



# معمل الفيروسات العام

“ 250 MIC ”

المعمل التاسع

نورة الكبيسي

Nalkubaisi@ksu.edu.sa

2016

# فيروسات الحيوان

## Animal Viruses





## عزل فيروسات الحيوان من العينات المصابة تتطلب ثلاثة خطوات

-1  
جمع العينات

-2  
تدوين المعلومات الخاصة بالعائل ( الحيوان )

-3  
تجهيز العينات للفحص

# عزل فيروسات الحيوان من العينات المصابة تتطلب ثلاثة خطوات



## 1- جمع العينات:

توجد علاقة بين كل من الفيروس والعائل الذي يصيبه وهذه العلاقة ممثلة في الآتي:

1- دخول الفيروس في نسيج العائل.

2- انتشار الفيروس داخل الأعضاء.

3- تركيز الفيروس في أماكن معينة من جسم العائل.



## 2- تدوين المعلومات الخاصة بالعائل ( الحيوان )



## 2- تدوين المعلومات الخاصة بالعائل ( الحيوان ) من حيث:

• عمر الحيوان.

• بداية ظهور الأعراض.

• طبيعة الأكل.

• الأمصال واللقاحات التي أخذها الحيوان ومواعيد أخذها.

• مكان الإصابة .

• عدد الحيوانات المصابة .

• مكان تضاعف الفيروس داخل العائل، حيث يتوقف ذلك على مواقع الاستقبال على الخلايا التي يدمص

عليها الفيروس، كذلك على بعض الاحتياجات الخاصة يتضاعف جزيئات الفيروس في الخلايا.



# أمثلة لبعض الأمراض الفيروسية التي تصيب الحيوانات



إفرازات



كقرحات



إسهال أو دوستكارييا



جفاف ونفوق



المكان الذي تؤخذ العينة منه

اسم الفيروس

السائل الليمفاوي للأنسجة المصابة .

الحمى القلاعية

الطحال، بعض الغدد الليمفاوية، الدم.

الطاعون البقري

المخ، الغدد الليمفاوية في الأمعاء.

النيوكاسل

البثرات على الجلد والأغشية المخاطية للفم والعين.

جدري الطيور



### 3- تجهيز العينات للفحص ويجب ملاحظة الآتي:

- يفضل دائماً عند جمع العينات أن تكون من حيوانات حية مصابة لأن الحيوانات الميتة تكون تعرضت للتلوث بالبكتيريا والفطريات.
- وضع العينات في زجاجات معقمة كل عينة على حدة مع أحكام القفل.
- وضع عينات الفحص الهستولوجي في زجاجات معقمة محكمة الغلق تحتوي على 10% فورمالين.
- العينات المأخوذة على صورة سائل مثل الدم، اللعاب، البول و الإفرازات تحفظ كما هي في الزجاجات، يضاف الى عينات الدم سترات الصوديوم أو مركب EDTA.



## خطوات تجهيز العينة:

- تؤخذ العينة من المكان المفضل تواجد العائل فيه.
- تؤخذ العينات التي تم جمعها في زجاجات معقمة الى المعمل وتحفظ مباشرة في الثلاجة عند درجة حرارة -20 م لحين العمل عليها.
- توضع العينة في هاون معقم بعد وزنها ثم يضاف لها بنفس وزنها رمل معقم أو مسحوق زجاج معقم ثم تهرس جيداً وذلك يتم تحت ظروف التعقيم.
- يضاف الى العينة محلول منظم بواقع 10سم لكل 10جم من العينة المهروسة مع التقليب للحصول على مستحلب.

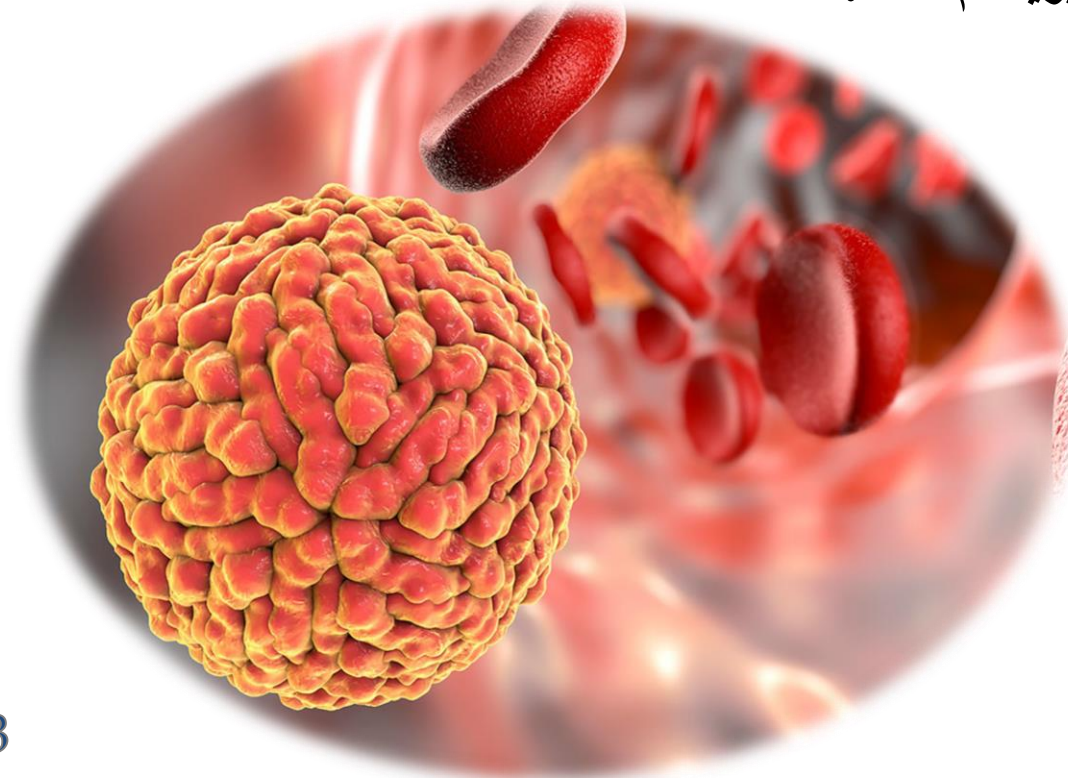
## خطوات تجهيز العينة:

- تجرى عملية الطرد المركزي عند 3000 لفة في الدقيقة لمدة عشر دقائق ثم يجمع الرائق في زجاجات معقمة ويضاف اليها البنسلين وستربتوميسين بنسبة 100 وحدة دولية 100 جرام على العينة على التوالي .
- من العينة السابقة يتم تلقيح المرق المغذي ثم تحضن عند 37 درجة مئوية لمدة 48 ساعة للكشف عن التلوث البكتيري.



- يحفظ معلق الفيروس السابق عند -20 أو بالتجفيد.

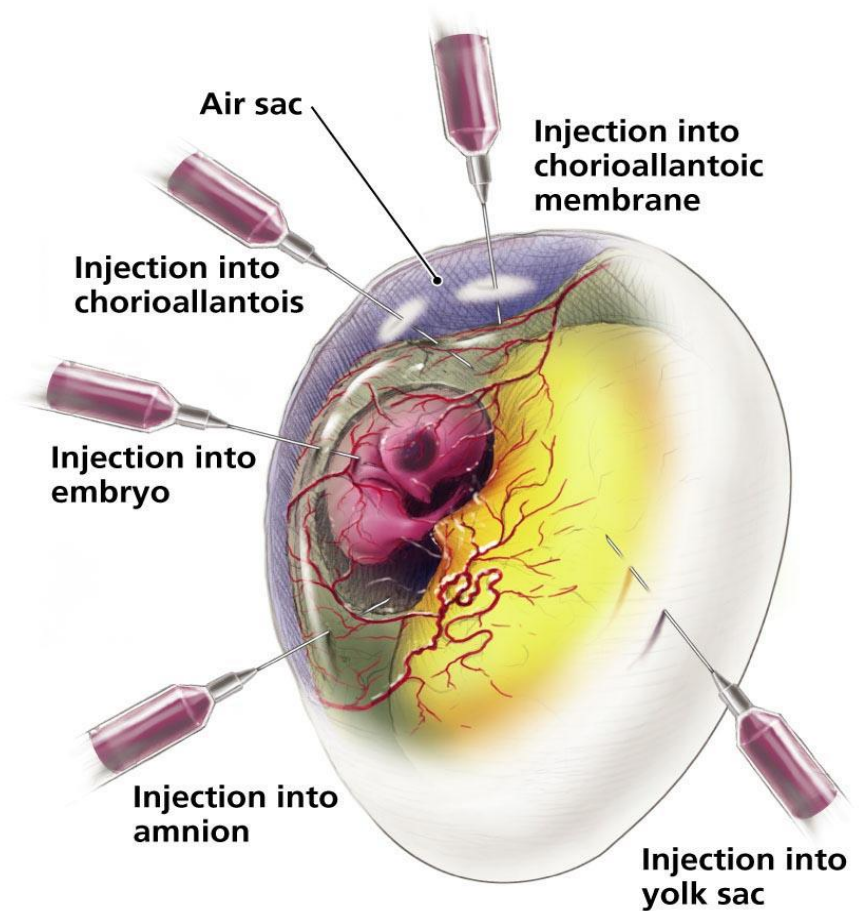
- في حالة أخذ عينة دم يضاف 1سم من محلول 2% من سترات الصوديوم ومحلول فسيولوجي لكل 9 سم من الدم ، ثم تحفظ في الثلاجة حتى يتم فصل البلازما ثم يعمل لها طرد مركزي عند 3000 لفة في الدقيقة لمدة 5 دقائق ثم نأخذ الرائق ويضاف له مضادات حيوية ثم تحفظ.



زراعة الفيروس في جنين

بيض الدجاج

# Virus culture in Embryo nation Chicken Eggs



Copyright © 2006 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

- الفيروسات متطفلة حتما, ولقد كانت الطرق الأولى لتنمية الفيروسات المسببة للمرض على الحيوان لأغراض الدراسة تستخدم إما العائل الطبيعي أو أحد الحيوانات المعملية الملائمة لزراعة الفيروسات .

- ولقد أظهرت الدراسات فيما بعد بخصوص زراعة فيروسات الحيوانات أن جنين الدجاج يمكن استخدامه لزراعة كثير من هذه الفيروسات ولما كانت الزراعة في جنين الطيور أكثر اقتصادية من الزراعة في حيوانات التجارب، فقد استخدمت في:

- 1- عزل وتعريف وتقدير أعداد وحفظ كثير من فيروسات الحيوان.

- 2- إعداد اللقاحات المضادة لها.

- وفي هذا التدريب سوف تشاهد على أجنة الدجاج chick embryos فيروس مرض النيوكاسل الذي يصيب

الدجاج.

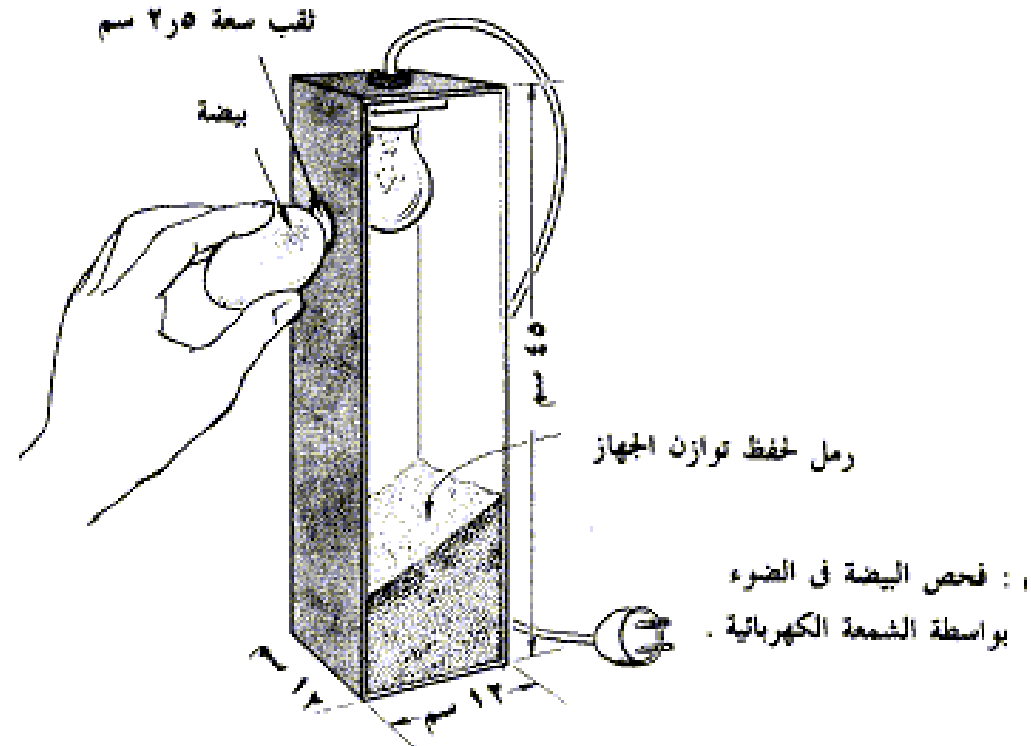




## • طريقة العمل Procedure

1. ضع بيضتين محتويتين على أجنة في مواجهة الضوء باستخدام أشعة الشمعة الكهربائية بحيث يكون

محورهما الطوليان أفقياً ثم حدد وضع علامة على موضع الغرفة الهوائية للبيضة.



2. عقم قشرة البيضة في منطقة القشرة الهوائية وذلك بمسح المنطقة المعلمة بمحلول اليود مع المحلول الذي

أمامك .عقم إبرة مقاس 18 في محلول قاتل للميكروبات ثم عرضها للهب واستخدمها في ثقب قشرة بيضة

واحدة في أعلى نقطة من الغرفة الهوائية.

• **تحذير:** احرص على عدم ثقب الغشاء الموجود عند قاعدة الغرفة الهوائية وفي الدراسات التي تجرى في

المعمل على أعداد كبيرة من البيض يستخدم ثاقب كهربائي لثقب القشرة.

3. استخدام حقنة سعة 1 مل وباستخدام إبرة مقاس 27 (2 سم) لفتح التجويف الإنتيوزي **allantoci**

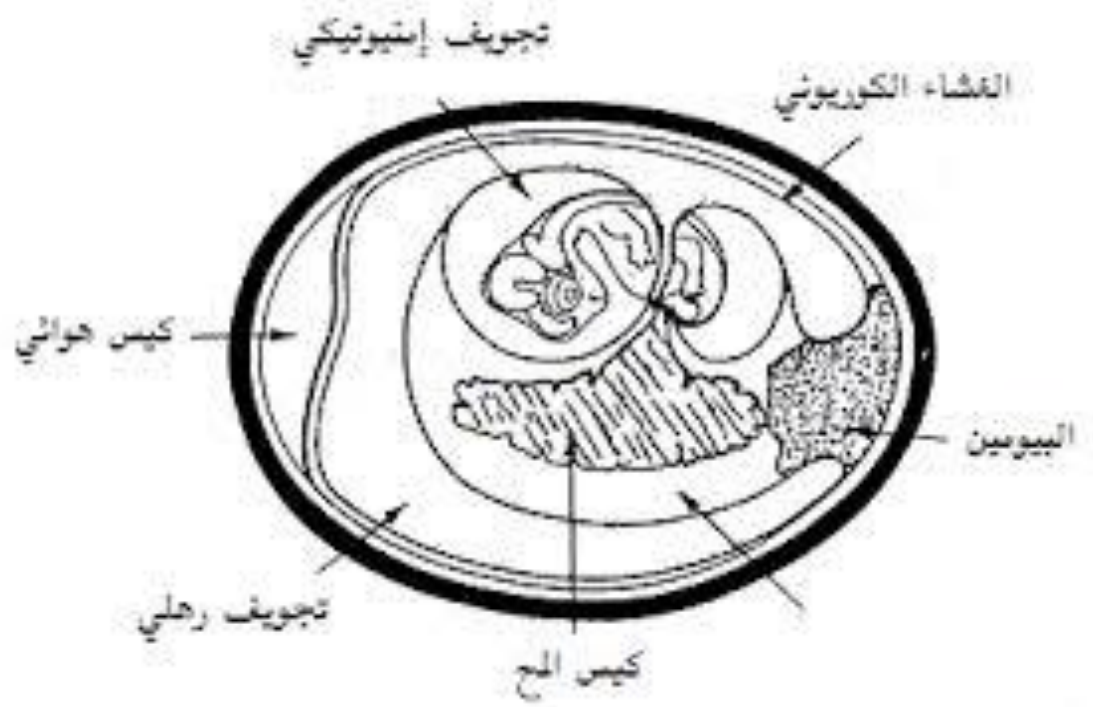
**cavity** بمعلق فيروس النيوكاسل المخفف الذي أمامك وذلك بإدخال الإبرة عمودية من خلال ثقب القشرة

ثم إدخال كل طول الإبرة موازيا لمحور الطول للبيضة ثم احقن 0.2 مل من المستحضر الفيروسي ثم

اسحب الإبرة وأغلق الثقب باستخدام مادة لاصقة **duco cement** أو شمع البرافين.

• كمقارنة ... احقن البيضة المخصبة الثانية بواسطة 0.2 مل من محلول ملحي معقم مستخدما الخطوات 1,2

ثم أغلق الثقب أيضا بالمادة اللاصقة أو شمع البرافين.



4. حضن البيض على درجة 37 درجة مئوية في محضن يحتوي على صوان بها ماء للمحافظة على رطوبة

الجو المناسبة.

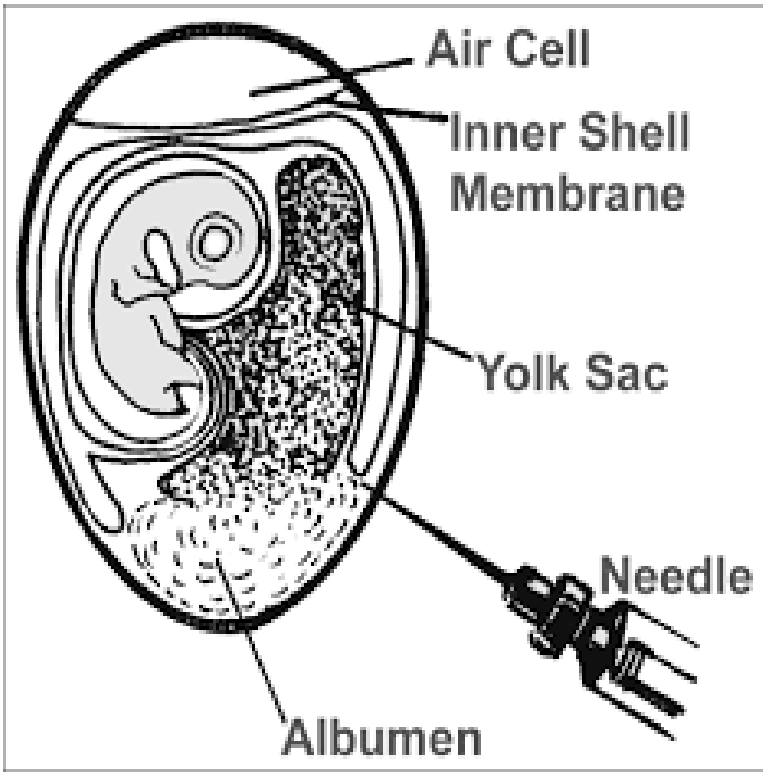
5. افحص البيض الملقح تحت الضوء بواسطة أشعة الشمعة الكهربائية في الدرس العملي التالي وذلك

بالنسبة لموت الجنين والذي يمكن التأكد منه بتوقف الحركة أو اختفاء القشور من قشرة البيض ويسبب

فيروس النيوكاسل موت الجنين خلال 3 أو 4 أيام بعد التلقيح إذا تأكدت من موت الجنين اكسر قشرة

البيضة وقم بتفريغ محتوياتها في طبق بتري آخر قارن شكل الجنين في الحالتين لاحظ وجود أي علامات

شاذة على جنين البيضة الملحقة مثل إصابات , ووجود بقع ميتة, ووجود نزيف دموي.



• (ملاحظة: إذا حدث الموت خلال 24 ساعة من التلقيح

فمعنى أنه حدث بسبب إصابة بكتيرية وليس بسبب فيروس

مرض النيوكاسل).

• **تحذير:** اغسل جيدا بالماء والصابون بعد التجربة, لا تلمس

عينيك حيث أن فيروس النيوكاسل يمكنه أن يسبب التهاب

ملتحمة العين conjunctivitis في الإنسان.



# نهاية المعمل التاسع

