کازموایـــــنتـــل
ژورنـــال علـــمی
اولیـــن ژورنـــال تـحـقـیـقـات عـلـمـی در حـــوزه شـعور(ط)

تاثیر میدان‌های شعوری طاهری بر بقا و عفونت‌زایی ویروس کرونا در دماهای مختلف

محمدعلی طاهری[1]، لاله امانی[2]، سیمین شریفی[3]، احمد خلیلی[4]، حسین کیوانی[5*]

۱. بخش تحقیق و توسعه‌ی ساینسفکت، مرکز تحقیقات کازموایتل، انتاریو، کانادا
۲. گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۳. گروه بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده‌ی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
۴. مرکز تحقیقات زیست‌پزشکی سرطان، تهران، ایران
۵. گروه ویروس‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

* نویسنده مسئول: حسین کیوانی
ایمیل: Keyvanlab@yahoo.com

DOI:https://doi.org/10.61450/joci.FA.v1i1.84

چکیده

ویروس SARS-CoV-2 که عامل بیماری کرونا ۲۰۱۹ (COVID-19) است به مشکل جدی بهداشت عمومی در سطح جهان تبدیل شده است. تحقیقات آزمایشگاهی و اپیدمیولوژیک نشان داده است دمای محیط می‌تواند بر میزان بقا و انتقال کروناویروس‌ها تاثیر بگذارد. میدان‌های شعوری طاهری (TCFs) که محمدعلی طاهری آن‌ها را معرفی کرده، میدان‌های جدیدی هستند که نه ماده‌اند و نه انرژی. بنابراین، غیرقابل سنجش‌اند و نمی‌توان آن‌ها را به‌طور مستقیم مشاهده یا اندازه‌گیری کرد. با این حال، اثبات و ارزیابی اثرات این میدان‌ها از طریق آزمایش‌های علمی استاندارد امکان‌پذیر است. این مطالعه با هدف بررسی اثرات دو میدان شعوری (۱ و ۲) بر بقا و عفونت‌زایی ویروس SARS-CoV-2 در دماهای مختلف انجام گرفت. برای ارزیابی اثر میدان‌های شعوری بر تکثیر ویروس در دماهای مختلف از CPE (بررسی اثر سیتوپاتیک)، ۵۰% دوز عفونی (TCID50) و ارزیابی تعداد کپی RNA ویروس استفاده شد. نتایج نشان داد همراهی میدان‌های شعوری (۱ و ۲) با دما می‌تواند باعث کاهش بیش‌تر عفونت‌زایی و زنده‌مانی ویروس کرونا شود. میدان‌های شعوری ویروس را در مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۶ درجه‌ی سانتی‌گراد به‌طور کامل از بین بردند. اما در گروه کنترل، ویروس در همین دما فعال بود. همچنین، میدان‌های شعوری در دماهای ۴ و ۲۴ درجه‌ی سانتی‌گراد در مدت ۲۴ ساعت باعث کاهش تیتر و RNA ویروس نسبت به گروه کنترل شدند ($p<0.05$). در این مطالعه برای نخستین بار نشان دادیم TCFs می‌تواند به عنوان مداخله‌ای کیفی بر بقای SARS-CoV-2 در شرایط دمایی گوناگون تاثیر بگذارد. برای بررسی اثرات TCF بر ویروس‌ها در شرایط محیطی مختلف انجام مطالعات بیش‌تر توصیه می‌شود.

کلیدواژه‌ها: میدان‌های شعوری طاهری، COVID-19 ، شعور(ط) ، SARS-CoV-2 ، دما

مقدمه

در حـال حاضـر، ویـروس کرونـا (SARS-CoV-2) بسـیاری از کشـورهای جهـان را تحـت تاثیـر قـرار داده اسـت. شـواهد اخیـر نشـان می‌دهـد قطـرات تنفسـی مسـیر اصلـی انتقـال ویـروس میـان افـرادی اسـت کـه در تمـاس نزدیـک هسـتند. همچنیـن، ممکـن اسـت لمـس سـطوح آلـوده و لمـس چشـم یـا دهـان بـدون تمیزکـردن دستْ افـراد را آلـوده کنـد [۱]. اخیـرا گزارش‌هـای زیـادی دربـاره‌ی نقـش عوامـل محیطـی ماننـد دمـا و رطوبـت در انتقـال ویـروس کرونـا منتشـر شـده اسـت [۲، ۳]. گـزارش شـده اسـت بـا افزایـش دمـا شـیوع بیمـاری COVID-19 کاهـش می‌یابـد امـا ارتبـاط بیـن دمـا و انتقـال کـم اسـت [۴]. بررسـی‌های آزمایشـگاهی و اپیدمیولوژیـک نشـان داده اسـت دمـای محیـط می‌توانـد بـر بقـا و انتقـال ویروس‌هـای کرونـا تاثیـر بگـذارد. عـلاوه بـر ایـن، روش‌هـای غیرفعال‌سـازی فـوری ویـروس بـرای شـرایط آزمایشـگاهی ایمـن مـورد نیـاز اسـت [۵-۹].

بـر اسـاس نظریـه‌ی طاهـری، میدان‌هـای شـعوری گوناگـون بـا کارکردهـای متنوعـی وجـود دارنـد کـه زیرمجموعـه‌ی شـبکه‌ی شـعور کیهانـی هسـتند. ایـن میدان‌هـا ماهیـت غیرفرکانسـی دارنـد و ایـن امـکان وجـود دارد کـه بـا طراحـی آزمایش‌هایـی اثـرات آن‌هـا را ثبـت و بررسـی کـرد. لازم بـه ذکـر اسـت اثـرات میدان‌هـای شـعوری(ط) از طریـق ذهـن اعلام‌کننـده (فرادرمانگـر) آغـاز می‌شـود [۱۰]. در تحقیقـات پیشـین، تاثیـرات میدان‌هـای شـعوری بـر سـلول سـرطانی MCF7 [۱۱]، حافظـه فضایـی و رفتـار اجتنابـی یـک مـدل مـوش دارای بیمـاری آلزایمـر [۱۲]، گیـاه گنـدم [۱۳]، رشـد جمعیـت باکتریایـی [۱۴] و فعالیـت الکتریکـی مغـز در طـول مـدت انجـام فرادرمانـی در میـان جمعیـت فرادرمانگرهـا [۱۵] مـورد ارزیابـی قـرار گرفتـه اسـت. ایـن مطالعـه بـا هـدف بررسـی تاثیـر میـدان هـای شـعوری ۱ و ۲ بـر بقـای ویـروس کرونـا در معـرض دماهـای مختلـف و بـرای دوره‌هـای زمانـی مختلـف مـورد ارزیابـی قـرار گرفـت و عفونت‌زایـی ویروسـی از طریـق روش TCID50 و تعـداد کپی‌هـای RNA ویـروس کرونـا ارزیابـی شـد.

مواد و روش ها

روش استفاده از میدان های شعوری

نمونه‌هـای مـورد مطالعـه بـر اسـاس دسـتورالعمل ارائه‌شـده در وب‌سـایت مدیریـت تحقیقـات در حـوزه‌ی میدان‌هـای شـعوری[1]، تحـت تاثیـر ایـن میدان‌هـا قـرار گرفتنـد. جزییـات بیش‌تـر در بخـش ملاحظـات مشـترک ایـن شـماره ارائـه شـده اسـت. در مطالعـه‌ی حاضـر، میدان‌هـای شـعوری هم‌زمـان بـا شـروع اعمـال دمـا در فلاسـک‌های کشـت سـلولی در گروه‌هـای تیمـار آزمایشـگاهی اعمـال شـدند.

کشت سلول Vero و ویروس کرونا

یـک فلاسـک T-75 کانفلونـت از رده‌ی سـلولی Vero تریپسـینیزه و سـانتریفیوژ شـد و دوبـاره در محیـط DMEM بـا ۱۰% سـرم جنیـن گاو (Gibco) معلـق شـد. همچنیـن، سـلول‌ها کشـت داده شـدند و در دمـای ۳۷ درجـه‌ی سـانتی‌گراد و CO_2 ۵% تـا کانفلونسـی ۸۰% انکوبـه شـدند. نمونه‌هایـی کـه قبـلا از نازوفارنکـس بیمـاران کووید-۱۹ مثبـت جـدا شـده بودنـد (Ct value 10 در تجزیه‌وتحلیـل real-time PCR) بـرای مطالعـه‌ی حاضـر اسـتفاده شـدند. تمـام آزمایش‌هـا در آزمایشـگاه ایمنـی زیسـتی درجـه‌ی سـه انجـام شـد [۱۶]. فعالیـت ویروس‌کشـی مقایسـه‌ای در دماهـای مختلـف در گروه‌هـای میـدان هـای شـعوری ۱، ۲ و گـروه کنتـرل به‌طـور جداگانـه بررسـی شـدند. بنابرایـن، پیـش از شـروع بـه آزمایـش تکثیـر ویـروس، real-time PCR و همچنیـن TCID50 انجـام شـد. بـرای روش TCID50 (تیتراسـیون ویـروس)، سـلول‌ها و ویروس‌هـا در چاهک-هـای ۹۶تایـی کشـت شـدند و نتایـج بـا اسـتفاده از روش Reed-Muench ارزیابـی شـد [۱۷]. سـرانجام، بـر اسـاس تجزیه‌وتحلیـل نتایـج، کشـت ویـروس بـا TCID50/mL(تیتـر ویـروس) بـا لگاریتـم ۶ و مقـدار Ct =11 بـرای تلقیـح در انکوباسـیون در دماهـای مختلـف و تحـت تاثیـر میدان‌هـای شـعوری و گـروه کنتـرل انتخـاب شـد.

غیرفعال‌سازی ویروس کرونا در دماهای مختلف

مقایسـه‌ی عفونت‌زایـی در دماهـای مختلـف در گـروه تسـت و کنتـرل بـر اسـاس دسـتورالعمل اسـتانداردهای اروپـا 14476-A2[2] انجـام شـد. به‌طـور خلاصـه، چهـار میکرولیتـر از مایـع رویـی کشـت ویـروس بـا غلظـت 10^6/mL TCID50 بـا توجـه بـه مشـخصات زیـر در دماهـای مختلـف قـرار داده شـد: ۴ و ۲۴ درجـه‌ی سـانتی‌گراد بـرای ۲۴ سـاعت، ۵۶ و ۶۰ درجـه‌ی سـانتی‌گراد بـرای ۳۰ دقیقـه، ۶۰ درجـه‌ی سـانتی‌گراد بـرای ۶۰ دقیقـه، ۸۰ و ۹۲ درجـه‌ی سـانتی‌گراد بـه مـدت ۳۰ دقیقـه. سـپس نمونـه هـا پـس از تغلیـظ و بازیابـی ویـروس، بـرای سـنجش TCID50 وReal-time RT-PCR کشـت داده شـدند.

تغلیظ و تیتراسیون ویروس

در ایـن مطالعـه بـرای تغلیـظ ویـروس از روش رسـوب پلی‌اتیلن‌گلیکـول (PEG) بـرای از بیـن بـردن عوامـل سیتوتوکسـیک کشـت سـلولی یـا بازدارنده‌هـای PCR اسـتفاده شـد. بنابرایـن، آن‌هـا بـا ۱,۵ میلی‌لیتـر محلـول PEG-6000 مخلـوط شـدند. سـپس بـه مـدت ۸ سـاعت در دمـای چهـار درجـه‌ی سـانتی‌گراد در ۱۵۰ دور در دقیقـه هـم زده شـدند و مایـع رویـی بـه مـدت ۵۰ دقیقـه در 3600g سـانتریفیوژ شـد. مایـع رویـی حـاوی PEG برداشـته شـد و رسـوب حاصـل در یـک میلی‌لیتـر محلـول بافـر فسـفات (PBS) حـل و دوبـاره بـه مـدت ۴۰ دقیقـه در 4000g سـانتریفیوژ شـد. مایـع رویـی از طریـق فیلتـر غشـایی اسـتریل ۰,۲ میکرومتـر فیلتـر شـده و ۵۰ میکرولیتـر آن بـرای روش TCID50 بـه چاهک‌هـای پلیـت ۹۶ خانـه‌ی تیتراسـیون ویـروس (در سـه تکـرار) اضافـه شـد و سـپس در 37 °C و CO_2 5٪ انکوبـه شـد. پلیت‌هـای ۹۶ خانـه هـر ۲۴ سـاعت از نظـر CPE (اثـر سـیتوپاتیک) کنتـرل شـدند و نتایـج پـس از شـش روز گـزارش شـد. بـه مـوازات آن، ایـن فراینـد در فلاسـک‌ها دنبـال شـد و هـر نمونـه در فلاسـک‌های کشـت سـلول، کشـت شـد.

1. www.COSMOintel.com

2. https://www.analytice.com

Real-time RT-PCR

مایع رویی نمونه‌های کشت‌شده در فلاسک‌ها پس از شش روز برای real-time RT-PCR فرستاده شد. تمام واکنش‌ها بر اساس دستورالعمل توصیه‌شده در ترمو سایکلر (Rotor-Gene-Q ۶۰۰۰ Corbett) انجام شد. مواد مصرفی به این شرح است: ۰,۱ میکرولیتر آنزیم RT، ۱۰ میکرولیتر RNA استخراج‌شده یا بلانک، چهار میکرولیتر Roche MasterMix ، ۰,۵ میکرولیتر مخلوط آغازگر-پروب و نیز آب دیونیزه. برنامه‌ی گرمایش: سه ثانیه در دمای ۵۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۳۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد (یک چرخه)، سه ثانیه در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۱۲ ثانیه در دمای ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد (۴۵ دوره) و ۱۰ ثانیه در دمای ۴۰ درجه‌ی سانتی‌گراد (یک چرخه).

تحلیل آماری

داده‌ها از طریق نرم‌افزار SPSS (نسخه‌ی ۲۶) و با اطمینان ۹۵٪ برای تشخیص معناداری بین تیمارها مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفتند. از آنالیز ANOVA برای تشخیص تفاوت‌های معنادار بین نمونه‌ها استفاده شد.

نتایج و بحث

جدول‌های ۱ و ۲ نتایج تاثیر میدان‌های شعوری بر تیتر و تعداد کپی RNA ویروس را نشان می‌دهند. آزمایش‌ها و همچنین سنجش‌ها با سه بار تکرار انجام شد. نتایج این مطالعه نشان داد کاربرد هم‌زمان دما و میدان‌های شعوری می‌تواند باعث کاهش بیش‌تر عفونت زایی و بقای SARS-CoV-2 شود. به عنوان مثال، ویروس در دمای ۵۶ درجه‌ی سانتی‌گراد تحت تاثیر میدان‌های شعوری، به‌طور کامل حذف شده بود. همچنین، بر اساس جدول ۱ در دمای چهار درجه‌ی سانتی‌گراد (دمای یخچال) و ۲۴ درجه‌ی سانتی‌گراد (دمای اتاق) تحت تاثیر میدان‌های شعوری، در مقایسه با گروه‌های کنترل که بدون اعمال میدان‌های شعوری نگه‌داری می‌شدند، تفاوت معناداری ($p<0.05$) برای هر دو نوع میدان شعوری ۱ و ۲ گزارش شد. این نشان می‌دهد میدان‌های شعوری نقش اصلی را در کاهش عفونت‌زایی و بقای ویروس در این دماها ایفا می‌کنند. با این حال، نتایج اعمال میدان‌های شعوری در دمای ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد بر بقای ویروس، مشابه گروه کنترل بود. از آن‌جا که دما به اندازه‌ی کافی برای از بین بردن ویروس بالا بود، نمی‌توان اثر میدان‌های شعوری را به‌روشنی نشان داد.

جدول ۱. تیتر ویروس کرونا در گروه های مورد مطالعه

ردیف	دما/زمان	تیتر ویروس (TCID50)			
		اولیه	کنترل	میدان شعوری ۱	میدان شعوری ۲
1	4 °C for 24h	1×10^{6}	$1 \times 10^{5.7}$	$1\times10^{5*}$	$1\times10^{4.7*}$
2	24 °C for 24h	1×10^{6}	$1\times10^{5.5}$	$1\times10^{4.2*}$	$1\times10^{4*}$
3	56 °C for 30 min	1×10^{6}	1×10^{2}	ND*	ND*
4	60°C for 30 min	1×10^{6}	ND/ND[a]	ND	ND
5	60°C for 60 min	1×10^{6}	ND	ND	ND
6	80°C for 30 min	1×10^{6}	ND	ND	ND
7	92°C for 30 min	1×10^{6}	ND	ND	ND

ND: Not detected (عدم ردیابی ویروس). ستاره (*) تفاوت معناداری ($p<0.05$) را بین گروه‌های تیمار TCFs در مقایسه با گروه‌های کنترل نشان می‌دهد.

جدول ۲. تعداد کپی RNA ویروس کرونا در گروه‌های مورد مطالعه

ردیف	دما/زمان	تعداد کپی RNA			
		اولیه	کنترل	میدان شعوری ۱	میدان شعوری ۲
1	4 °C for 24h	4×10^{6}	3.2×10^{6}	$2\times10^{6*}$	$2\times10^{6*}$
2	24 °C for 24h	4×10^{6}	3×10^{6}	$2\times10^{6*}$	$1.8\times10^{6*}$
3	56 °C for 30 min	4×10^{6}	1×10^{3}	$1\times10^{2*}$	$1\times10^{2*}$
4	60°C for 30 min	4×10^{6}	$1\times10^{2.2}$	1×10^{2}	1×10^{2}
5	60°C for 60 min	4×10^{6}	$1\times10^{2.5}$	1×10^{2}	1×10^{2}
6	80°C for 30 min	4×10^{6}	1×10^{2}	1×10^{2}	1×10^{2}
7	92°C for 30 min	4×10^{6}	1×10^{2}	ND	ND

ND: Not detected (عدم ردیابی ویروس). ستاره (*) تفاوت معناداری ($p<0.05$) را بین گروه‌های تیمار TCFs در مقایسه با گروه‌های کنترل نشان می‌دهد.

بحث

بـرای توضیـح رفتـار ویروس‌هـا در محیـط تلاش‌هـای بسـیاری انجـام شـده اسـت [۱۸]. بـر اسـاس نتایـج یـک مطالعـه، رطوبـت و دمـا بـا کووید-۱۹ رابطـه‌ای معکـوس را نشـان داده اسـت؛ بنابرایـن، لازم اسـت کشـورهایی کـه میـزان رطوبـت و دمـای پاییـنی دارنـد توجـه بیش‌تـری بـه ایـن بیمـاری داشـته باشـند [۱۹]. طـور مشـابه، مشـخص شـده اسـت کـه دمـای بـالا باعـث افزایـش سـرعت تجزیـه SARS-CoV-2 روی سـطوح و کاهـش انتقـال آن می‌شـود [۲۰]. بـا ایـن حـال، گـزارش شـده اسـت هیـچ مدرکـی مبنـی بـر کاهـش کووید-۱۹ بـا گرم‌شـدن هـوا وجـود نـدارد [۲۱]. نتایـج نشـان داد ترکیـب دمـا بـا میدان‌هـای شـعوری(ط) می‌توانـد باعـث کاهـش بیش‌تـر عفونت‌زایـی و بقـای SARS-CoV-2شـود.

در نتیجـه، بـه نظـر مـی رسـد عـلاوه بـر مراقبت‌هـای بهداشـتی، میدان‌هـای شـعوری می‌تواننـد بـه عنـوان مداخلـه‌ای کیفـی بـرای جلوگیـری از ابتـلا بـه کووید-۱۹ در نظـر گرفتـه شـوند. بـا ایـن حـال، بـرای بررسـی اثـرات میدان‌هـای شـعوری بـر ویروس‌هـای گوناگـون و انـواع آن‌هـا تحقیقـات بیش‌تـری توصیـه می‌شـود.

تقدیر و تشکر

ایـن مطالعـه در آزمایشـگاه تخصصـی ویروس‌شناسـی کیـوان (KVSL) در تهـران انجـام شـده اسـت. مـا از اعضـای ایـن آزمایشـگاه بـرای کمـک در آزمایش‌هـا تشـکر می‌کنیـم. همچنیـن، نویسـندگان از سـرکار خانـم هدایتـی بـرای ویرایـش ادبـی مقـالات ایـن شـماره تشـکر و قدردانـی می‌کننـد.

تضاد منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تضاد منافعی اعلام نکردند.

منابع

1. World Health Organization. (2020). *Coronavirus disease (COVID-19): How is it transmitted?* Geneva, Switzerland: WHO.

2. Yuan, S., Jiang, S., & Li, Z.-L. (2020). Do humidity and temperature impact the spread of the novel coronavirus? *Frontiers in Public Health, 8,* 240. https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.00240

3. Chi, Y., Wang, Q., Chen, G., & Zheng, S. (2021). The long-term presence of SARS-CoV-2 on cold-chain food packaging surfaces indicates a new COVID-19 winter outbreak: A mini review. *Frontiers in Public Health, 9,* 650493. https://doi.org/10.3389/fpubh.2021.650493

4. Sehra, S. T., Salciccioli, J. D., Wiebe, D. J., Fundin, S., & Baker, J. F. (2020). Maximum daily temperature, precipitation, ultraviolet light, and rates of transmission of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in the United States. *Clinical Infectious Diseases, 71*(9), 2482–2487. https://doi.org/10.1093/cid/ciaa681

5. Batejat, C., Grassin, Q., & Manuguerra, J.-C. (2021). Heat inactivation of the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. *Journal of Biosafety and Biosecurity, 3*(1), 1–3. https://doi.org/10.1016/j.jobb.2020.12.001

6. Cutts, T., Grolla, A., Jones, S., Cook, B. W., Qiu, X., & Theriault, S. S. (2016). Inactivation of Zaire ebolavirus variant Makona in human serum samples analyzed by enzyme-linked immunosorbent assay. *The Journal of Infectious Diseases, 214*(suppl_3), S218–S221. https://doi.org/10.1093/infdis/jiw269

7. Edwards, S. (2000). Survival and inactivation of classical swine fever virus. *Veterinary Microbiology, 73*(2–3), 175–181. https://doi.org/10.1016/s0378-1135(00)00143-7

8. Leclercq, I., Batejat, C., Burguière, A. M., & Manuguerra, J.-C. (2014). Heat inactivation of the Middle East respiratory syndrome coronavirus. *Influenza and Other Respiratory Viruses, 8*(5), 585–586. https://doi.org/10.1111/irv.12261

9. Saluzzo, J., Leguenno, B., & Van der Groen, G. (1988). Use of heat inactivated viral haemorrhagic fever antigens in serological assays. *Journal of Virological Methods, 22*(2–3), 165–172. https://doi.org/10.1016/0166-0934(88)90099-7

10. Taheri, M. A. (2013). Human from another outlook (2nd ed.). Interuniversal Press. ISBN: 9781939507006

11. Taheri, M. A., Semsarha, F., Mahdavi, M., Afsartala, Z., & Amani, L. (2020). The influence of the Faradarmani consciousness field on the survival and death of MCF-7 breast cancer cells: An optimization perspective. *SSRN Electronic Journal.* https://doi.org/10.2139/ssrn.3705537

12. Taheri, M. A., Torabi, S., Nabavi, N., & Semsarha, F. (2021). Influence of Faradarmani consciousness field (FCF) on spatial memory and passive avoidance behavior of scopolamine model of Alzheimer disease in male Wistar rats. *SSRN Electronic Journal. https://doi.org/10.2139/ssrn.3761188.*

13. Torabi, S., Taheri, M. A., & Semsarha, F. (2020). Alleviative effects of Fara-darmani consciousness field on *Triticum aestivum* L. under salinity stress. *F1000Research, 9,* 1089. https://doi.org/10.12688/f1000research.25247.4

14. Taheri, M. A., Zarrini, G., Torabi, S., Nabavi, N., & Semsarha, F. (2021). Influence of Fara-darmani consciousness field on bacterial population growth. *bioRxiv.* https://doi.org/10.1101/2021.01.08.426007

15. Taheri, M. A., Semsarha, F., & Modarresi-Asem, F. (2020). An investigation on the electrical activity of the brain during Fara-Darmani connection in the Fara-therapist population. *SSRN Electronic Journal. https://doi.org/10.20944/preprints202009.0679.v1.*

16. World Health Organization. (2020). *Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease 2019 (COVID-19): Interim guidance, 12 February 2020.* Geneva, Switzerland: WHO.

17. Reed, L. J., & Muench, H. (1938). A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *American Journal of Epidemiology, 27*(3), 493–497. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a118408

18. Sharma, V. K., Jinadatha, C., & Lichtfouse, E. (2020). *Environmental chemistry is most relevant to study coronavirus pandemics.* Environmental Chemistry Letters, 18(4), 993–996. https://doi.org/10.1007/s10311-020-01017-6

19. Qi, H., Xiao, S., Shi, R., Ward, M. P., Chen, Y., Tu, W., Su, Q., Wang, W., Wang, X., & Zhang, Z. (2020). COVID-19 transmission in Mainland China is associated with temperature and humidity: A time-series analysis. *Science of the Total Environment, 728,* 138778. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138778

20. Biryukov, J., Boydston, J. A., Dunning, R. A., Yeager, J. J., Wood, S., Ferris, A., Miller, D., Weaver, W., Zeitouni, N. E., & Freeburger, D. (2021). SARS-CoV-2 is rapidly inactivated at high temperature. *Environmental Chemistry Letters, 19,* 1773–1777. https://doi.org/10.1007/s10311-021-01187-x

21. Xie, J., & Zhu, Y. (2020). Association between ambient temperature and COVID-19 infection in 122 cities from China. *Science of the Total Environment, 724,* 138201. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138201

سـرکار خانـم لالـه امانـی، پژوهش‌گـری برجسـته، دلسـوز و مشـتاق در کازموایـنتـل بـود کـه در سـال ۲۰۲۱ درگذشـت. مراتـب تسـلیت و قدردانـی صمیمانـه‌ی خـود را از تلاش‌هـای فوق‌العـاده‌ی ایشـان در ایـن تحقیقـات ابـراز داشـته و بـرای آرامـش خاطـر ایشـان دعـا می‌کنیـم.