IQ (19)
جمهورية العراق
وزارة التخطيط
الجهاز المركزي للتقييس والسيطرة النوعية

براءة اختراع

(12)

(11) رقم البراءة :6708 (51) التصنيف الدولي : C12Q1/70

(21) رقم الطلب : 2020/160

(22) تاريخ تقديم الطلب: 2020/4/13 (52) التصنيف العراقي 6

(30) تاريخ طلب الأسبقية - بلد الأسبقية - رقم طلب الأسبقية

(45) تاريخ منح البراءة: 11/ 7/ 2021

(72) اسم المخترع وعنوانه:
1-أ.د.سعد شاهين حمادي / رئيس جامعة البصرة
2 - أ.م.د. حسين كاطع عبد السادة / جامعة البصرة/ كلية طب الزهراء /رئيس فرع الاحياء المجهرية
3- م.م.رشا نوري جواد /الجامعة التقنية الجنوبية /المعهد التقني البصرة /قسم التمريض
4-أ.د. مازن هواز عبد الرضا / جامعة البصرة/ كلية طب الزهراء /العميد
5-م.م.رافد عبد الرؤوف دولاب /جامعة البصرة /كلية الصيدلة
6-م.د.رغدان هاشم محسن /جامعة البصرة / كلية الزراعة /قسم الانتاج الحيواني
7-أ.د. فلاح حسن شري /جامعة البصرة /كلية الصيدلة
8- أ.د.ضياء فالح عبد الله / جامعة البصرة / كلية الزراعة
9-أ.د.عدنان عيسى فلحي / جامعة البصرة /كلية العلوم
10-د.عواطف عزيز حبيب / مدير مكتب منظمة الصحة العالمية في المنظمة الجنوبية في العراق
11- أ.د. محمد حمزة عباس / جامعة البصرة /كلية الزراعة
(73) اسم صاحب البراءة : الـــذوات أعـــلاه
(74) اسم الـــوكيل:

(54) تسمية الأختراع:

انتاج عدة لجمع عينات السعال لفحص تواجد فيروس كورونا المستجد من المصابين .

منحت هذه البراءة استنـــادا لأحكام المـــادة (21) مـــن قـــانون براءة الأختراع والنماذج الصناعية والمعلومات غيـــر المفصح عـــنهـــا والـــدوائـــر المتكاملـــة والاصنـــاف النباتـــيـــة رقم (65) لســـنة 1970 المعدل وعلـــى مسؤولية المختـــرع.

د.حسين علي داود
توقيع المسجل
رئيس الجهاز

بسم الله الرحمن الرحيم

عنوان الاختراع:

انتاج عدة لعزل عينات السعال لفحص تواجد فيروس كورونا المستجد.

“Producing collection kit for SARS-COV-2 by coughing”

اسماء المخترعين وعناوينهم:

1- أ.د. سعد شاهين حمادي – رئيس جامعة البصرة.

2- أ.م.د. حسين كاطع عبد السادة (رئيس فرع الاحياء المجهرية - كلية طب الزهراء- جامعة البصرة).

Email: noorhus2013@yahoo.com; Mobile: 07733975916

3-م.م. رشا نوري جواد (المعهد التقني البصره / قسم التمريض/ الجامعة التقنية الجنوبية).

4- أ.د. مازن هواز عبد الرضا (عميد كلية طب الزهراء- جامعة البصرة).

5- م.م. رافد عبدالرؤوف دولاب (مسؤول وحدة المجهر الالكتروني/ كلية الصيدلة / جامعة البصرة)
Email: dolab2005@yahoo.com , Mobile: 07703260397 .

6- م.د. رغدان هاشم محسن (كلية الزراعة / جامعة البصرة).

7- أ.م.د. فلاح حسن شري(عميد كلية الصيدلة / جامعة البصرة).

8-أ.د. ضياء فالح الفكيكي (قسم علوم الاغذية/ كليه الزراعة / جامعة البصرة).

9- أ.د. عدنان عيسى البدران (كلية العلوم / جامعة البصرة).

10- عواطف عزيز حبيب العقابي (مدير مكتب منظمة الصحة العالمية في المنطقة الجنوبية في العراق.

11- أ.د. محمد حمزة عباس (كلية الزراعة – جامعة البصرة).

عنوان الاختراع:

انتاج عدة لعزل فايروس كورونا المستجد عن طريق السعال

"Producing collection kit foe SARS-COV-2 by coughing"

الموجز

تضمنت الدراسة انتاج كت لعزل فيروس كورونا المستجد من رذاذ سعال المصابين بالمرض. يحتوي الكت على فلتر ورقي معقم مخروطي الشكل يمثل غطاءاً للفم والانف لاستخدامه للتنفس بقوة اومحاولة السعال فيه لمرات عديدة. يوضع في الفلتر الورقي مسحة من البوليستر بوليمر والتي سيتساقط الرذاذ عليها اثناء السعال ثم تسحب من داخل الفلتر الورقي لتوضع في انبوب الوسط الناقل للفيروس Viral Transport Media الذي يخصص لنقل الفيروس. ثم ينقل الوسط مع المسحة الى المختبر لفحص العينة بجهاز RT-PCR. تبين ان هذا الكت اكثر دقة بنسبة 40% من مسحات البلعوم والانف البلعومية في عزل عينات فيروس كورونا المستجد من المرضى المصابين.

توصلت الدراسة الى:

1- انتاج كت قادر على عزل فيروس كورونا من السعال للمرضى المصابين بنجاح.
2- الكت سهل الاستخدام مقارنة باخذ عينات مسحات البلعوم والانف البلعومي واكثر دقة منها.

Summary:

The study produced an isolation kit for new coronavirus (SARS-COV-2) by sputum of the patients. The kit composed of a sterile cone shape made from a filter paper, which can cover the mouth and the nose of the patient. The cone filter contains a polyester polymer swab. The patient use to cough and breathe deeply on the cone to allow the droplets of the sputum to be on the swab. The swab then take off from the cone and put in the viral transport media to carry to the laboratory to test by RT-PCR. The kit revealed 40% results better than using of pharyngeal or nasopharyngeal swab.

Study conclusion:

1- Produce a kit to isolate coronavirus (SARS-COV-2) from sputum of the patients.
2- The kit of sputum is easy to use comparing with pharyngeal and nasopharyngeal swabs.

المفصل:

أ- المقدمة:

يعتبر فيروس كورونا المستجد SARS-COV2 احد الانواع الفيروسية المتطورة من عائلة الفيروسات التاجية Coronaviruses والذي يسبب التهاب الجهاز التنفسي الحاد ومنه اشتق اسمه. ظهر المرض في مدينة ووهان الصينية ثم سجل في العديد من دول العالم حتى اعلنت منظمة الصحة العالمية اعتباره وبائا عالميا بتاريخ 2020/3/11.(World Health Organization ,2020) حيث سجلت 121,564حالة اصابة في اكثر من 110 دولة في العالم وسجلت 4373 حالة وفاة في ذلك التاريخ (Dong and et al, 2020).

اثبتت الدراسات ان كمية الفيروس Viral load التي تعزل من عينات اشخاص مصابين مع ظهور اعراض Symptomatic مساوية لاعداد الفيروسات في العينات الماخوذة من الاشخاص الذين لا تظهرعليهم اعراض (Zou and et al., 2020). اعتمدت البروتوكولات الصحية النافذه من منظمة الصحة العالمية في اخذ العينات من البلعوم او البلعوم الانفي للاشخاص المصابين(World Health Organization ,2020). في حين بينت العديد من الدراسات ان عزل الفيروس من عينات البلغم Sputum كان اكثر فعالية من عزله من منطقة الانف (Han and et al., 2020). في حين تم عزل الفيروس من اللعاب بشكل فعال باستخدام Drool saliva collection method (Azzi and et al., 2020) . يعتبر البلغم Sputum و افرازات البلعوم الفمي Oropharyngeal من العينات الاساسية لفحص تواجد الفيروس باستخدام تقنية ال RT-PCR (To and et al., 2020). كما ان ذرات اللعاب اعتبرت المصدر الاساسي لانتقال فيروس كورونا من شخص الى اخر بحسب العديد من الدراسات (Tain, 2020 ; To and et al., 2020). كما ثبت علميا ان جميع الفيروسات التي تصيب الجهاز التنفسي تتواجد بشكل كثيف في اللعاب و رذاذ التنفس ويمكن الكشف عنها مباشرة منها (Roy and Milton, 2004; Yu et al., 2004). كذلك فان سيناريوهات انتقال الفيروسات Foot-Mouth Disease Viruses (FMD) عن طريق الهواء تعتبر من اسوء السيناريوهات حيث تبين انتقال الفيروس الى مسافات تتراوح بين 20-300 كيلو متر من مصدر الاصابة (Donaldson and Alexandersen, 2002). في حين تشير الدراسات الوبائية ان الفيروسات FMD الذي انتشر في المملكة المتحدة بين عامي 1967-1968 و بين عامي 1982-1983 في الدنمارك قد انتقل عن طريق الهواء لمسافات بين 60 و 70 كيلو متر على التوالي(Christensen et al.2005; Gloster et al., 200) . تشير دراسات اخرى ان فايروس السارس SARS (Sever Acute Respiratory Syndrome) الذي انتشر كوباء في هونكونك عام 2003 وهو احد الفيروسات التاجية المشابهة لفيروس كورونا المستجد قد يكون انتشر عن طريق الرذاذ (Olsen et al., 2003; Yu et al., 2004; Morawska, 2006). كما اشارت اغلب الدراسات الى انتقال فيروس كورونا المستجد عن طريق ثلاث آليات تنتج خلالها جزيئات تنفسية أصغر حجمًا ("الهباء الجوي") والتي إذا تم استنشاقها يمكن أن تترسب في الممرات الهوائية للشخص الموجود في المكان. وتشمل هذه الاليات:

1- نشاط الحنجرة مثل الكلام ,والتي يمكنها نقل جزيئات اكبر من 1 ميكرومتر.

2- تدفق الهواء بشكل سريع وفتح وإغلاق دوري للممرات الهوائية الطرفية كالهواء الخارج بقوة كال النفخ والتاوهة والتي تنتقل بها جزيئات بحجم 2-5 ميكرومتر.

3- دورة التنفس المفتوحة - قريبة من الشعب الهوائية الطرفية والتي يمكنها نقل جزيئات قطرها أقل من 1 ميكرومتر. وفي جميع الاحوال فان اي زفير ينتجه المصاب يكون مصاحبا لجزيئات من الهواء بمختلف الأحجام وهي بدورها قادرة على احداث الاصابة. (World Health Organisation (B), 2020; Bourouiba, 2020) الهواء الخارج من الحديث مع الاشخاص المصابين او من التنفسهم ايضا قد يكون سبب في الاصابة (Ningthoujam, 2020).

من كل ما تقدم يتبين انه من الافضل عزل الفيروس والكشف عنه من خلال التنفس العميق والسعال وهذا ما استهدفته الدراسة من خلال انتاج كت يعزل الفيروس من السعال والتنفس العميق.

الفن السابق:

من خلال الاعتماد على حجم الفيروسات التي يمكنها ان تصيب الجهاز التنفسي، تم التفكير باجهزة يمكنها عزل الفيروسات من عينات الهواء الخارج من الفم او الانف عن طريق الزفير او عن طريق اللعاب المتجمع في الفم. فقد قام (Andersen, 1958; 1966) في عامي 1958 و 1966 بانتاج جهاز لعزل عينات من الجزيئات الحية من زفير الاشخاص المصابين بامراض الجهاز التنفسي.يتمالتنفس من الفم لعدة مرات داخل الجهازالذي يحتوي الجهاز على فلاتر لستة مراحل فلترة لعزل الجزيئات الحية بمختلف الاحجام مع وجود وسط لعزل البكتريا الموجودة في زفير الاشخاص المفحوصين. ثم يتم فحص ما تم عزلة من عينات على الوسط. كما يمكن استخدام جهاز اندرسون لعزل الفيروسات في الفلاتر الموجودة ضمن الجهاز (Anderson, 1958). كما استخدم جهاز زجاجي يحتوي على سائل لجمع عينات الفيروسات المتواجدة في الهواء سمي Liquid impinger او proton impinge والذي حضر من قبل May and Harper (1957). يحتوي الجهاز على انبوب صغير ينتقل الزفير من خلاله ليرتطم بالماء الموجود في اسفل الجهاز وينتقل العينات من الزفير الى الماء ثم يفحص. الفلاتر ايضا استخدمت كثيرا لعزل الفيروسات العالقة في الزفير الخارج من الانسان. استخدمت العديد من الفلاتر تختلف بقياسات الثقوب التي تحويها و سمكهـــا (Hinds, 1999). وكان اول انواع الفلاتر المستخدمة من قبل Meiklejohn وجماعته عام (1961) والتي استخدمت لعزل فيروس الفاريولا Variola virus من عائلة فايروسات Poxviridae. استخدم بعد ذلك فلاتر السليلوز بحجم ثقوب 0.45 مايكروميتر لعزل فيروس varicella-zoster ذي الحجم 200 نانوميتر من رذاذ المصابين الذين قد يتطورعندهم الفيروس ليشكل ذات الرئة الفيروسي. وكذلك لعزل فيروس respiratory syncytial virus ذي الحجم 150 نانوميتر (Aintablian et al., 1998; Sawyer et al., 1994). انواع اخرى من الفلاتر انتجت مثل البوليكاربونيت polycarbonate filters و فلاتر Polytetrafluoroethylene (PTFE) (Burton et al., 2007; McCluskey et al., 1996) وكلها تهدف الى عزل الفيروسات المتواجدة في مجرى التنفس والتي يمكن ان تخرج مع الرذاذ المتطاير من الشخص الحامل للفيروس.

استخدمت العديد من التجارب لعزل الفيروسات المتواجدة في محيط الفم والرئتين والتي تخرج مع الرذاذ او السعال. وقمنا في جامعة البصرة بانتاج كت مكون من فلتر ورقي موجود بداخله مسحة من البوليستر لجمع الرذاذ المتطاير من سعال الشخص المصاب ثم توضع المسحة في انبوب الوسط الناقل لنقلها للمختبر للفحص.

المواد وطرائق العمل:

العينات: تم فحص 40 مريض بفيروس كورونا راقدين في مستشفى البصرة التعليمي في ردهة الوبائية. كان المرضى بمراحل مرضية مختلفة. كما تم فحص 20 شخص سليم كمجموعة سيطرة سلبية.

تم استخدام فلترترشيح ورقي filter paper بشكل مخروط ابعاده (القاعدة 52 ملم* الذراع الاطول 68 ملم الذراع الاصغر 62 ملم) كما موضح بالصورة رقم (1). يفتح بمسافة 120 ملم ليغطي الانف والفم معا كما في الصورة رقم (2). تحتوي تلك الفلاتر على ثقوب تتراوح بين 60-70 مايكروميتر. تم ثقب الفلتر من اسفل الطرف الجانبي ليكون مدخلا لعصى المسحة كما ملاحظ في الصورة رقم (3). وضع في داخل الفلتر مسحة مصنوعة من بوليمر البوليسترذات الاستخدام الطبي.

حضرت المسحات باستخدام البوليمر بوليستر ذات الاستخدام الطبي مع عصى بلاستيكية وماسك بلاستيكي. تم تحضير عصى بلاستيكية بطول 70 ملم يغلف البوليستر مسافة 40 ملم. يتم عمل نتوءات صغيرة في المسافة 40 ملم من أجل ان تثبيت البوليستر على العصى كما موضح في الشكل (4). يؤخذ مقدار(0.0150غرام) من البوليستر ويلف على راس الماسك البلاستيكي لتكوين شكل المسحة. يمرر البوليستر الملفوف على Hot Plate بدرجة حرارة 150م˚ بين قطعتي سلوفان الالمنيوم المعقم بالكحول لتلافي التصاق البوليستر بالحرارة.

اعتمدت طريقتي تعقيم بالحرارة الجافة مع الاشعة فوق البنفسجية بحسب طريقة (Bae and Lee, 2012) كما استخدمت كابينة Ethylene Oxide gas (ETO) كبديل للتعقيم بالاشعة فوق البنفسجية.

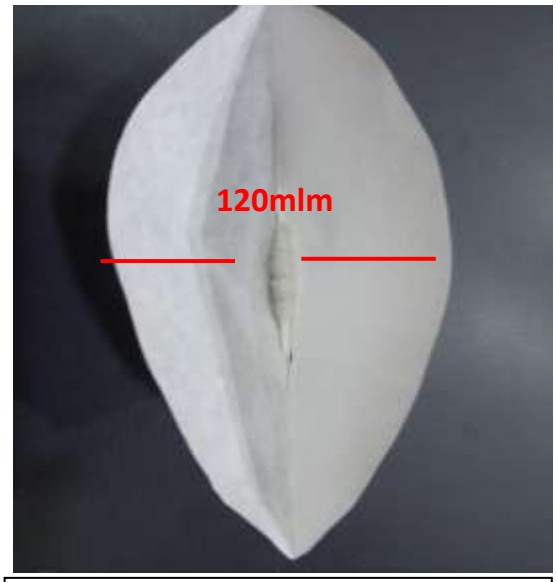
دراسة امكانية عزل ذرات السعال:

تم التاكد من عزل الرذاذ متكون من السعال داخل الفلتر، حيث تم تصوير جزيئات السعال على سطح المسحة الموجودة داخل الفلتر باستخدام المجهر الضوئي (Olympus cx 23, Germany).

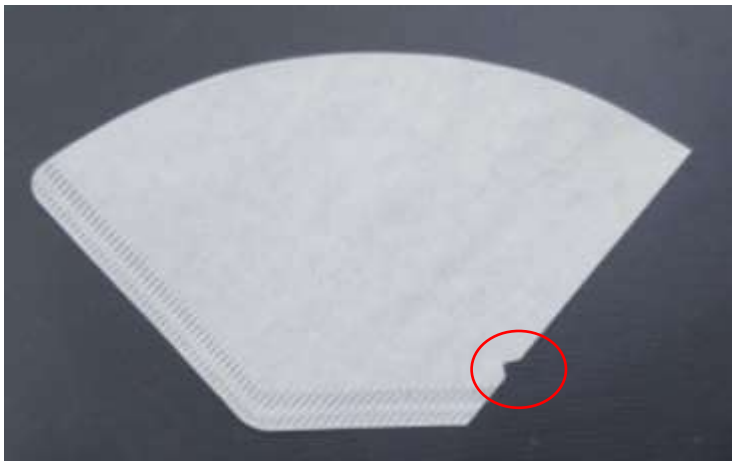
دراسة كفاءة الكت في عزل فيروس كورونا المستجد:

تم تجربة الكت من خلال استخدامه في عزل العينات من المرضى الراقدين في مستشفى البصرة التعليمي. حيث اعطي الفلتر للاشخاص المشخصين باصابتهم بالفيروس وقاموا بالسعال عدة مرات في الفلتر ثم وضعت المسحة في الوسط الناقل ونقلت الى المختبر المركزي لفحص ال RT-PCR.

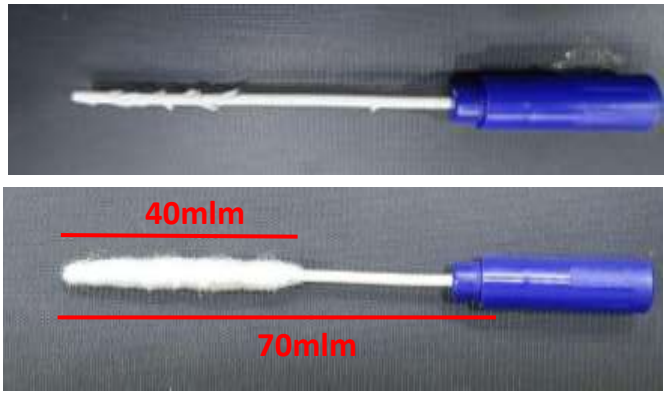
صورة (1): ابعاد الفلتر الورقي المخروطي بالملميتر



صورة (2): قطر فتحة الفلتر لتغطي الانف والفم



صورة (3): فتحة جانبية لادخال المسحة

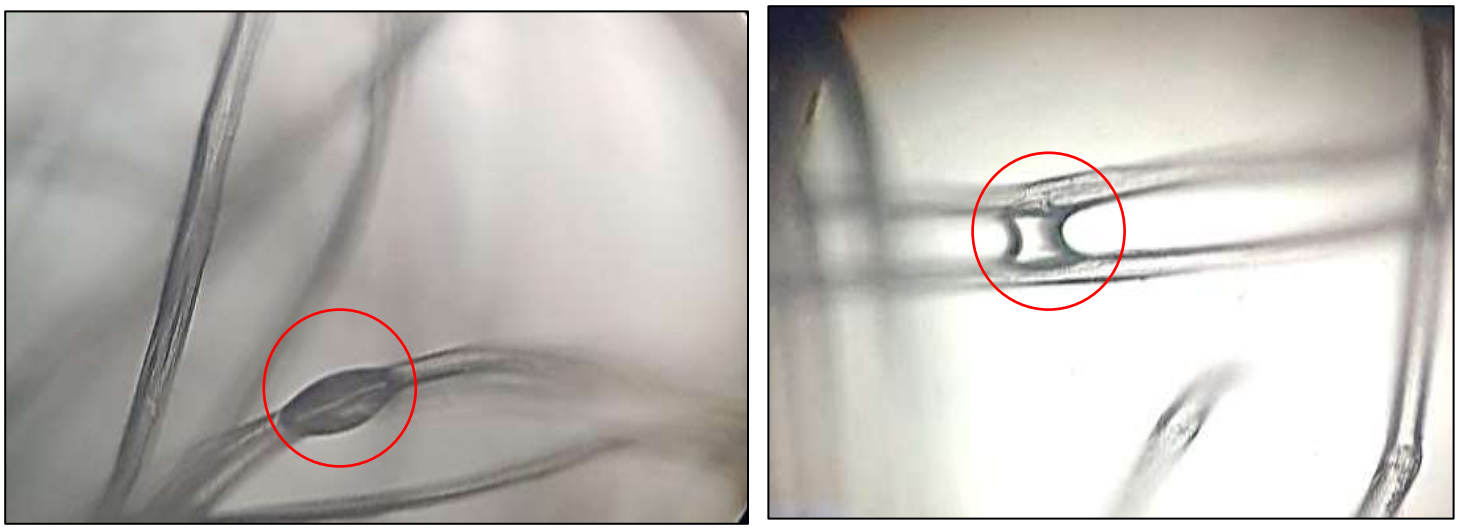


صورة (4):نتوؤات العصى وابعاد المسحة مع البوليستر

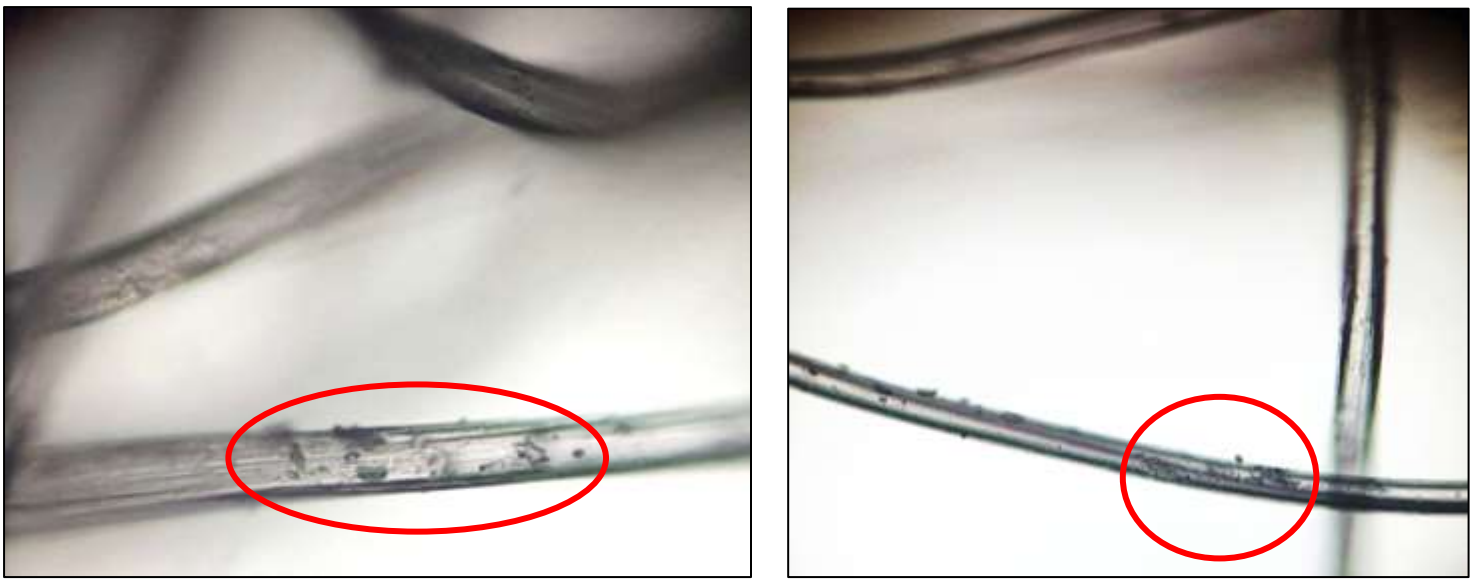
النتائج والمناقشة :

عزل جزيئات الرذاذ من سعال المرضى:

يتبين من الصور رقم (6،5) ان الكت قادر على عزل الرذاذ المتطاير من سعال الاشخاص المصابين. حيث يتبين ذرات السعال بشكلها السائل عند فحصها مباشرة بعد السعال(5)، كما يتبين اثرها في العينات بعد جفافها (6).



صورة (5) الرذاذ المتساقط على خيوط البوليستر المصنوع منه المسحات



صورة (6) آثار الرذاذ المتواجد على خيوط البوليستر المصنوع منه المسحات بعد جفافها

عزل عينات فيروس كورونا المستجد:

تم استخدام الكت من قبل المرضى المتواجدين في مستشفى البصرة التعليمي والذين ثبتت نتيجة فحص RT-PCR عندهم ايجابية، حيث تم تصميم الفلتر بشكل بحيث يغطي الانف والفم وبداخله تكون مسحة من البوليستر، ثم طلب من المرضى السعال لعدة مرات. ثم اخذت المسحة من الفلتر ووضعت في الوسط الناقل ونقلت الى مختبر الصحة المركزي لفحص RT-PCR. واظهرت النتائج كفاءة عالية في عزل الفيروس من المصابين وحسب الملاحظ من الجدول رقم (1).

تم فحص المرضى الراقدين في الوبائية والذين كانوا بمختلف مراحل تواجدهم في المستشفى وبنفس الوقت اخذ منهم عينات السعال. تبين ان عدد الاصابات التي كانت ايجابية بفحص مسحات الانف البلعومية 21 عينة اي بنسبة 52.5%. في حين كان عدد العينات الايجابية باستخدام كت السعال هي 32 اي بنسبة 80%. اما عدد العينات التي كانت سالبة بفحص مسحات الانف البلعومية وظهرت ايجابية باستخدام كت السعال كانت 16 عينة اي بنسبة 40%. اي ان كت السعال كان اكثر دقة من مسحات الانف البلعومية بنسبة 40%. ظهرت خمسة عينات من مجموع العينات الكلي ايجابية في فحص المسحات الانف البلعومية وسالبية بفحص السعال. قمنا باعادة فحص مسحات الانف البلعومية مرة اخرى واظهراربع من العينات تلك نتائج سلبية ، في حين كانت نتيجة واحدة موجبة في فحصين لمسحات الانف البلعومية بينما كانت نتيجتها سلبية بفحص السعال. قد يعود سبب العينات السالبة باستخدام ال Cough kit والتي كانت موجبة انها اخذت خلال فترة شفاء المصابين ويؤيد ذلك ان نتائج الفحص الثانية باستخدام مسحات الانف البلعومية كانت سالبة. في حين كانت عينة واحد سالبة باستخدام كت السعال كانت موجبة في فحصين استخدم بهما مسحات الانف البلعومية. وهنا يجب ان نشير ايضا الى احتماليية وجود نتائج خاطئة سببها يعود الى الاجراءات المختبرية بعد اخذ العينة من المريض.

اشارت عدد من البحوث الى وجود نسبة خطأ عالية في عينات الانف والبلعوم الانفي، فقد ذكر Winichakoon وجماعته ان عدد من الحالات تظهر نتائج سلبية باستخدام عينات الانف او الانف البلعومية وعليه اوصوا بان يكون للتحليل السريري دور اكبر في الكشف عن مرض كورونا المستجد.

(Winichakoon et. al., 2020). في حين ينصح بعض الباحثين باستخدام عينات القصبات الهوائية باستخدام ناضور القصبات على استخدام مسحات الانف البلعومية التي تعطي بعض النتائج السلبية (Loeffelholz & Tang, 2020). بينما حذر Bullis وجماعته في بعض الحالات السريرية التي اظهرت سالبة لمرتين باستخدام مسحات الانف والانف البلعومبة في حين كانت نتائج عينات السعال موجبة ولذاك اوصت الدراسة الى استخدام عينات السعال بدل عينات الانف البلعومية(Bullis et al., 2020).

قد يعود سبب النتائج السلبية لعينات الانف والانف البلعومية الى عدة اسباب اهمها عدم الدقة في ايصال المسحة الى داخل منطقة الانف البلعومية والاكتفاء بايصالها الى منتصف الانف مما يجعل الحصول على الفيروس قليلا. ان عملية اخ العينات يجب ان تكون من قبل كادر متخصص ومدرب في اخذ تلك العينات والذي يفتقر له عدد كبير من دوائرنا ومراكزنا الصحية بسبب حداثة الوباء وعدم الحصول على وقت كافي للتدريب. كما ان هناك اشارات على ان الفيروس يغادر منطقة الانف البلعومية بعد 5-7 ايام الى منطقة الجهاز التنفسي السفلي للبلعوم والقصبات الهوائية مما يجعل ايجاده في منطقة الانف و الانف البلعومي نادرا.

استخدمت طرق عديدة تستخدم لعزل عينات السعال منها استخدام جهاز يحتوي فلتر جيلاتيني كما وصف (Hatagishi *et.al.* 2014; Lindsley *et. al.*, 2015) والذي استخدم لعزل فيروس الانفلونزا Influenza virus A من سعال المرضى. كما قام Huynh وجماعته بتطوير قناع لجمع عينات الفيروسات من الجهاز التنفسي، حيث ان ذلك القناع يغطي نصف الوجه من الانف والفم ومصنوع يدويًا من مادة مطاطية PVC غير المنفذة وفيها فتحة مركزية توضع بها فلترلصيد الفيروسات ثم يتم اخذ الفلتر ويوضع في محلول RNA lysis buffer ويفحص باستخدام جهاز PCR (Huynh *et al.*, 2008).

وحديثا استخدم فلتر الجيلاتين في عزل فيروس كورونا (Cheng *et. al*., 2020).حيث استخدم فلتر الجل للتاكد من خلو الهواء المحيط بالمرضى المصابي وتبين عدم تواجد الفيروس في هواء غرف عزل المرضى.

مجموعة عينات السيطرة السلبية: Negative control samples

تم اجراء استخدام كت السعال من قبل 20عينة من اشخاص اصحاء لا يعانون من اي اعراض لفيروس كورونا المستجد واظهرت النتائج فحص الRT-PCR سالبة لجميعها.

التطبيقات:

1- يستخدم الكت من قبل المريض المراجع للمراكز الصحية والمستشفيات مباشرة دون الحاجة الى الكادر الطبي المتخصص وذلك بتغطية الانف والفم ومحاولة السعال في الفلتر ثم اخراج المسحة ووضعها في الوسط الناقل واغلاقه وتسليمه للمسؤول لنقله الى المختبر.

2- يمكن عمل مسحات وبائية لفيروس كورونا المستجد باستخدام الكت والذي يعتبر اسهل بكثير من استخدام مسحات البلعوم والانف البلعومي.

3- يمكن استخدامه في المطارات والمرافئ الحدودية والتي قد تفتقر لوجود متخصص في اخذ مسحات البلعوم والانف البلعومي فيها.

4- الاستعانة بكت السعال بدلا من مسحات البلعوم والانف البلعومي في الردهات الوبائية للتاكد من خلو المريض المتعافي من الفيروس للاطمانان بعدم نقله الفيروس حين خروجه من المستشفى.

المميزات:

1- الكت بسيط التركيب حيث يتكون من فلتر ورقى يشكل بشكل مخروطي بحيث يغطي الانف والفم مما يجعل الهواء الخارج منهما بمواجهة المسحة الموجودة داخل الفلتر.

2- سهولة استخدامه من قبل المريض دون الحاجة الى تدخل الكادر الصحي.

3- سهولة نقل المسحة من الكت الى الوسط الناقل.

4- اظهر نتائج افضل من مسحات البعوم والانف البلعومي في عزل الفيروس لانه يعتمد على ما متواجد في المناطق التنفسية الداخلية وليس في الانف والبلعوم.

5- رخص ثمنه

الادعاءات:

1- انتاج عدة لعزل فايروس كورونا المستجد عن طريق السعال.

2- اشارة الى عنصر الحماية الاول يستخدم الكت في عزل فيروس كورونا المستجد من سعال المرضى المصابين.

3- يفضل استخدامه بدل مسحات البلعوم والانف البلعومي وذلك لتلافي الحصول على نتائج سلبية كاذبة قد تكون ناتجة من عدم ايصال مسحات البلعوم والانف البعلومي الى مكان تواجد الفيروس.

4- هواء الزفير الخارج من الجهاز التنفسي والمحمل بالفيروس يحمل على مسحة البوليستر الموجودة في قعر الفلتر والتي بدورها تنقل الى وسط ناقل مناسب.

جدول (1) يبين نتائج العينات المرقمة في حال استخدام مسحات الانف مقارنة بنتائج كت السعال.

رقم المصاب	نتيجة مسحة الانف المرة الاولى	نتيجة فحص كت السعال	نتيجة مسحة الانف للمرة الثانية
1	+	+	
2	-	+	
3	-	+	
4	+	+	
5	+	+	
6	+	-	-
7	+	-	-
8	+	+	
9	-	+	
10	+	+	
11	-	+	
12	+	+	
13	-	+	
14	+	-	-
15	-	+	
16	+	+	
17	-	+	
18	+	+	
19	-	+	
20	+	+	
21	+	-	+
22	+	+	
23	-	+	
24	-	+	
25	-	+	
26	-	+	
28	+	+	
29	-	-	
30	-	+	
31	-	-	
32	+	+	
33	+	+	
34	-	+	
35	-	+	
36	+	+	
37	+	+	
38	+	-	-
39	+	+	
40	-	+	

References:

1- World Health Organization (2020 A). Naming the coronavirus disease (COVID-19) and the virus that causes it and how to test. World Health Organization. https://www. who. int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming the -coronavirus-disease-(covid-2019)-and-the-virus-that-causes-it.

2- Dong, E., Du, H. & Gardner, L.(2020) Lancet Infect. Dis. https://doi. org/ 10.1016 / S1473-3099(20)30120-1.

3- Zou, L., Ruan, F., Huang, M., Liang, L., Huang, H., Hong, Z. & Guo, Q. (2020). SARS-CoV-2 viral load in upper respiratory specimens of infected patients. New England Journal of Medicine, 382(12), 1177-1179.

4- Han, H., Luo, Q., Mo, F., Long, L., & Zheng, W. (2020). SARS-CoV-2 RNA more readily detected in induced sputum than in throat swabs of convalescent COVID-19 patients. The Lancet Infectious Diseases, 20(6), 655-656.

5- Azzi, L., Carcano, G., Gianfagna, F., Grossi, P., Dalla Gasperina, D., Genoni, A., & Maurino, V. (2020). Saliva is a reliable tool to detect SARS-CoV-2. Journal of Infection.

6- To, K. K. W., Tsang, O. T. Y., Yip, C. C. Y., Chan, K. H., Wu, T. C., Chan, J. M. C., ... & Lung, D. C. (2020). Consistent detection of 2019 novel coronavirus in saliva. Clinical Infectious Diseases.

7- Tian, H. Y. (2020). 2019-nCoV: new challenges from coronavirus. Zhonghua yu fang yi xue za zhi [Chinese journal of preventive medicine], 54, E001-E001.

8- Roy, C. J., and D. K. Milton. 2004. Airborne transmission of communicable infection—the elusive pathway. N. Engl. J. Med. 350:1710–1712.

9- Yu, I. T., Y. Li, T. W. Wong, W. Tam, A. T. Chan, J. H. Lee, D. Y. Leung, and T. Ho. 2004. Evidence of airborne transmission of the severe acute respiratory syndrome virus. N. Engl. J. Med. 350:1731–1739.

10- Christensen, L. S., P. Normann, S. Thykier-Nielsen, J. H. Sorensen, K. de Stricker, and S. Rosenorn. 2005. Analysis of the epidemiological dynamics during the 1982–

1983 epidemic of foot-and-mouth disease in Denmark based on molecular high-resolution strain identification. J. Gen. Virol. 86:2577–2584.

11- Gloster, J., A. Freshwater, R. F. Sellers, and S. Alexandersen. 2005. Reassessing the likelihood of airborne spread of foot-and-mouth disease at the start of the 1967–1968 UK foot-and-mouth disease epidemic. Epidemiol. Infect. 133:767–783.

12- Donaldson, A. I., and S. Alexandersen. 2002. Predicting the spread of foot and mouth disease by airborne virus. Rev. Sci. Technol. 21:569–575.

13- Olsen, S. J., H. L. Chang, T. Y. Cheung, A. F. Tang, T. L. Fisk, S. P. Ooi, H. W. Kuo, D. D. Jiang, K. T. Chen, J. Lando, K. H. Hsu, T. J. Chen, and S. F. Dowell. 2003. Transmission of the severe acute respiratory syndrome on aircraft. N. Engl. J. Med. 349:2416–2422.

14-Morawska, L. 2006. Droplet fate in indoor environments, or can we prevent the spread of infection? Indoor Air 16:335–347.

15- World Health Organisation (2020, B). Modes of transmission of virus causing COVID-19: implications for IPC precaution recommendations. https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/modes-of-transmission-of-virus-causing-covid-19-implications-for-ipc-precaution-recommendations (accessed 08/04/2020).

16- Bourouiba L. Turbulent gas clouds and respiratory pathogen emissions: potential implications for reducing transmission of COVID-19. Journal of the American Medical Association 2020; 323: 1837–38.

17-Ningthoujam, R. (2020). COVID 19 can spread through breathing, talking, study estimates. Current Medicine Research and Practice.

18- Hinds, W. C. 1999. Aerosol technology, 2nd ed. Wiley-Interscience, New York, NY.

19- Andersen, A. A. (1958). New Sampler for the Collection, Sizing, and Enumeration of Viable Airborne Particles. J. Bacteriol., 76:171–184.

20- Andersen, A. A. (1966). A Sampler for Respiratory Health Hazard Assessment. Am. Ind. Hyg. Assoc., 27(2):160–165.

21- May, K. R., and G. J. Harper. 1957. The efficiency of various liquid impinger samplers in bacterial aerosols. Br. J. Ind. Med. 14:287–297.

22- Meiklejohn, G., C. H. Kempe, A. W. Downie, T. O. Berge, L. St. Vincent, and A. R. Rao. 1961. Air sampling to recover variola virus in the environment of a smallpox hospital. Bull. W. H. O. 25:63–67

23- Aintablian, N., P. Walpita, and M. H. Sawyer. 1998. Detection of Bordetella pertussis and respiratory syncytial virus in air samples from hospital rooms. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 19:918–923.

24- Sawyer, M. H., C. J. Chamberlin, Y. N. Wu, N. Aintablian, and M. R. Wallace. 1994. Detection of varicella-zoster virus DNA in air samples from hospital rooms. J. Infect. Dis. 169:91–94.

25- Burton, N. C., S. A. Grinshpun, and T. Reponen. 2007. Physical collection efficiency of filter materials for bacteria and viruses. Ann. Occup. Hyg. 51:143 151

26- McCluskey, R., R. Sandin, and J. Greene. 1996. Detection of airborne cytomegalovirus in hospital rooms of immunocompromised patients. J. Virol. Methods 56:115–118.

27- Winichakoon, P., Chaiwarith, R., Liwsrisakun, C., Salee, P., Goonna, A., Limsukon, A. & Kaewpoowat, Q. (2020). Negative nasopharyngeal and oropharyngeal swabs do not rule out COVID-19. Journal of clinical microbiology, 58(5).

28- Loeffelholz, M. J., & Tang, Y. W. (2020). Laboratory diagnosis of emerging human coronavirus infections–the state of the art. Emerging microbes & infections, 9(1), 747-756.

29- Bullis, S. S., Crothers, J. W., Wayne, S., & Hale, A. J. (2020). A Cautionary Tale of False-Negative Nasopharyngeal COVID-19 Testing. IDCases, e00791.

30- Hatagishi, E., Okamoto, M., Ohmiya, S., Yano, H., Hori, T., Saito, W. & Shoji, M. (2014). Establishment and clinical applications of a portable system for capturing influenza viruses released through coughing. PloS one, 9(8), e103560.

31- Cheng, V. C. C., Wong, S. C., Chan, V. W. M., So, S. Y. C., Chen, J. H. K., Yip, C. C. Y.& To, K. K. W. (2020). Air and environmental sampling for SARS-CoV-2 around

hospitalized patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). Infection Control & Hospital Epidemiology, 1-32.

32- Huynh, K. N., Oliver, B. G., Stelzer, S., Rawlinson, W. D., & Tovey, E. R. (2008). A new method for sampling and detection of exhaled respiratory virus aerosols. Clinical Infectious Diseases, 46(1), 93-95.

33- Lindsley, W. G., Noti, J. D., Blachere, F. M., Thewlis, R. E., Martin, S. B., Othumpangat, S. & Clark, K. E. (2015). Viable influenza A virus in airborne particles from human coughs. Journal of occupational and environmental hygiene, 12(2), 107-113.