي على مضادات حيوية ضد جرثومية و ضد فطرية جديدة الاستخدام في هذا النوع من الاوساط. يتميز الوسط الجديد MICROBASMED IQ VTM بلونه الاخضر الناتج عن إضافة صبغة ملاكايت الخضراء والتي تعتبر كدليل كيميائي لتغير الحامضية فهو يحافظ على اللون الاخضر في الدوال الحامضية المدروسة للوسط الجديد ويفقد لون صبغته الخضراء ويتحول الى اصفر او عديم اللون في حالة انخفاض الدالة الحامضية للوسط. كما يستخدم الوسط الجديد لنقل الفايروسات ذات الحامض النووي RNA, DNA

## **1-Patent title:**

### **CREATION AND PREPARATION OF A NEW INTERNATIONAL TRANSPORT MEDIUM (MICROBASMED IQ VTM) FOR TRANSPORT AND PRESERVE OF CORONA VIRUS (COVID-19) SAMPLES**

## **2-Patent summary**

A new transport medium used to store samples of samples taken from a patient with Covid-19 virus was used for transmission and diagnosis using internationally approved molecular methods. The new medium is called the green color MICROBASMED IQ VTM. The medium can be used to preserve and transmit viruses with DNA, RNA and DNA. The medium contains in its composition sugar glucose and fetal albumin in addition to containing a group of salts with special concentrations that suit the need of the Corona virus and the infected cell for life and survival. The new carrier medium MICROBASMED IQ VTM can be used as a substitute for other global media known to preserve the viability of the infected cell and corona virus and provide chemical components appropriate for their survival. The MICROBASMED IQ VTM medium is an addition of a global quality to the virus-transmitting media. Also, the new medium is not suitable for the survival and development of germs and fungi, as it contains antibiotics against germs and against new fungi used in this type of media. The new medium MICROBASMED IQ VTM is distinguished by its green color resulting from the addition of the green malachite tincture, which is considered as a chemical guide to the change of acidity. The new medium is also used to transmit viruses with RNA and DNA

## ٣- مفصل الاختراع

### أ- مقدمة الاختراع

في عام ١٩٤٩ نجحت تجربة تكثير فيروس الشلل (حمى التهاب السنجابية *Polio virus*) في خلايا غير عصبية مزروعة في وسط غذائي تمت زراعة وتكثير فيروسات كثيرة أخرى. وبواسطة هذه الطريقة تم اكتشاف عدد من الفيروسات مثل *Echo viruses* و *Rhino viruses* كما كانت عملية تكثير وتحضير اللقاحات الفعالة ضد فيروسات مثل الشلل والحصبة وغيرها. وقد ساعدت هذه الطريقة على تفهم واكتشاف خطوات كيمياء حياتية دقيقة في مراحل نمو وتكاثر الفيروس (الحمى) في الخلية. وهناك مصادر عديدة ومجالات متخصصة في دراسات نمو وتكاثر الفيروس في الخلية النامية على وسط غذائي في المختبر. تحتوي الأوساط الغذائية المستعملة لزراعة الخلايا على مواد كيميائية محددة مثل الأملاح والجلوكوز والفيتامينات وأحماض أمينية معروفة إضافة إلى عوامل غير معروفة التركيب مثل مصل الدم والتي تحتاج إليها الخلايا أثناء نموها. تحلل هذه المواد في محلول بدرجة الأس الهيدروجيني أس هـ 7.44 وضغط أسموزي مساوي لضغط الخلايا النامية فيه. كما تضاف مضادات حياتية لمنع نمو البكتيريا والفطريات والمايكوبلازما إلى المحلول الغذائي وقد تم تحضير أوساط غذائية مختلفة يعرف كل منها حسب الباحث الذي حضره لأول مره مثل محلول أكل *Eagle medium* وغيره من الأوساط الغذائية وتتبع ثلاثة طرق للحصول على خلايا حيوانية حية في أنبوبة اختبار (أي في الزجاج) في المختبر أو ان يؤخذ عضو بكامله من الجنين في مراحل نموه الأولى وبدقة كبيرة مثل العين أو السن أو أحد الغدد ويوضع في محلول ملائم ويترك للنمو والتكامل وحدث التخصص كما يحصل في الحيوان بصورة طبيعية. وبهذه الطريقة يمكن مراقبة تطور العضو من قبل الباحث لعدة أيام وربما لعدة أسابيع ويمكن أن تستخدم هذه المزرعة لتكثير بعض الفيروسات ودراسة تأثيرها على العضو المدروس والتي يصعب دراستها في مزارع أخرى. أيضا ممكن ان تؤخذ قطع صغيرة من أنسجة معينة من أحد أعضاء الحيوان الكامل أو الجنين وتوضع في وسط ملائم للنمو فتكون مستعمرات نسيجية نامية وقد تستمر الخلايا فيها أداء وظيفتها الطبيعية الأساسية والاحتفاظ بشكلها لعدة أيام أو أسابيع. ويمكن مشاهدتها ومراقبتها من قبل الباحث. وقد بدأت زراعة الأنسجة الحيوانية بهذه الطريقة وأصبح مفهوم الزراعة النسيجية *Tissue culture* في بعض المصادر يعني كل أنواع وطرق زراعة الخلايا دون تمييز. ولذلك يجب الإشارة إلى الطريقة المستخدمة لإنماء الخلايا الحية. ويمكن استخدام مزرعة الخلايا مستمرة النمو *Continuous cell line* تتألف هذه المزرعة من نوع واحد من الخلايا التي تستطيع أن تتكاثر وتجدد زرعها باستمرار دون أن تموت. تنشأ مثل هذه الخلايا من الأنسجة السرطانية أو بنتيجة تحول *Transformation* تحدث في الخلايا المزروعة تفقدها شكلها الطبيعي والقابليات كيمياء حيوية المتخصصة فيها وبذلك تفقد تخصصها الأصلي وتكتسب تخصصا جديدا أو تعيد تخصصها *Dedifferentiation* في مزايا أخرى مثل قابلية الاستمرار في الانقسام والنمو في وسط غذائي ملائم. الخلايا المستمرة التكاثر المعروفة مثل هيل *Hela cell line* مشتقة أصلا من أنسجة سرطانية في الإنسان وهناك خلايا شائعة أخرى من هذا النوع ومستمدة من الحيوانات. يمكن الحصول على مثل هذه الخلايا (ثم تجديدها في المختبر) من مصادر متنوعة وموثوقة مثل *American type culture collection* التي تحفظ هذه الخلايا في مجتمعات خاصة وتفحصها للتأكد من خلوها من الفيروسات والمايكوبلازما. ومن المزايا المهمة لهذا النوع من الخلايا هو إمكان تكثيرها بصورة مستمرة وذلك بإعادة زرعها في فترات منتظمة. تحفظ هذه الخلايا بحيويتها عدة سنوات بعدما تعلق في الجليسرول *glycerol* أو في دايمثيل سولفوكسايد *Dimethylsulfoxide* وتحفظ في درجات حرارة ٧٠-١٩٦٦ تحت الصفر المئوي.

تعتبر الفيروسات طفيليات اجبارية لأنها لا تتكاثر إلا داخل خلايا حية. (هذا بالرغم من نجاح بعض التجارب باستخدام أوساط غذائية وعوامل مستمدة من الخلية الحية في تكثير الحامض النووي لبعض العاثيات أو ترجمة الحامض النووي للفيروس إلى البروتين في أنبوبة اختبار). ولهذا السبب يجب للأغراض التجريبية تكثير الفيروس المطلوب في كائنات حية تجريبية أو في خلايا حية تنمو على وسط غذائي غير حي.

بدأت زراعة الخلايا الحيوانية في المختبر منذ أكثر من نصف قرن وكانت أكبر عقبة أمامها هي تلوثها بالأحياء المجهرية. وبعد اكتشاف وتطور المضادات الحيوية أصبحت زراعة الخلايا عملية روتينية في بعض المختبرات. ومع ذلك فإن الاحتياطات والعمل تحت ظروف صحية لمنع التلوث لم تزل ضرورية وقد أصبح بالإمكان التغلب على مشاكل التلوث بالبكتيريا (بالجراثيم) والمايكوبلازما والفطريات وإنماء أنواع من الخلايا الحيوانية ولعدة أجيال في أنبوبة اختبار. ونظرا لحدوث بعض التغييرات أثناء استمرار تجديدها يصبح من الضروري لغرض الدراسات الطويلة الأمد أن تخزن عينات من الخلايا الأصلية وتستخدم كلما دعت الحاجة إلى مزارع جديدة وإتلاف المزرعة القديمة وعدم تجديدها. ومن المهم أن يلائم نوع الخلية نمو الفيروس والغرض من التجربة. تتكاثر بعض الفيروسات في أي نوع كان من الخلايا بينما تحتاج بعض الفيروسات إلى أنواع معينة من الخلايا. وتخدم المزارع الخلوية ثلاثة أهداف رئيسية:

دراسة التأثيرات المرضية الخلوية الظاهرية التي يسببها الفيروس تأثير الاعتلال الخلوي وكذلك تقدير تركيز الفيروس. وعادة تستخدم الخلايا النامية بشكل طبقة واحدة من النمو طبقة أحادية.

إنتاج اللقاحات وهنا توضح الأهمية على كمية الفيروس التي تنتج في المزرعة الخلوية.

دراسات كيمياء حيوية بحثه ولهذه الغاية يستخدم معظم الباحثون الخلايا المستمرة النمو بشكل خلايا معلقة في محلول **Suspended cell culture** وقد تستخدم نفس هذه الخلايا في مزرعة أحادية الطبقة لغرض تقدير تركيز فعالية الفيروس في مراحل معينة من الدراسة. [1]

تعتبر وسائط النقل الفيروسي (VTM) مناسبة لجمع ونقل وصيانة وتخزين العينات السرييرية التي تحتوي على الفيروسات أو الكلاميديا أو الميكوبلازما أو اليوريا. يحافظ على حيوية الكائن الحي لمدة ٤٨ ساعة في درجة حرارة الغرفة أو المبردة.

تتوفر VTM المعدة تجارياً في أنبوب بلاستيكي ، غطاء لولبي يحتوي على البروتين المخزن (المصل ، الألبومين ، أو الجيلاتين) والمضادات الحيوية. عادة ما يتم دمج المضادات الحيوية في وسائط النقل الفيروسية لقمع نمو البكتيريا والفطريات الملوثة ، لذلك يجب جمع عينات منفصلة من نفس الموقع إذا طُلبت أيضاً مزارع بكتيرية أو فطرية.

## ب- هدف الدراسة:

تهدف الدراسة الحالية الى تحضير تركيبية جديدة تكون عراقية الفكرة وعالمية المكونات لنقل وحفظ العينات البشرية المصابة بفايروس كورونا المستجد covid-19 من خلال استخدام مواد كيميائية عضوية وغير عضوية واملاح ومنظمات محلول لتكون بديلا عن الاوساط التجارية المعروفة ونحاول من خلال الدراسة ان تكون هذه الاوساط مفيدة في حفظ فايروس كورونا covid-19 أولا وأيضا الحفاظ على الخلية المصابة كون استمرارها في الحياة يعني بقاء الفايروس حيا لفترة زمنية معتد بها.

وبسبب عدم توفر أوساط نقل فايروس كورونا بسبب الازمة الحالية التي يعيشها العالم واغلاق المصانع والشركات من ناحية وحاجة مؤسساتنا الصحية الى أوساط كفوءة تواكب التطور العلمي وتستخدم لنقل العينات من موقع الإصابة الى مختبر التشخيص الجزيئي للفايروس الذ قد يستغرق من ٢ الى ٤٨ ساعة مما قد يسبب تضررا وموتا للفايروس . لذا هدفت الدراسة الحالية الى إيجاد تركيبية جديدة لهذه الأوساط الناقلة وإمكانية بقاء عينة الفايروس والخلية المصابة سليمة وحية داخل الوسط الناقل لفترة تتجاوز ال ٧ أيام دون الاضرار بالخلية المصاب او الفايروس .

## ت- الفن السابق:

تشير المصادر العلمية الخاصة بمنظمة الصحة العالمية WHO world health organization ومركز السيطرة على الامراض CDC center of disease control الامريكي الى عدد لا بأس به من أوساط نقل الفايروسات

لكن هذه الأوساط رغم أهميتها في نقل الفايروسات والحفاظ على حيويتها فانه لم تأخذ بنظر الاعتبار وجود الخلية المصابة وماتحتاجة من مصادر كاربونية ونايتروجينية وهايبروجينية فهي تهتم بالأساس بحياة الفايروس لذا فهي مهمة في دراسة الفايروس بمعزل عن الخلية والجسم الحي اما نقل الفايروسات من العينات البشرية بوجود الخلايا المصابة فلم تراعى بجدية في أوساط النقل تلك . ومن هنا تكونت فكرة إيجاد وسط جديد يأخذ بنظر الاعتبار وجود الفايروس في الجسم الحي وفي الخلية الحية التي يحدث الإصابة بها ولذلك روعي في تركيبته الكيميائية كل هذه الاحتياجات وهذا هو معنى تميزة العلمي العالمي

## ث-تفاصيل الفكرة

### I-طرق العمل

**MICROBASMED IQ VTM** تم تسمية الوسط الجديد باسم

VTM: VIRAL TRANSPORT MEDIUM

ويتكون الوسط من المواد التالية مع اوزانها

CaCl <sub>2</sub>	2.2 gm
Na Cl	3.6 gm
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	1.8 gm
KCl	0.9 gm
NaHCO <sub>3</sub>	2.44 gm
Glucose	14 gm
Fetal albumin serum	14 gm
Malachite Green	0.88 gm
Gentamicin	500 mg/ L
Sulfamethaxazole	0.3 / L
Oflaxacin	60 mg/ L
Nystatin	0.5 x 10 <sup>6</sup> IU/L
Distilled water	1000 ml

تذاب جميع المكونات باستخدام الصفيحة الساخنة ذات الدوار المغناطيسي hot plate magnetic

stirrer بدرجة حرارة ٤٠ °م لمدة ٤-٦ ساعات

يحضر الوسط الناقل الذي سيكون اخضر اللون بسبب صبغة ملاكايت الخضراء

بثلاث درجات حامضية 7.5 , 7.2 , pH: 6.8

باستخدام جهاز الدالة الحامضية نوع WTW , USA ويضبط الجهاز ويقبس معياريا باستخدام

محاليل قياسية 9 , 7 , pH: 4

وذلك لان منظمة الصحة العالمية تعتقد ان الدرجة المثلى للحامضية لحياة فايروس كورونا هي بحدود

pH:7.5

بينما يعتقد مركز السيطرة على الامراض CDC ان فايروس كورونا يعيش في درجة حامضية

بحدود pH: 6.9

بعد امتزاج المكونات وروقان المحلول يصفى باستخدام أوراق ترشيح مع قطن طبي ثم يعقم الوسط الناقل الجديد باستخدام عملية الترشيح filtration باستخدام مرشحات دقيقة قياس 0.22 مايكروميتر ويحفظ في قناني محكمة في: الثلجة بدرجة حرارة ٢-٨ °م لمدة اقل من ٣٠ يوما المجمدة بدرجة حرارة ١٠- إلى -٢٠ °م للحفظ لفترة زمنية طويلة لاقل من ستة اشهر الى سنة واحدة -٧٠ °م لفترات زمنية طويلة اكثر من سنة

يتميز الوسط الناقل الجديد **MICROBASMED IQ VTM** بلونه الاخضر الناتج عن إضافة صبغة ملاكايت الخضراء والتي تعتبر كدليل كيميائي لتغير الحامضية فهو يحافظ على اللون الاخضر في الدوال الحامضية المدروسة للوسط الجديد ويفقد لون صبغته الخضراء ويتحول الى اللون الأصفر او عديم اللون في حالة انخفاض الدالة الحامضية للوسط.

### الفحوصات المجرأة على الوسط الناقل الجديد

- ١- تأثير درجة الحرارة وذلك لقياس الثباتية اللونية والكيميائية وتجري بوضع الوسط الناقل الجديد في درجات حرارية مختلفة : ٤٥ و ٣٠ و ١٠ و صفر و -١٠ °م وقد تبين ثبات اللون والتركيبية الكيميائية بعد مرور اكثر من ٣ أيام على الحفظ والتعريض لهذه الدرجات الحرارية
  - ٢- التلوث الجرثومي وذلك بزراع ٠,١ مل من كل وسط على ثلاثة أنواع من الأوساط الزرعية الخاصة بالبكتريا وهي اغار الدم والاكار المغذي واکار ماكونكي ويترك في الحاضنة بدرجة حرارة ٣٧ درجة مئوية لمدة ٢٤ ساعة
  - ٣- التلوث الفطري : وذلك بزراع ٠,١ مل من كل وسط على وسط اكار دكستروز البطاطا ويترك في الحاضنة بدرجة حرارة ٣٧ و ٢٥ درجة مئوية لمدة ٢٤ الى ٩٦ ساعة.
- وقد تبين بعد انتهاء فترة الحضانة لهذه الأوساط عدم وجود أي نمو جرثومي او فطري مما يدل على نقاوة أوساط النقل وعدو تلوثها باي نوع من الجراثيم والفطريات وسلامة استخدامها لنقل عينات المصابين بفايروس كورونا



## ٤- تطبيقات الاختراع

يمكن الاستفادة من الوسط الجديد **MICROBASMED IQ VTM** في

- أ- جميع المختبرات التشخيصية الخاصة بفيروس كورونا التابعة لوزارة الصحة.
- ب- مختلف المراكز البحثية الخاصة بالفيروسات التابعة الى وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
- ت- معامل الادوية ومراكز صنع العدد الجاهزة لتشخيص الفيروسات التابعة الى وزارة الصناعة.
- ث- معامل الادوية الاهلية العراقية والعربية والأجنبية.
- ج- مكاتب ومذاخر التجهيزات المختبرية والطبية الحكومية والاهلية

## ٥- مميزات الاختراع

- ١- الوسط **MICROBASMED IQ VTM** : يستخدم الوسط الناقل الجديد في حفظ العينات المأخوذة من فم وبلعوم وانف المريض المصاب بفيروس كورونا Covid-19 لغرض نقلها وتشخيصها باستخدام الطرق الجزيئية المعتمدة عالمياً وهذا الوسط يستخدم لأول مرة في هذه الدراسات وهو عراقي الفكرة والاصالة.
- ٢- الوسط الجديد يعتبر غير ملائماً لمعيشة وانماء الجراثيم والفطريات كونه يحتوي على مضادات حيوية ضد جرثومية وضد فطرية
- ٣- يتميز الوسط الجديد **MICROBASMED IQ VTM** بلونه الاخضر الناتج عن إضافة صبغة ملاكايت الخضراء والتي تعتبر كدليل كيميائي لتغير الحامضية فهو يحافظ على اللون الاخضر في الدوال الحامضية المدروسة للوسط الجديد ويفقد لون صبغته الخضراء ويتحول الى اللون الأصفر او عديم اللون في حالة انخفاض الدالة الحامضية للوسط.
- ٤- مكونات الوسط الجديد توفر بيئة مناسبة للحفاظ على الفيروس والخلية المصابة لما تمتلكه من مصادر كاربونية ونيروجينية وهيدروجينية وغيرها.
- ٥- يستخدم الوسط الجديد لنقل الفيروسات ذات الحامض النووي RNA, DNA

## ٦- الادعاءات (عناصر الحماية)

### العناصر الجديدة في الاختراع المراد حمايتها

- ١ - تخليق وتركيب وسط ناقل عالمي جديد MICROBASMED IQ VTM لنقل وحفظ عينات فايروس كورونا المستجد covid-19
- ٢ - إشارة الى الادعاء رقم ١ يتكون الوسط من املاح مغذية ومنظمات دوال حامضية يحتاجها الفايروس في عملية التضاعف والتخليق بالإضافة الى احتواء تركيبته على الكلوكوز كمصدر كاربوني للطاقة ومصل الالبومين الجيني كمصدر نايتروجيني وهي هامة لحياة الفايروس والخلية المصابة.
- ٣ - إشارة الى الادعاء رقم ١ يتميز وسط MICROBASMED IQ VTM باحتواءه على أربعة مضادات فعالة للحد من نمو البكتريا موجبة والسالبة لصبغة غرام وهي الجنتاميسين والسلفاميثاكسازول والسالفكسسين ومضاد الفطريات الفعال نيساتين وهي اول مرة تستخدم فيها هذه المضادات الحيوية في هذا النوع من أوساط النقل.
- ٤ - إشارة الى الادعاء رقم ١ يمكن استخدام الوسط الجديد في النقل والحفاظ على عينات فايروس كورونا الماخوذة من الشخص المصاب لحين وصوله الى مختبر الكشف الجزيئي عن الفايروس وهو وسط عراقي الاكتشاف ويستخدم لأول مرة عالميا في مثل هذه الدراسات .

- 1-WHO , 2020 . Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases.
- 2-. Abad, F., R. Pinto, and A. Bosch. 1994. Survival of enteric viruses on environmental fomites. *Appl. Environ. Microbiol.* 60:3704–3710.
3. Bean, B., B. Moore, B. Sterner, L. Peterson, D. Gerding, and H. Balfour, Jr. 1982. Survival of influenza viruses on environmental surfaces. *J. Infect. Dis.* 146:47–51.
4. Blachere, F., W. Lindsley, T. Pearce, S. Anderson, M. Fisher, R. Khakoo, B. Meade, O. Lander, S. Davis, and R. Thewlis. 2009. Measurement of airborne influenza virus in a hospital emergency department. *Clin. Infect. Dis.* 48: 438–440.
- 5- Spence, S. Paton, and B. Henry. 2005. Detection of airborne severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus and environmental contamination in SARS outbreak units. *J. Infect. Dis.* 191:1472–1477.
- 6- Casanova, L., W. Rutala, D. Weber, and M. Sobsey. 2009. Survival of surrogate coronaviruses in water. *Water Res.* 43:1893–1898.
- 7- Chu, C., V. Cheng, I. Hung, K. Chan, B. Tang, T. Tsang, K. Chan, and K. Yuen. 2005. Viral load distribution in SARS outbreak. *Emerg. Infect. Dis.* 11:1882–1886.
- 8- Cox, C. 1993. Roles of water molecules in bacteria and viruses. *Origins Life Evol. Biosph.* 23:29–36.
- 9- Dowell, S., J. Simmerman, D. Erdman, J. Wu, A. Chaovavanich, M. Javadi, J. Yang, L. Anderson, S. Tong, and M. Ho. 2004. Severe acute respiratory syndrome coronavirus on hospital surfaces. *Clin. Infect. Dis.* 39:652–657.
- 10- Harper, G. 1961. Airborne micro-organisms: survival tests with four viruses. *J. Hyg.* 59:479–486.
- 11- Harper, G. 1963. The influence of environment on the survival of airborne virus particles in the laboratory. *Arch. Virol.* 13:64–71.
- 12- Hemmes, J., K. C. Winkler, and S. M. Kool. 1960. Virus survival as a seasonal factor in influenza and poliomyelitis. *Nature* 188:430–431.
- 13- Hung, I. F., V. C. Cheng, A. K. Wu, B. S. Tang, K. H. Chan, C. M. Chu, M. M. Wong, W. T. Hui, L. L. Poon, D. M. Tse, K. S. Chan, P. C. Woo, S. K. Lau, J. S. Peiris, and K. Y. Yuen. 2004. Viral loads in clinical specimens and SARS manifestations. *Emerg. Infect. Dis.* 10:1550–1557.
- 14- Ijaz, M., A. Brunner, S. Sattar, R. Nair, and C. Johnson-Lussenburg. 1985. Survival characteristics of airborne human coronavirus 229E. *J. Gen. Virol.* 66:2743–2748.
- 15- Jackwood, M. W. 2006. The relationship of severe acute respiratory syndrome coronavirus with avian and other coronaviruses. *Avian Dis.* 50:315–320.
- 16- Kim, S., M. Ramakrishnan, P. Raynor, and S. Goyal. 2007. Effects of humidity and other factors on the generation and sampling of a coronavirus

aerosol. *Aerobiologia* 23:239–248.

17- Mbithi, J., V. Springthorpe, and S. Sattar. 1991. Effect of relative humidity and air temperature on survival of hepatitis A virus on environmental surfaces. *Appl. Environ. Microbiol.* 57:1394–1399.

18- McDonald, L., A. Simor, S. IhJen, S. Maloney, M. Ofner, C. KowTong, J. Lando, A. McGeer, L. MinLing, and D. Jernigan. 2004. SARS in healthcare facilities, Toronto and Taiwan. *Emerg. Infect.*

19-Alexander I, Ashley CR, Smith KJ, Harbour J, Roome AP, Darville JM. Comparison of ELISA with virus isolation for the diagnosis of genital herpes. *J Clin Pathol.* 1985 May;38(5):554–557.

20- ALLEN EG, KANEDA B, GIRARDI AJ, SCOTT TFM, SIGEL MM. Preservation of viruses of the psittacosis-lymphogranuloma venerum group and herpes simplex under various conditions of storage. *J Bacteriol.* 1952 Mar;63(3):369–376.

21-Amies CR. A modified formula for the preparation of Stuart's Transport Medium. *Can J Public Health.* 1967 Jul;58(7):296–300.

22-Arvin AM, Hensleigh PA, Prober CG, Au DS, Yasukawa LL, Wittek AE, Palumbo PE, Paryani SG, Yeager AS. Failure of antepartum maternal cultures to predict the infant's risk of exposure to herpes simplex virus at delivery. *N Engl J Med.* 1986 Sep 25;315(13):796–800.

23-Barnard DL, Farnes K, Richards DF, Croft GF, Johnson FB. Suitability of new chlamydia transport medium for transport of herpes simplex virus. *J Clin Microbiol.* 1986 Nov;24(5):692–695.

24-Bettoli EJ, Brewer PM, Oxtoby MJ, Zaidi AA, Guinan ME. The role of temperature and swab materials in the recovery of herpes simplex virus from lesions. *J Infect Dis.* 1982 Mar;145(3):399–399.

25-Bishai FR, Labzoffsky NA. Stability of different viruses in a newly developed transport medium. *Can J Microbiol.* 1974 Jan;20(1):75–80.

26-BOVARNICK MR, MILLER JC, SNYDER JC. The influence of certain salts, amino acids, sugars, and proteins on the stability of rickettsiae. *J Bacteriol.* 1950 Apr;59(4):509–522.

27-Brown ZA, Vontver LA, Benedetti J, Critchlow CW, Sells CJ, Berry S, Corey L. Effects on infants of a first episode of genital herpes during pregnancy. *N Engl J Med.* 1987 Nov 12;317(20):1246–1251.

28- Chaniot SC, Holmes MJ, Stott EJ, Tyrrell DA. An investigation of media for the long term storage of three respiratory viruses. *Arch Gesamte Virusforsch.* 1974;44(4):396–400.

29-Chonmaitree T, Ford C, Sanders C, Lucia HL. Comparison of cell cultures for rapid isolation of enteroviruses. *J Clin Microbiol.* 1988 Dec;26(12):2576–2580.

30-Crane LR, Gutterman PA, Chapel T, Lerner AM. Incubation of swab materials with herpes simplex virus. *J Infect Dis.* 1980 Apr;141(4):531–531.

31-Dahling DR, Wright BA. Processing and transport of environmental virus samples. *Appl Environ Microbiol.* 1984 Jun;47(6):1272–1276.

32- Darougar S, Walpita P, Thaker U, Goh BT, Dunlop EM. A rapid and sensitive culture test for the laboratory diagnosis of genital herpes in women. *Genitourin Med.* 1986 Apr;62(2):93–96.

- 33-Fung JC, Shanley J, Tilton RC. Comparison of the detection of herpes simplex virus in direct clinical specimens with herpes simplex virus-specific DNA probes and monoclonal antibodies. *J Clin Microbiol.* 1985 Nov;22(5):748–753.
- 34- Gallo D, Kimpton JS, Johnson PJ. Isolation of human immunodeficiency virus from peripheral blood lymphocytes stored in various transport media and frozen at -60 degrees C. *J Clin Microbiol.* 1989 Jan;27(1):88–90.
- 35-Gleaves CA, Wilson DJ, Wold AD, Smith TF. Detection and serotyping of herpes simplex virus in MRC-5 cells by use of centrifugation and monoclonal antibodies 16 h postinoculation. *J Clin Microbiol.* 1985 Jan;21(1):29–32.
- 36- HAMBLING MH. SURVIVAL OF THE RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS DURING STORAGE UNDER VARIOUS CONDITIONS. *Br J Exp Pathol.* 1964 Dec;45:647–655.
- 37-Hoffmann BE, Jungkind DL, Haller GJ, Sharrar R, Baker RA, Weisberg M. Evaluation of two rapid methods for the detection of herpes simplex virus antigen in patient specimens. *Ann Clin Lab Sci.* 1985 Sep-Oct;15(5):418–427.
- 38- Howell CL, Miller MJ. Effect of sucrose phosphate and sorbitol on infectivity of enveloped viruses during storage. *J Clin Microbiol.* 1983 Sep;18(3):658–662.
- 39-Huntoon CJ, House RF, Jr, Smith TF. Recovery of viruses from three transport media incorporated into culettes. *Arch Pathol Lab Med.* 1981 Aug;105(8):436–437.
- 40- Johnson FB, Leavitt RW, Richards DF. Evaluation of the virocult transport tube for isolation of herpes simplex virus from clinical specimens. *J Clin Microbiol.* 1984 Jul;20(1):120–122.
- 41-Joret JC, Block JC. Survie de virus entériques adsorbés sur microfibre de verre au cours d'un transport postal. *Can J Microbiol.* 1981 Feb;27(2):246–248.
- 42- Langenberg A, Zbanyszek R, Dragavon J, Ashley R, Corey L. Comparison of diploid fibroblast and rabbit kidney tissue cultures and a diploid fibroblast microtiter plate system for the isolation of herpes simplex virus. *J Clin Microbiol.* 1988 Sep;26(9):1772–1774.
- 43-Law TJ, Hull RN. The stabilizing effect of sucrose upon respiratory syncytial virus infectivity. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1968 Jun;128(2):515–518.
- 44-Leibovitz A. A transport medium for diagnostic virology. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1969 May;131(1):127–130.
- 45- Mayo DR, Brennan T, Egbertson SH, Moore DF. Rapid herpes simplex virus detection in clinical samples submitted to a state virology laboratory. *J Clin Microbiol.* 1985 May;21(5):768–771.
- 46-McCaustland KA, Bond WW, Bradley DW, Ebert JW, Maynard JE. Survival of hepatitis A virus in feces after drying and storage for 1 month. *J Clin Microbiol.* 1982 Nov;16(5):957–958.
- 47-Nahmias A, Wickliffe C, Pipkin J, Leibocitz A, Hutton R. Transport media for herpes simplex virus types 1 and 2. *Appl Microbiol.* 1971 Sep;22(3):451–454.
- 48- Oefinger PE, Loo SH, Gander RM. Modified spin-amplified adsorption procedure with conventional tissue culture tubes for rapid detection and increased recovery of herpes simplex virus from clinical specimens. *J Clin Microbiol.* 1988 Oct;26(10):2195–2199.

- 49-Perez TR, Mosman PL, Juchau SV. Experience with Virocult as a viral collection and transportation system. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1984 Jan;2(1):7–9.
- 50- Peterson EM, Hughes BL, Aarnaes SL, de la Maza LM. Comparison of primary rabbit kidney and MRC-5 cells and two stain procedures for herpes simplex virus detection by a shell vial centrifugation method. *J Clin Microbiol*. 1988 Feb;26(2):222–224.
- 51-Phillips LE, Magliolo RA, Stehlik ML, Whiteman PA, Faro S, Rogers TE. Retrospective evaluation of the isolation and identification of herpes simplex virus with Cultureset and human fibroblasts. *J Clin Microbiol*. 1985 Aug;22(2):255–258.
- 52- Rodin P, Hare MJ, Barwell CF, Withers MJ. Transport of herpes simplex virus in Stuart's medium. *Br J Vener Dis*. 1971 Jun;47(3):198–199.
- 53-Rutala WA, Shelton DF, Arbiter D. Comparative sensitivities of viruses to cell cultures and transport media. *Am J Clin Pathol*. 1977 Apr;67(4):397–400.
- 54- Schoenemann W. Haltbarkeit von Herpesviren in verschiedenen Transportmedien. *Z Hautkr*. 1980 Jul 15;55(14):938–942.
- 55-Smith TF. Clinical uses of the diagnostic virology laboratory. *Med Clin North Am*. 1983 Sep;67(5):935–951.
- 56- Smith TF, Weed LA, Pettersen GR, Segura JW. Recovery of Chlamydia and Genital Mycoplasma transported in sucrose phosphate buffer and urease color test medium. *Health Lab Sci*. 1977 Jan;14(1):30–34.
- 57-STUART RD. Transport medium for specimens in public health bacteriology. *Public Health Rep*. 1959 May;74(5):431–438.
- 58- Tada A, Sekine N, Toba M, Yoshino K. An analysis of factors influencing the isolation rate of herpes simplex virus. *Microbiol Immunol*. 1977;21(4):219–229.
- 59-Tannock GA, Hierholzer JC, Bryce DA, Chee CF, Paul JA. Freeze-drying of respiratory syncytial viruses for transportation and storage. *J Clin Microbiol*. 1987 Sep;25(9):1769–1771.
- 60- Valenti WM, Menegus MA. Nosocomial viral infections: IV. Guidelines for cohort isolation, the communicable disease survey, collection, and transport of specimens for virus isolation, and considerations for the future. *Infect Control*. 1981 May-Jun;2(3):236–245.
- 61-Wallis C, Melnick JL. Stabilization of enveloped viruses by dimethyl sulfoxide. *J Virol*. 1968 Sep;2(9):953–954.
- 62- Warford AL, Eveland WG, Strong CA, Levy RA, Rekrut KA. Enhanced virus isolation by use of the transporter for a regional laboratory. *J Clin Microbiol*. 1984 Apr;19(4):561–562.
- 63-Warford AL, Rekrut KA, Levy RA, Drill AE. Sucrose phosphate glutamate for combined transport of chlamydial and viral specimens. *Am J Clin Pathol*. 1984 Jun;81(6):762–764.
- 64- Waris M, Halonen P, Ziegler T, Nikkari S, Obert G. Time-resolved fluoroimmunoassay compared with virus isolation for rapid detection of respiratory syncytial virus in nasopharyngeal aspirates. *J Clin Microbiol*. 1988 Dec;26(12):2581–2585.

- 65-West PG, Aldrich B, Hartwig R, Haller GJ. Increased detection rate for varicella-zoster virus with combination of two techniques. *J Clin Microbiol.* 1988 Dec;26(12):2680–2681.
- 66- Woods GL, Mills RD. Conventional tube cell culture compared with centrifugal inoculation of MRC-5 cells and staining with monoclonal antibodies for detection of herpes simplex virus in clinical specimens. *J Clin Microbiol.* 1988 Mar;26(3):570–572.
- 67-Woods GL, Mills RD. Effect of dexamethasone on detection of herpes simplex virus in clinical specimens by conventional cell culture and rapid 24-well plate centrifugation. *J Clin Microbiol.* 1988 Jun;26(6):1233–1235.
- 68- Yeager AS, Morris JE, Prober CG. Storage and transport of cultures for Herpes simplex virus, type 2. *Am J Clin Pathol.* 1979 Dec;72(6):977–979.
- 69-Ziegler T, Waris M, Rautiainen M, Arstila P. Herpes simplex virus detection by macroscopic reading after overnight incubation and immunoperoxidase staining. *J Clin Microbiol.* 1988 Oct;26(10):2013–2017.



## الصور التوضيحية المرتبطة بالوسط الناقل لفايروس كورونا Covid-19











