WWW.K88.BLOGFA.COM

ویروس شناسی

دامپزشکی

استاد: دکتر هادی پورتقی

آبان۸۹

Word2007fa.blogspot.com

بسمه تعالی

مقدمه:

آن هنگام که دانشمندان سخت به پژوهش‌های باکتریایی خویش سرگرم بودند متوجه شدند پالا[1]های میکروبی نمی‌تواند مایع خروجی را پاک کند. به فکر فرو رفته از خویش پرسیدند این چیست که از پالای میکروبی می‌گذرد؟ جمعی چند به گمان آن‌که این جرم به یقین سم می‌باشد نام Virus بر آن نهادند. اما چندی نگذشت که به اصل مطلب پی برده Virion را برگزیدند. واژه‌ی ویریون، ویروس کامل، یعنی آن‌چه حتماً دارای ژنوم است را شامل می‌شود.

- **تفاوت ویروس‌ها با دیگر پاتوژن‌ها:**

۱. اندازه‌ای بسیار کوچک دارند به طوری که برای سنجش اندازه‌ی آن‌ها از یکای نانومتر (nm) استفاده می‌شود در حالی که برای باکتری‌ها از μm استفاده می‌شود که نانومتر $\frac{۱}{۱۰۰۰}\mu m$ می‌باشد که میکرومتر خود $\frac{۱}{۱,۰۰۰,۰۰۰}$ متر است.

به جاست به یادآوری این ضرایب فیزیکی بپردازیم[2]:

مضرب	نام پیشوند	علامت اختصاری
$۱۰^{۱۸}$	اگزا	E
$۱۰^{۱۵}$	پتا	P
$۱۰^{۱۲}$	ترا	T
$۱۰^{۹}$	گیگا	G
$۱۰^{۶}$	مگا	M
$۱۰^{۳}$	کیلو	K
۱۰	دکا	da
$۱۰^{-۱}$	دسی	d
$۱۰^{-۲}$	سانتی	c
$۱۰^{-۳}$	میلی	m
$۱۰^{-۶}$	میکرو	μ
$۱۰^{-۹}$	نانو	n
$۱۰^{-۱۲}$	پیکو	p
$۱۰^{-۱۵}$	فمتو	f
$۱۰^{-۱۸}$	آتّو	a

در میکروسکوپ الکترونی رنگ‌آمیزی فسفو تنگستات برای دیدن اجزای بیرونی ویروس استفاده می‌شود.

۲ــ ویروس‌ها درون خود هیچ اندامکی ندارند.

۳ــ زندگی انگلی دارند. ویروس‌ها را نمی‌توان درمحیط مصنوعی پرورش داد. ژنوم فقیر آن‌ها اجازه‌ی تولید پروتئین یا آنزیم تجزیه کننده را نمی‌دهد در حالی که درون بدن این امکانات فراهم شده است.

۴ــ آنتی‌بیوتیک‌ها بسته به نوع خود بر؛ غشا، پروتئین سازی، DNA ، و یا به طور مستقیم، بر mRNA و به صورت آنتی-متابولیت بر باکتری‌ها اثرمی‌کنند. ویروس‌ها این‌ها را نداشته در نتیجه همانند باکتری‌ها بخشی از متابولیسم‌شان از کار نخواهد افتاد و با آنتی‌بیوتیک از بین نمی‌روند.

۵ــ ژنوم آن‌ها یا DNA است یا RNA .

---

۱ ــ صافی ــ فیلتر. اغلب صفحات گرد و مسطحی است که به سرنگ وصل می‌شوند و مایع را درونش تزریق کرده از آن طرف جمع می‌کنند.

۲ ــ برگرفته از فیزیک هالیدی/ (ب.ر)

- **تعریف ویروس:**

ویروس‌ها ذات‌ها یا عناصری هستند، درون سلولی و بالقوه بیماری‌زا که اسید هسته‌ای آن‌ها یا DNA و یا RNA است و با استفاده از سیستم انرژی‌زای سلول میزبان می‌توانند تزاید پیدا کنند. از ویژگی منحصر به فرد آن‌ها این است که برخی از آن‌ها می‌توانند ژنوم تک رشته‌ای داشته باشند! (مثلاً تنها یک رشته DNA)

برخی از ویروس‌ها مثل آدنو ویروس‌ها به صورت بلور در می‌آیند. به همین دلیل ویروس‌ها را در لبه‌ی حیات قرار می‌دهند. بنا بر تعریفی، موجود زنده موجودی است که بتواند پس از جدا شدن از اصل خویش موجود مشابه خود را تولید کند. این تعریفِ دست و دلبازانه تنها تعریف از موجود زنده است که ویروس‌ها را درمیان زندگان جای می‌دهد.

- **ساختمان ویروس‌ها:**

انگل درون سلولی اجباری‌اند. در سال ۱۸۹۲ نخستین ویروس شناخته شده در دامپزشکی که ویروس foot & mouth disease virus یا به اختصار FMD کشف شد. ویروس از یک پوشش پروتئینی به نام کپسید و کپسید نیز از واحدهای کوچک‌تری به نام کپسومر تشکیل شده است. کپسید ویروس‌ها بر دو نوع، تقارن بیست وجهی Icosahedual و تقارن مارپیچی Helical استوار است.

تقرن بیست وجهی پوششی است که بر آن ۲۰ وجه (=Face) ، ۳۰ لبه (Edges) و ۱۲ گوشه (Comers) دارد. در برخی ویروس‌ها به علاوه‌ی کپسید پوششی به نام enveloped یا غشا وجود دارد که با غشای سیتوپلاسمی تفاوت بسیار دارد.

بر انولُپ ممکن است برجستگی‌هایی به نام Spake یا پپلومر که همان پروتئین‌های سطحی هستند باشد که از همین ویژگی در طبقه‌بندی ویروس‌ها استفاده شده است. در مجموع از جایگشت شاخصه‌های بیست وجهی یا مار پیچی و با غشا یا بی‌غشا بودن، در طبقه بندی ویروس‌ها سود می‌برند.

ویروس‌های مارپیچ در پزشکی و دامپزشکی وجود ندارند و جالب آن‌که لزوماً درون فضای کپسید ژنوم وجود ندارد و معدودی بدون ژن تولید می‌شوند.

- **ترکیب شیمیایی ویروس:**

Nucleic Acid = Genume = RNA or DNA (not both)

گاه در خانواده‌ی رترو ویروس‌ها و ویروس هپاتیتB در روند تکثیر، فرمی از RNA به DNA تبدیل می‌شود.

DNA در ویروس‌ها به چه صورتی است؟

یا تک رشته است یا دو رشته. مثلاً پارواویریده‌ها[1] به صورت تک رشته می‌باشند. به غیر از سیرکو ویریده که ژنوم خطی حلقوی دارد و پرو ویریده که حلقوی است بقیه ژنوم خطی دارند.

RNA در ویروس‌ها به چه صورتی است؟

به جز دلتا ویروس که DNA تک رشته‌ای دارد و عامل هپاتیت B انسان است همه خطی هستند. خطی‌ها می‌توانند یا تک یا زوج رشته باشند. ویروس‌های RNA تک رشته‌ای؛ برخی +sense[2] و برخی – sense می‌باشند. منظور از مفهوم در +sense ها یعنی اگر RNA به صورت مستقیم به ریبوزوم بچسبد و به پروتئین ترجمه شود +sense (همانند روش RNA سلول) و اگر به ریبوزوم نچسبد و با استفاده از آنزیم RNAترنس‌کریپتاز، RNA را معکوس نوشته و این RNA ی معکوس شده را به ریبوزوم برای ترجمه به پروتئین بفرستد sense منفی نامیده می‌شود.

Sense positive → AUG GCA CGA→ساخت

---

۱ ــ روترا ویریده عامل اسهال ویروسی نوزاد انسان است.

۲ ــ به معنای مفهوم‌ــ ادراک احساس منطق و خرد نیز می‌باشد! (ب.ر)

Sense negative→ AUG GCA CGA → trans criptaze →UAC CGU GCU → ساخت

در بین ویروس‌ها، ویروس مولد آبله (=pax viride) کپسید بدون تقارن [نه بیست وجهی نه مارپیچی] داردند. باکتریوفاژها یعنی ویروس‌هایی که برای رشد به باکتری نیاز داردن و در واقع انگل درون سلولی باکتری می‌باشند تقارن مضاعف دارند. یعنی هم-زمان، هم تقارن ۲۰وجهی و هم مارپیچی داشته قسمت head تقارن ۲۰وجهی و دم تقارن مارپیچی دارد.

برخی از RNAدارها به صورت تک رشته‌ای و برخی دیگر چند رشته‌ای‌اند:

5′ ⟵ 3′ 5′ ⟵ 3′

همه‌ی ویروس‌ها به صورت هاپلویید هستند به جز برخی که دیپلوییداند و در مراحلی از رترو ویروس‌ها دیده شده است؛ به این معنا که در رونویسی از هر ژنی دو نسخه تولید شده و محتوای ژنی به $2n$ تبدیل می‌شود. به غیر از رترو ویروس‌ها دیگران تک نسخه‌ای هستند. رترو ویروس‌ها آنزیم خاص ریورس ترنس‌کریپتاز را دارند که به یاری آن از روی RNA تولید DNA می‌کنند.

چهار عنصر حیاتی ویروس‌ها:

۱ـ ژنوم ← Structural ← کپسید ← برخی در کنار ژنوم قرار دارند

۲ـ پروتئین‌ها ← non Structural ← بیش‌تر در تکثیر ویروس و یا در ایجاد اختلال در سلول‌های میزبان نقش دارند.

۳ـ ٪۲۵ـ٪۲۰ وزن خشک ویروس‌ها را چربی تشکیل داده است و به صورت کلسترول و بیش‌تر فسفولیپیدی است. چربی اگر باشد در enveloped وجود خواهد داشت. چربی‌های حاضر مربوط به سلول میزبان بوده که ویروس آن را از پوشش‌های میزبان، غشای هسته یا سیتوپلاسم گرفته است. باید توجه داشت که پروتئین‌های روی غشای ویروس (=enveloped) مربوط به خود ویروس هستد. چربی‌ها یا به صورت لیپوپروتئین یا به صورت پنتوز در اسیدهای نوکلئیک DNA و RNA هستند.

• طبقه بندی ویروس‌ها:

اساس طبقه بندی ویروس‌ها:

۱ـ خصوصیات ریخت‌شناسانه: نوع تقارن کپسید، شکل ویروس‌ها، اندازه (بر حسب nm)، غشادار یا بی‌غشا بودن.

۲ـ خصوصیات ژنومیک: نوع محتوای ژنی، RNA یا DNA دار بودن و ... . / استراتژی تکثیر یا روند تکثیر: هر چند خانواده‌ی ویروسی روند تکثیر خاص خود را دارند.

۳ـ خصوصیات فیزیکی: pH محیط، (مثلاً پارّو ویروس‌ها pH ۳ تا ۹ را تحمل می‌کنند)، مقاومت به اتر یا کلروفرم یا حلال‌های چربی که در این میان، ویروس‌های غشادار حساس‌ترند.

۴ـ خصوصیات بیولوژیک: الف) بررسی این نکته که ویروس چه گستره‌ای از میزبان‌ها را آلوده می‌کند؟ آیا همه‌ی حیوانات خونگرم را آلوده می‌کند یا فقط پرندگان و در بین پرندگان فقط ماکیان را درگیر می‌سازد؟ زئونوز است یا خیر؟ ویروس عوارض سیستمیک می‌دهد یا لوکال و آیا اندام خاصی را آلوده می‌کند؟/ ب) سرعت رشد.

آیا لازم است تمام اجزای سلول شناسایی شود؟

بسته به مخاطب دارد که کدام ویروس در کدام خانواده مهم است. برای این منظور باید خصوصیات کلی همه‌ی خانواده‌ها را بدانیم.

مراتب دسته‌بندی ویروس‌ها:

۱↓	Order/رده	→virales
۲↓	Family	→viridae` ویریده
۳↓	Sub family	→virinae ویرینه
۴↓	Genus	→virus

۵↓	Species or type/گونه	
۶↓	sub type/ تحت گونه	
۷	strain /سویه	

پیشوند در ویروس‌ها:

۱ـ Mono negavirals: ژنوم آن RNA است.

۲ـ Pax viridae: pax ← pok ← برجستگی‌ها

۳ـ Flavy virus: *flavi* = تب زرد

***

تعریف طبقه‌های ویروسی:

خانواده:

ویروس‌هایی که دارای مورفولوژی و استراتژی تقسیم یکسانی باشند خصوصیات ژنومی مشابه داشته این ویروس‌ها را می‌توان درون یک خانواده جای داد.

تحت خانواده:

تفاوت آن‌ها در خصوصیات بیولوژیک می‌باشد. مثلاً یکی پستانداران و دیگری پرندگان را آلوده می‌کند.

رده:

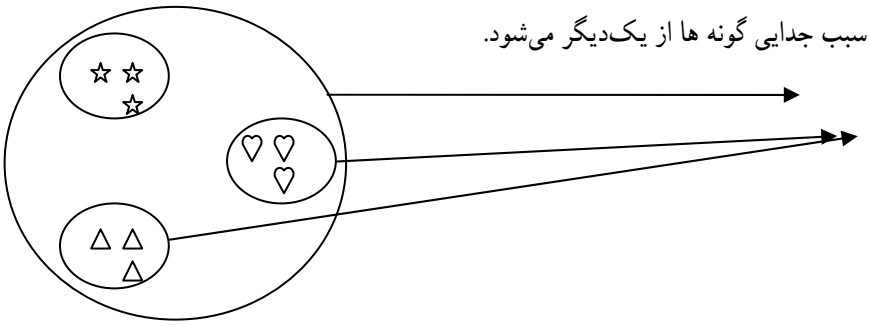
خانواده‌ها با خصوصیات مشترک را درون یک رده جای می‌دهند.

جنس:

جنس A و B در یک آنتی‌ژن[1] اصلی با هم تفاوت دارند به علاوه خصوصیات بیولوژیک آن‌ها متفاوت است.

گونه:

آنتی‌ژن‌های فرعی آن‌ها سبب جدایی گونه ها از یک‌دیگر می‌شود.



خانواده‌های ویروسی

- ## ویروس با ژنوم DNA

بر اساس DNA و RNA بررسی می‌شود.

ویروس با DNA تک رشته‌ای (virus with ss-Single Strante- DNA genoms):

1. Circoviridae➤circovirus:

کپسید با تقارن ۲۰ وجهی، بدون غشا/ ویروس عامل آنمی عفونی ماکیان infection chicken anemia .

2. Parvoviridae:

DNA تک رشته‌ای خطی دارند. کپسید متقارن ۲۰ وجهی، بدون غشا

2-1 parvovirus:

در پرورش سگ اهمیت دارد.

---

۱ ــ پادگن ــ پروتئین شناساندن ویروس به بدن (ب.ر)

3. Hepadenaviridae:

DNA دار زوج رشته‌ای نامساوی (استثنایی در ویروس‌ها) و بعداً به صورت حلقوی در می‌آید. کپسی تقارن ۲۰ وجهی و غشا دارد. بیماری مهم این خانواده هپاتیت B انسانی است.

4. Papvaviridae(P=*papiloma virus* & P= *polymavirus*):

ویروس عامل زگیل، DNAزوج رشته‌ی فوق مارپیچ (حلقوی و super helix ، کپسید با تقارن ۲۰ وجهی و بدون غشا.

5. Adenoviridae:

DNA زوج رشته‌ای خطی، کپسید متقارن ۲۰ وجهی، بدون غشا. بیماری‌های مهم آن هپاتیت عفونی سگ (ICH) = *Infection Canaine Hepatitis* و سندروم *کمبود تخم مرغ ماکیان* (EDS)

6. Herpesviridae:

هرپس به معنای خزیدن است. با خزیدن از سلولی به سلول دیگر می‌روند. و لازم نیست واسطای داشته باشند. DNA آن زوج رشته‌ای خطی، تقارن ۲۰ وجهی و غشادار است.

7. Alphaherpesvirinae (دارای سه تحت خانواده)➤varicellovirus (آبله مرغان)

عامل بیماری مارک یا همان لارنگو تراکئیت عفونی. بیماری عفونت بینی و نای گاو نیز در این زیرخانواده می‌باشد. هم‌چنین تب نزله‌ای بدخیم و منو نوکلئوز عفونی هم در آن وجود دارد.

8. Asfarviridae➤asfivirus:

ژنوم زوج رشته‌ای خطی، کپسید ۲۰ وجهی، غشادار/ از تفاوت‌های آن زندگی در سیتوپلاسم است.

9. Paxvieidae➤:

DNA زوج رشته‌ی خطی، کپسید بدون تقارن، غشادار/. بزرگ‌ترین ویروس‌ها در این خانواده جای دارند.

بیماری‌های مهم بر حسب جنس:

9-1: orthopoxvirus..... آبله‌ی گاوی، آبله‌ی انسانی

9-2: parapoxvirus..... بیماری orf(ضایعات زبر و خشن–زئونوز در دست) آبله‌ی کاذب گاوی (علائم شبیه آبله)

9-3: capipoxvirus..... آبله‌ی گوسفند و بز. بیماری مهم اقتصادی است

9-4: Avipoxvirus..... آبله‌ی پرندگان

• ویروس با ژنوم RNA

الف) + sense : کپسید با تقارن بیست وجهی و بدون غشا

10. Picornaviridae➤

10-1: hepatovirus..... عامل هپاتیت نوع A انسانی

10-2: Entrovirus..... فلج اطفال

11. Astroviridae

کپسید با تقارن ۲۰ وجهی، بدون غشا

11-1: astrovirus..... اسهال‌هایی که چندان مهم نیست ایجاد می‌کند

12. Clasiviridae➤vesivirus

کپسید ۲۰ وجهی بدون غشا، ژنوم RNA تک رشته‌ای + sense.

تب هموراژیک خرگوش و کلی ویروس گربه وویروس ایجاد کننده هپاتیت E در این خانواده مهم هستند.

13. Flaviviridae ⟶ Flavivirus
⟶ Regovirus

کپسید با تقارن ۲۰ وجهی، غشادار. عامل بیماری نیل غربی (محلی در باختر رود نیل)، تب استخوان شکن، تب انتقالی از کنه؛ آنسفالیت تابستانه‌ی روسیه

Pestivirus:..... بیماری اسهال ویروسی گاو و درگیری مخاط BVD-MD

14. Togaviridae:

Togo به معنای تاج و از پپلومرهای تاج مانند بر انولپ آن گرفته شده است. ژنوم RNA تک رشته + sense و کپسید ۲۰ وجهی غشادار. عامل آنسفالیت شرقی، غربی و آنسفالیت ونزوئلایی که در انسان کشنده است.

Rubivirus: ..... عامل Rubella عامل سرخجه در انسان (مهم)

***

Order Nidovirales:

این ویوس‌ها همانند ویروس‌های پیشین ژنوم تک رشته‌ای + sense دارند که البته استراتژی خاصی در تکثیر خویش به کار بسته‌اند.

15. Coronaviridae➤coronovirus (AIBV & FIPV)

پپومرتاج‌دار کپسید مارپیچ. مهم‌ترین ویروس عامل برونشیت عفونی در پرندگان است. همچنین عامل اسهال نوزادان و البته ویروس سارس هم جزء این خانواده می‌باشند.

16. Areriviridea➤Arterivirus (IEA):

کپسید با تقارن ۲۰ جهی و غشادار. بیماری آن تورم سرخرگی اسب است.

Order Mononegavirales:

17. Paramyxoviridea ⟶ paramyxovirnae
⟶ pneumovirinae

نخستین بار آن‌ها با ویروس آنفولانزا myxo در یک خانواده جای گرفتند اما بعدا از هم جدا شدند.

کپسید با تقارن مارپیچ و غشادار است. paramyxovirnae دو تحت خانواده دارد و مهم‌ترین ویروس‌ها در جنس morbilivirus یا طاعون گاوی قرار گرفته‌اند که اگر در کشوری دیده شود همه‌ی دام‌های منطقه را به خطر می‌اندازد. در همین جنس بیماری Distemper در سگ دیده می‌شود. بیماری سرخک در جنس Rubalavirus عامل اوریون و جنس Avulavirus نیوکاسل ایجاد می‌کند.

در تحت خانواده‌ی Pneumovirinae پاتوژن‌های دستگاه تنفس دیده می‌شود.

18. Rhobdoviridae:

روبدو به معنی تفنگ است. کپسید آن متقارن مارپیچی و غشادار است.

مهم‌ترین جنس آن Lyssavirus؛ عامل هاری است. هم‌چنین جنس Ephemerovirus در این خانواده بیماری تب سه روزه را ایجاد می‌کند.

19. Filoviridae:

نخی شکل (=filo) یعنی با طول زیاد و عرض کم. ژنوم RNA تک رشته‌ای - Sense . کپسید با تقارن ۲۰ وجهی و مارپیچ و غشاداراست. بیماری Marburg و ویروس Ebola در این خانواده است.

20. Bornaviridae➤bornavirus:

– Sense کپسید با تقارن مارپیچی. عامل بیماری برنا در اسب.

***

ویروس‌هایی که ژنوم آن‌ها سگمنته‌است ولی در دسته‌ی خاصی قرار نگرفته‌اند:

21. Orthomyxovirridae:

ژنوم RNA تک رشته‌ای – sense ۷ تا ۸ قطعه است. کپسید مارپیچی و غشادار.

مهم‌ترین جنس آن در حیوان و انسان آنفولانزای پرندگان نوع A است که میزبان آن پرندگان آبزی است. این در خوک و اسب هم دیده شده است.

22. Arenoviridae:

Areno به معنی شن بوده به دلیل منظره‌ی شن مانند آن زیر میکروسکوپ گویند.

RNA تک رشته‌ای – sense دو قطعه‌ای،کپسید با تقارن مارپیچ و غشادار است. مهم‌ترین بیماری آن LCM است که از راه موش به اسب و انسان منتقل می‌شود. یک رشته بیماری‌های تب هموراژیک در این خانواده دیده می‌شود.

23. Bunyaviridae:

RNA تک رشته - sense،؛ دارای سه قطعه، که یک قطعه‌ی کوچک Ambisense دارد به این معنا که هم مثبت است هم منفی. کپسید آن مارپیچی و غشادار است.ویروس‌های مهمی از نظر زئونوز بودن در آن وجود دارد:

I. Phlebovirus: تب دره‌ی ریفت که از دام و محصولات دامی منتقل می‌شود.

II. Nairovirus: تب کریمه‌ی کنگو که با واسطه‌ی کنه‌ی هیالوما منتقل می‌شود. در دام علائمی ندارد اما در انسان تب خونریزی دهنده می‌دهد.

III. Hantavirus: بیماری خونریزی دهنده‌ی ایجاد می‌کند و در تماس با موش ایجاد می‌شود. به‌خصوص در آزمایشگاه و شهرهای کثیف و روستاها به ویژه در زمستان که موش‌ها به انبار می‌زنند و با انسان همسفره می‌شوند.

IV. ویروس با RNA زوج رشته. در دنیا تنها این دو ویروس با ژنوم RNA دو رشته‌ای شناخته شده‌اند.

24. Birnaviridae:

RNA دو رشته‌ای ــ دو قطعه‌ای و ژنوم به صورت +,- sense که یک رشته منفی و یک رشته مثبت است. کپسید دارای تقارن ۲۰ وجهی بدون غشا که کپسیدشان کمپلکس دو رشته‌ای داشته و حالت مضاعف پیدا کرده است.

مهم‌ترین بیماری در این خانواده Infectious Bursal Disease (= بیماری بورس عفونی پرندگان) یا گامبرو است.

25. Reoviridae:

RNA آن زوج رشته‌ی ۱۰ تا ۱۲ قطعه‌ای است و برای کپسید با تقارن ۲۰ وجهی که مانند Virnaviridae کپسید مضاعف داشته و بدون غشا است. از جنس‌های آن می‌توان به الف) Orbivirus عامل بیماری زبان آبی و طاعون اسبی و همچنین Rotavirus عامل اسهال در انسان و حیوانات نام برد. شایان ذکر است که نخستین و مهم‌ترین عامل اسهال روتا ویروس و سپس کرونا ویروس‌ها هستند.

26. Retoviridae:

این خانواده دارای آنزیم ترنسکریپتاز هستند. یعنی از روی RNA ؛ DNA می‌سازند. ویروس‌های این خانواده ایجاد سرطان می‌کنند زیرا با DNA میزبان ممزوج می‌شوند.

لکوز پرندگان (بیماری‌یی سرطانی در پرندگان) Avian leukosis virus.....Alpharetrovirus

هم‌چنین بیماری‌های آنمی عفونی اسب، بیماری لکوز در گاو (درگیری شایع گاوداری‌ها) ، تومور و افزایش لنفوسیت‌ها را نیز ایجاد می کند. هم‌چنین ایدز توسط ویروس‌های این خانواده به توسط جنس Letivirus ایجاد می‌شود. HIV حیوان آزمایشگاهی حساس ندارد و در ابتدای بیماری کند پیش می‌رود. از دیگر جنس‌های مشابه SIV, EIV, BIE در حیوانات گوناگون به‌خصوص میمون است.

- **تکثیر ویروس‌ها:**

نخستین اطلاعات تکثیری، از مطالعه و بررسی باکتریوفاژها حاصل آمد. باکتریوفاژها ویروس‌هایی‌اند که انگل درون سلولی باکتری‌ها می‌باشند. دو مرحله‌ی ابتدایی و انتهایی تکثیر ویروس‌ها با میکروسکوپ الکترونی قابل مشاهده بوده اما میانه‌ی کار همچنان ناشناخته مانده است و به همین علت اطلاعات کمی در دسترس‌مان می‌باشد و با مطالعات مولکولی انجام شده در حال تکمیل شدن است. هر گروه از خانواده‌های ویروسی؛ یک روش تکثیر منحصر به فرد خویش را دارند. در این‌جا ما تنها به بررسی مشترکات این روش‌ها می‌پردازیم. در فرآیند تکثیر سه مرحله‌ی اصلی دیده می‌شود. ابتدایی، میانی، انتهایی.

الف) مرحله‌ی ابتدایی ــ اتصال:

۱. اتصال ویروس به سلول میزبان حساس Attachment : این اتصال فقط بین لیگاند ویروس و گیرنده‌ی سلول میزبان اتفاق می‌افتد. یعنی هر ویروسی تمام سلول‌های پیکر میزبان را آلوده نخواهد کرد و بین گونه‌های آن میزبان حرکت نمی‌کند.

برخی از خانواده‌های متفاوت از رسپتور خاص مثلاً گیرنده‌های هورمونی استفاده می‌کنند. گاه برخی از گیرنده‌های اختصاصی بهره می‌برند. مثلاً ویروس HIV از گیرنده‌ی CD4 استفاده کرده و فقط لنفوسیت‌های نوعT آن هم از نوع CD4 را درگیر می‌کند.

برخورد ویروس با سلول کاملاً تصادفی است و به همین خاطر احتمال بیماری در آلودگی بالاتر افزایش می‌یابد.

۲. نفوذ Penetration به دو صورت است:

۲ــ۱ اندوسیتوزیس: روند فیزیولوژیک سلول که در آن ویروس در یک حفره‌ی پروتئینی افتاده و توسط وزیکولی درون سلول راه می‌یابد.

۲ــ۲ فیوژن: روندی است که درباره‌ی انترو ویروس‌های غشادار رخ می‌دهد. غشای ویروس با غشای میزبان یکی شده و کپسید حاوی ژنوم در سیتوپلاسم سلول میزبان می‌افتد.

۳. پوشش اندازی Uncoting:

در روند پوشش اندازی غشا و کپسید ویروس از بین می‌رود و ژنوم ویروس درون سیتوپلاسم سلول آزاد می‌شود. این روند در برخی ویروس‌ها در حین مرحله‌ی Penetration به Uncoating و در برخی دیگر در پس از نفوذ اتفاق می‌افتد.

ب) مرحله‌ی میانی ــ سنتز یا محاب(=biosynthesis) یاeclips:

تولید پروتئین‌های مورد نیاز و ژنومِ مورد نیاز برای نسل بعد. مرحله‌ی بیوسنتز خود شامل پنج قسمت زیر است:

1. Primary transcription.....
   تولید RNAهایی که ترجمه به پروتئین‌های غیر ساختمانی (آنزیمی) که در روند تکثیر ویروس نیاز است.

2. Primary Trnaslator .....

ترجمه‌ی هایی که برای تکثیر مناسب‌اند

3. Reptiation .....
تکثیر ژنوم DNA یا RNA برای نسل بعد

4. Late Transcription .....
RNAهای ساختمانی تولید می‌شوند

Late Translation.....
تولید پروتئین‌هایی که به صورت پیلومر در انولپ ویروس‌ها برای ساخت کپسید ساخته می‌شود

پ) مرحله‌ی انتهایی:

پروتئین‌های ساختمانی به هم مونتاژ شده در حالی که در وسط آن‌ها ژنوم قرار دارد. گاهی ژنومی هم در کار نبوده یک ویروس بدون ژنوم ساخته می‌شود. سپس Release (آزاد شدن) به دو صورت رخ می‌دهد. الف) جوانه زدن = Budding [اغلب غشادارها] ب) متلاشی کردن سلول میزبان = Lasing

- ## کشت به روش عیار سنجی ویروس‌ها:

نخستین کشت‌ها به منظور پیشگیری از بیماری انجام شد. اولین محیط کشت همان میزبان حساس بود و برای انسان معمولاً از میمون استفاده می‌شد. بعداً از حیوانات آزمایشگاهی نیز استفاده شد. سپس وقتی دریافتند ویروس‌ها به یک اندام یا بافت خاص حمله می‌برند از روش‌های Organ culture استفاده کردند. مثلاً از نای برای ویروس نیوکاسل(؟) و از کشت بافت اپی‌تلیوم زبان گاو برای ویروس تب برفکی و از تخم‌مرغ جنین‌دار در نیوکاسل استفاده کردند. در نهایت پس از این روش‌ها دریافتند که ویروس در سلول نیز تکثیر می‌کند؛ بنابراین سلول‌ها را تریپسینه[1] کرده و از کشت سلولی استفاده کردند. باید توجه داشت که میزبان اولیه برای کشت مناسب نیست زیرا ممکن است دارای بیماری‌های نهفته‌ای باشد و هم‌چنین استفاده از آن گران است. حیوان آزمایشگاهی هم تنها برای پایش روند بیماری مناسب بوده و برای تکثیر سلولی چندان مطلوب نیست.

کشت سلول را می‌توان به چند دسته تقسیم نمود:

کشت سلول اولیه ..... Primary cell culture

یک اندام را از موجود جدا کرده و از آن برای تکثیر استفاده می‌کنند. از محاسن آن رشد راحت ویروس در این محیط کشت است. از معایب آن غیرقابل پاساژ دادن سلول‌های مورد استفاده است و قابل ازدیاد نیست. دوم آن‌که ممکن است عفونت پنهان ناخواسته‌ای وجود داشته باشد که در تکثیر ویروس دخالت کند و اگر این کشت برای تهیه‌ی واکسن استفاده شود می‌تواند آن عفونت را به همراه خود انتشار دهد. برای این کشت سلول‌ها را درون فلاسکی ریخته، سپس سلول‌ها تقسیم کرده و سطح ظرف را به طور متراکم پر می‌کنند.

کشت سلول دیپلوئید..... Diploid cell culture

برای این کشت از سلول‌های انسانی استفاده می‌شود.

Cell line .....

کشت سلول‌های سرطانی شده که قابلیت رشد بالایی دارند با این وجود برای تولید واکسن مناسب نیستند. زیرا احتمال ورود عوامل سرطان‌زا به بدن دریافت کننده‌ی واکسن وجود دارد.

---

۱ ــ هضم فیزیکی و شیمیایی

- **علائم رشد ویروس در محیط کشت:**

اثرات (CPE(= cytopathic effect یا اثرات اختلال در سلول:

CPEها معمولاً با بد شکل شدن سلول‌های سطحی روی محیط کشت قابل شناسایی‌اند. بد ریخت شدن سیتوپلاسم؛ فاصله گرفتن از سلول‌های اطراف؛ دیدن گنجیدگی‌هایی در سیتوپلاسم و یا هسته به یاری رنگ‌آمیزی H&E (هماتوکسین–ائوزین)؛ دیدن حالت syncytial (پیوسته)که در این حالت در اثر پیوستن غشای چندین سلول توسط ویروس‌ها (پارامیکسو ویروس‌ها) به هم رخ می‌دهد.

برخی ویروس‌ها CPE ایجاد نمی‌کنند. شاید گمان شود می‌توان برای این ویروس‌ها اندازه گیری pH را جایگزین CPE کرد. اما pH با رشد سلول‌ها بدون حضور ویروس هم اسیدی می‌شود. برای شناسایی چنین ویروس‌هایی سه روش پیشنهاد می‌گردد:

۱– استفاده از گلبول قرمز:

این ویروس‌ها دارای پروتئین هماگلوتینین هستند (پروتئین متصل شونده به گویچه‌ی سرخ). اگر RBC را روی محیط کشت این ویروس‌ها بریزیم بر آن کانون‌هایی تشکیل می‌شود که با شستشوی محیط نیز کنده نمی‌شود.

۲– استفاده از ویروس با اثر اختلال:

اگر روی محیط کشت ویروس‌های non sytopathic (بدون اثر اختلال در سلول) ویروس sytopathic (دارای اثر اختلال در سلول) بریزیم؛ ویروس اضافه شده رشد نخواهد کرد. برای نمونه اگر بر محیط حاوی ویروسBVD ویروس نیوکاسل بریزیم، نیوکاسل رشد نخواهد کرد.

۳– الایزای آنتی‌ژن–آنتی‌بادی (روش را ایمونوفلورسنت آنتی بادی):

در این روش آنتی‌ژن ویروس را با آنتی‌بادی می‌سنجند. پادتن ویروس مورد بررسی به گونه‌ای نشاندار شده است که در نور فرابنفش بدرخشد. آنتی‌بادی را درون محیط ریخته محیط را شستشو می‌دهند. اگر ویروس در محیط حضور داشته باشد، یقیناً آنتی‌ژن‌های آن پادتن‌ها را تحریک کرده آنتی‌بادی به آنتی‌ژن خواهد چسبید و با شستشو نیز کنده نمی‌شود آن‌گاه زیر نور UV درخشان دیده خواهد شد.

پایان تئوری در جلسه مورخ سه شنبه ۸۹/۸/۴

إِنَّ أَخوَفَ ما أَخافُ عَلىٰ أُمَّتي عَمَلُ قَومِ لوطٍ

حقیقتاً بیش‌تر از هر چیز بر امت خود از عمل قوم لوط می‌ترسم.

پیامبر اکرم (ص)

آزمایشگاه ویروس‌شناسی

جلسه‌ی اول ــ ۸۹/۷/۲۶:

فراهم‌سازی نمونه برای جداسازی ویروس:

روش‌های ویروس‌شناسی:

۱ــ روش سرولوژی: بررسی آنتی‌بادی یک ویروس (ایمنی‌شناسی)

۲ــ دنبال کردن ژن ویروسی به روش‌های بررسیDNA با PCR و بررسیRNA با RT-PCR در بدن. جداسازی ژن ویروس در بدن یعنی حضور آن ویروس در پیکر جاندار.

۳ــ کشت ویروس: کشت ویروس در محیط زنده. در این جلسه به آماده‌سازی ویروس و تلقیح آن به محیط زنده می‌پردازیم.

مراحل آماده‌سازی نمونه:

الف) اخذ نمونه: اگر دام مرده در اثر بیماری سیستمیک تلف شده است بهترین نمونه‌ها از رتیکلو اندوتلیال (دستگاه لنفاوی) و اگر از مرگ چندی گذشته باشد از Bone marrow (مغز استخوان) نمونه‌گیری کنیم. گاه طبق تاریخچه‌ی بیمار مثلاً دارا بودن علائم تنفسی؛ چند نمونه از بافت ریه یا سوآپ نای تهیه می‌کنیم. اگر دام زنده باشد و علائم سیستمیک بروز دهد، بهترین نمونه، نمونه‌ی خون سیتراته است. اگر انجام کار سرولوژی مطرح باشد نمونه باید بدون ضد انعقاد باشد. اگر مثلاً عفونت چشمی دارد از سوآپ چشم و در اسهال از سوآپ رکتال در آبله‌ی گاوی می‌توان از زخم‌های آبله در تیت پستان و در تب برفکی از سوآپ دهانی و ... بهره می‌گیریم. پس در نمونه‌گیری باید نمونه را درست جداسازی کرد و اگر نمونه بدون ویروس باشد همه‌ی مراحل بعدی بیهوده خواهد بود. باید بیماری مورد شک را مطالعه کرده و ویرمی اول و دوم را دریافت و بر اساس آن پیش رفت.

ب) انتقال نمونه: هرچه زمان کوتاه‌تری در راه تلف شود بهتر خواهد خواهد بود. هنگامی که نمونه را از بدن جدا می‌کنیم باید بدانیم در بهترین حالت تنها می‌توانیم سرعت نابودی ویروس را کند کنیم. نمونه‌ها بهتر است در کنار یخ ــ ویا یخچال پرتابل ــ و در لوله‌هایی با درب پیچ‌دار نگهداری شوند. یخ نباید با نمونه تماس داشته باشد و باید آن را درون چند کیسه‌ی پلاستیکی قرار داد آب ناشی از ذوب یخ با نمونه مخلوط نشود. یخ خشک چندان مناسب نیست زیرا CO_2 موجود در آن به ویروس آسیب می‌زند و هزینه‌ی بالاتری دارد. برای نگهداری طولانی‌تر نمونه می‌توان از تانکر ازت استفاده کرد. باید توجه داشت که نمونه سازی کاری بسیار پرهزینه و نیازمند هماهنگی‌های بسیار است. اگر قرار است نمونه را تا ۲۴ ساعت در $^{\circ}C$ ۴ ؛ تا یک هفته در $^{\circ}C$ ۲۰− و طولانی‌تر در $^{\circ}C$ ۷۰− نگهداری می‌کنیم. نیمه عمر ویروس‌ها در $^{\circ}C$ ۵۶ تا چند ثانیه و در $^{\circ}C$ ۳۷ (بیرون بدن) تا چند دقیقه و هر چه پایین‌تر بیاید بیش‌تر می‌شود. در این میان در حساسیت ویروس‌های غشادار و بدون غشا تفاوت وجود دارد.

کار بر روی نمونه‌ی دریلافتی در آزمایشگاه باید در یک محیط استریل انجام پذیرد. مراحل کشت ویروس باید حتماً زیر هود لامینار انجام شود. از هود لامینـار flow1 برای کارهای ویروسی معمـولی و بر حسب اهمیت تا flow4 برای کارهای تخصصی به کار می‌رود.در نمونه‌های مایع از سوپرناتان[1] استفاده می‌شود. سوآپ‌های دریافت شده باید درون PBS (phosphate buffer saline=) ، همان بافر فسفاته که ترکیبی شبیه به آب میان‌بافتی دارد و یا سرم فیزیولوژی خیس داده شوند تا ویروس‌ها از آن جداشوند. سپس این مایع را سانتریفیوژ کرده و از سوپرناتان آن استفاده می‌شود.

برای غدد لنفاوی و نسوج نرم باید هموژن تهیه کرد. این کار را درون ۲tenbroke انجام می‌دهند. می‌توان این کار را درون هاون چینی نیز انجام داد اما در هر صورت ظرف هموژن کننده برای هر نمونه جدا باشد. برای بهتر لـه شدن بافت می‌توان آن را با قیچیِ سر کج تکه تکه کرد همچنین درون هاون‌ها از ماسه‌بادی استریل نیز می‌توان استفاده کرد. پس از این مرحله، ۱۰ml PBS ریخته تا آب میان‌بافتی به دست آید. می‌توان در مرحله‌ی اول محتویات را یک بار با کاغذ صافی فیلتر کرده تا تکه‌های بزرگ جدا شوند. اکنون مایع از کاغذ صافی گذشته را سانتریفوژ[3] می‌کنیم. اگر ناخالصی آن زیاد بود می‌توان دیگر بار سوپرناتان را سانتریفوژ کرد. سپس از فیلتر سرنگی ۲۲۰nm برای جداسازی باکتری‌ها استفاده می‌شود. البته مایکوپلاسماها از این صافی خواهند گذشت. این فیلتر زود می‌گیرد و هر چه نمونه در این مرحله بی‌آلایش‌تر باشد بهتر و اقتصادی‌تر است. برای تلقیح به تخم‌مرغ ۰/۲ میلی‌لیتر یا ۲۰۰ میکرولیتر کافی است.

۱ــ مایع رویی لوله

۲ــ وسیله‌ای شبیه به گوشتکوب که مخزنی در ته آن برای نمونه تعبیه شده است. (ب.ر)

۳ــ سانتریفیوژ ۲۰۰۰ دور در ۵ دقیقه برای تلقیح به تخم‌مرغ کافی است.

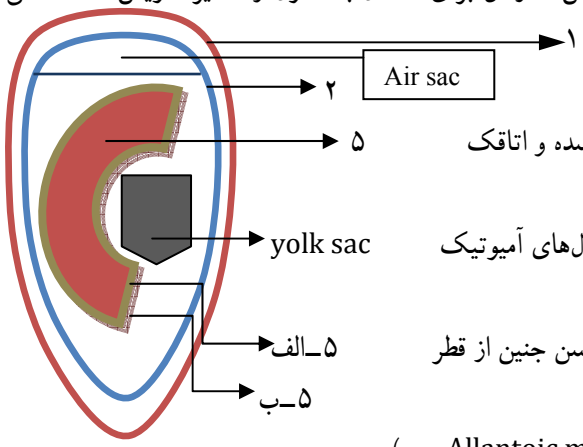
جلسه‌ی دوم ـ ۸۹/۸/۳:

تزریق ویروس آنفولانزا در حفره‌ی آلانتوئیک تخم‌مرغ

برای تولید برخی واکسن‌ها مانند آنفولانزا، آبله،و... از روش تزریق درون تخم‌مرغ جنین‌دار استفاده می‌شود.

Embryo netted Egg

تخم حاوی جنین از لایه‌های گوناگونی تشکیل شده است. از لایه‌های مختلف سلولی اطراف جنین برای تکثیر ویروس‌های مختلف استفاده می‌شود. هر سلول یک‌سری گیرنده دارد که ویروس‌ها از آن برای اتصال به سلول و تکثیر خویش استفاده می‌کنند.



لایه‌های تخم‌مرغ به قرار زیر است:

۱ـ Shell: دارای منافذی برای تنفس و نقش محافظ دارد.

۲ـ Shell membrane : در قسمت پهن تخم مرق دو لایه شده و اتاقک هوایی را به وجود می‌آورد.

۳ـ پرده‌ی آمیوتیک: حاوی آمیوتیک کربنیک است که از سلول‌های آمیوتیک ممبرین تولید شده و نقش تبادل مایعات را بر عهده دارد.

۴ـ زرده: منبع غذایی، حاوی چربی و مواد انرژی‌زا. با افزایش سن جنین از قطر آن کاسته می‌شود.

۵ـ حفره‌ی آلانتوئیک: از دو لایه‌ی الف) داخلی Allantoic membrane و ب) خارجی Choryooutoic تشکیل شده است. با فزایش سن به حفره‌ی آلانتوئیک افزوده می‌شود. تا ۱۳ روزگی فاقد آنتی‌بادی است و برای تکثیر دسته‌ای از ویروس‌هات بسیار ایده‌آل است.

۶ـ آلبومین: حاوی پروتئین‌های مورد نیاز جنین.

روش تزریق ویروس درون تخم‌مرغ جنین‌دار:

پیش از تزریق باید اطمینان حاصل نمود که تخم حاوی جنین زنده است. این کار با کندلینگ یعنی تاباندن نور به تخم‌مرغ در اتاق تاریک انجام می‌شود. جنین به صورت توده‌ای سیاه رنگ دیده خواهد شد. اگر نور را از قسمت پهن تخم بتابانیم می‌توان رگ-های خونی را به خصوص در ۸ تا ۱۱ روزگی زیر پوسته‌ی آهکی مشاهده کرد که دلیلی بر زنده بودن جنین است.

هنگامی که نور را به تخم‌مرغ با جنین مرده بتابانیم فضای عمومی آن تیره است این حالت در هنگامی که رویان بسیار بزرگ شده باشد نیز دیده می‌شود. تکان خوردن جنین در تخم‌مرغ از نشانه‌های بارز زنده بودن آن است. هرچه جنین فعال‌تر باشد ویروس بیش‌تری در پیکرش رشد خواهد نمود. پس از حصول از زنده بودن جنین به تزریق می‌پردازیم.

تخم باید در حدود ۷ـ۹ و بهتر است ۸ روز داشته باشد. نخست در زیر نور دورِ اتاقک هوایی را خط کشیده و ۲تا۳ میلی‌متر بالای آن، نقطه‌ای را مشخص می‌کنیم. نقطه را در جایی می‌گذاریم که از جنین دور بوده و رگ خونی کلفتی نیز آن‌جا نباشد. سپس محل نقطه را مثلاً با تنتور ید – از مرکز به خارج نقطه ـ ضد عفونی می‌کنیم. (استفاده از مهپاش نیز انجام می‌شود.) آن‌گاه با پانچ محل را سوراخ کرده و با زاویه‌ای 45° سوزن را وارد و تزریق را که نباید بیش از ۰/۲ – ۰/۱ باشد را انجام می‌دهیم.

از سرنگ انسولین هم می‌توان استفاده کرد. در این حالت تزریق احتمالاً در حفره‌ی آلانتوئیک خواهد بود. پس از تزریق سوراخ باید فوراً بسته شود. بهترین کار ریختن پارافین گرم شده در محل سوراخ است تا سفت شود. از چسب نواری به شرطی که دست به محل چسبناک آن نخورده باشد نیز می‌توان استفاده کرد. برخی چسب مایع هم به کاربرد می‌برند. تخم‌مرغ باید به مدت یک هفته در دمای ۳۸ تا ۳۹ درجه‌ی سانتیگراد و رطوبت ٪۶۰ گرمخانه گذاری شود. در طی این مدت تخم‌مرغ‌ها باید هر روز روزی دو بار بازدید شوند.

جلسه‌ی سوم ـ ۸۹/۸/۱۰:

بررسی نتیجه‌ی کشت ویروس آنفولانزا در حفره‌ی آلانتوئیک تخم‌مرغ Rapid hem agglutination test

۲۴ تا ۴۸ ساعت اول، برخی از تخم‌مرغ‌ها یا در اثر رشد باکتری یا صدمات فیزیکی جنین خود را از دست خواهند داد و ارزش ویروس‌شناسی نخواهد داشت. تلفات در کنترل‌های روزانه (هر روز دو مرتبه) مشخص می‌شود. تخم‌مرغ‌ها را برای مطالعات بیش‌تر به یخچال منتقل می‌کنند. انتقال به یخچال به این دلیل انجام می‌گیرد تا گردش خون در تخم منعقد شده و حفره‌ی آلانتوئیک را آلوده نکند. برای بررسی؛ محل اتاقک هوایی را ضد عفونی کرده و دور پوسته‌ی آهکی خط کشیده با قیچی شعله دیده می‌بریم. به محتویات دقت کرده که اگر کدر و تیره شده باشد نشان دهنده‌ی رشد باکتری است. مایع آلانتوئیک در حالت طبیعی مانند آب و شفاف می‌باشد اگر ویروس هم در آن رشد کرده باشد همچنان نور از آن عبور خواهد کرد گرچه رشد ویروس یا اتولیز گاهی رنگ آن را به زردی می‌گرایاند اما باید توجه داشت این زردی دلیل محکمی بر وجود ویروس نیست. امکان برداشت ۱۰ـ۵ میلی‌لیتر از مایع آلانتوئیک با سرنگ وجود خواهد داشت. این مایع می‌تواند دارای ویروس باشد یا نباشد. برای حصول اطمینان از حضور ویروس از روش Rapid hem agglutination test بهره می‌برند که به اختصار HA سریع نامیده می‌شود.

ویروس نیوکاسل یا آنفولانزا با واسطه‌ی پروتئین همآگلوتینین می‌تواند به گویچه‌های سرخ وصل شده و آن‌ها را به شکل مجتمع درآورد. این اتصال را آگلوتیناسیون می‌گویند. [واژه‌ی لخته نادرست است].

روش کار:

بر روی لام $50\mu l$ – ۳۰ از ٪۴ *RBC* گذاشته و $50\mu l$ – ۳۰ از مایع آلانتوئیک کنار آن می‌چکانیم هر دو را با هم مخلوط و تولید آگلوتیناسیون را بررسی می‌کنیم. در صورت آگلوتینه شدن حضور ویروس در مایع آلانتوئیک به اثبات خواهد رسید.

تهیه ٪۴RBC : خون با ماده‌ی ضد انعقاد را سانتریفیوژ کرده مایع رویی را دور ریخته دو تا سه بار این کار را انجام می‌دهیم آن‌گاه RBC جدا شده را اگر ۴cc باشد به حجم ۱۰۰ رسانده در این حالت RBC چهار درصد ساخته‌ایم! بسته به حجم گویچه سرخ $\frac{۴}{۱۰۰}$ می‌سازیم.

RBC استفاده شده برای آنفولانزای طیور یا باید خون جوجه یا گروه O انسانی باشد. گروه خونی O انسانی که NRBC (هسته ندارد) نیست زمان بیش‌تری صرف آگلوتینه شدن خواهد شد.

***

جلسه‌ی چهارم ـ ۸۹/۸/۱۷:

آزمایش هماگلوتیناسیون به منظور تعیین تیتر ویروس (HA)

مواد لازم: میکرو پلیت‌های ته گرد U شکل، ۱۰ تا ۱۲ عدد.

روش کار:

۱ـ سرم فیزولوژی یا PBS را از ول[۱] شماره‌ی ۱ تا ۱۲ ۵۰ میکرو لیتر می‌ریزیم.

۲ـ تهیه‌ی رقت سریال از ویروس= ۵۰ میکرو لیتر از ویروس (مایع آلانتوئیک) درون ول‌ها ریخته پیپتینگ انجام داده تادخوب مخلوط شود آن‌گاه μl ۵۰ را از ول ۱ به ۲، ۲ به ۳ و تا ۱۲ منتقل کرده و از ۱۲ نیز ۵۰ میکرولیتر خارج کرده دور می‌ریزیم به گونه‌ای که حجم چاهک‌ها در پایان این مرحله همان ۵۰ میکرو لیتر است. [توجه داشته باشید رقت ویروس در ول شماره یک $\frac{۱}{۲}$ و ول شماره‌ی دو $\frac{۱}{۴}$ و تا ول دوازدهم از رابطه‌ی $\frac{۱}{۲^n}$ پیروی می‌کند که در این‌جا n شماره‌ی چاهک می‌باشد.][۲]

۳ـ ٪۱RBC را به میزان $50\mu l$ در هر ول می‌ریزیم. RBC را از لوله‌ی ۱۲ (رقیق‌تر) به غلیظ‌تر می‌ریزیم تا سرعت آگلوتیناسیون را کنترل کنیم.

۴ـ ۳۰ دقیقه انکوباسیون $37^{c°}$

۵ـ بررسی آگلوتیناسیون در رقت‌ها به صورت تشکیل شبکه. در رقت‌هایی آگلوتینه نشده‌اند گویچه‌ها به صورت یک تکمه در ته ظرف ظاهر می‌شوند.

---

۱ ـ well به معنای چاه و چاهک نیز گویند.

۲ ـ رابطه از (ب.ر)

۶ـ قرائت تیتر(titr virus) : آخرین ولِی که در آن هم‌آگلوتیناسیون دیده می‌شود را گزارش می‌کنیم. مثلاً برای ول ۵ به این صورت است: titr virus=$\log_2 ۵ = ۳۲$ یا titr virus=32[۱] یعنی عکس رقت را گزارش می‌کنند. مفهوم $\frac{۱}{۳۲}$ این است که که ویروس آن‌قدر زیاد بوده که در ول ۵ هم آگلوتینه داده است.

کاربرد این روش سنجش اندازه‌ی ویروس است و پس از این کار می‌توان در برابر تعداد ویروس مشخص شده تیتر آنتی‌بادی ضد ویروس در بدن مثلاً پرنده را مشخص کنیم تا معلوم شود حضور این میزان ویروس در پیکر جاندار مربوط به واکسیناسیون یا بیماری بوده است. باید توجه داشت کاربرد این روش، حدّت سنجی ویروس نیست. حدت را با روش‌های دیگری هم‌چون مـرگ ۵۰٪ از گله‌ی جوجه‌های آزمایشگاهی می‌سنجند.

***

جلسه‌ی پنجم ـ ۸۹/۸/۲۴:

آزمایش تعیین تیتر آنتی بادی ویروس Hem agglutination Inhibition (HI)

اهمیت تیتراسیون از این جهت است که الف) با پاسخ به این پرسش که آیا آنتی بادی در بدن جاندار کاهش یافته یا نه زمان واکسیناسیون را تعیین می‌کند تا با متریال آنتی‌بادی تداخل نکند. ب) آیا بیماری در گله ایجاد شده است؟ ج) آیا واکسیناسیون گله انجام شده است؟ د) تعیین هویت یک ویروس در آزمایشگاه (مثلاً ایجاد هم‌آگلوتیناسیون با مایع آلانتوئیک).

هدف:

تعیین تیتر آنتی‌بادی ویروس نیوکاسل

روش:

۱ـ در هر ۱۲ ول μl ۵۰ سرم فیزولوژی یا PBS می‌ریزیم.

۲ـ تهیه‌ی رقت سریال از سرم.

۳ـ μl ۵۰ از ویروس ۴HA در هر ۱۲ ول می‌ریزیم. (در آزمایش HA هر خانه‌ای که به عنوان آخرین رقت قرائت شد را یک واحد HA و قبلی را دو واحد و قبلی آن را چهار واحد HA در نظر می‌گیریم)

۴ـ انکوبه کردن در ۳۷ درجه به مدت ۵۴ـ۳۰ دقیقه.

۵ـ اضافه نمودن μl ۵۰ از ٪۱RBC ماکیان به هر ۱۲ ول.

۶ـ انکوباسیون ۴۵ـ۳۰

در ول‌هایی که آنتی‌بادی در سرم وجود دارد، آنتی‌بادی، ویروس را خنثی کرده و نمی‌تواند هماگلوتیناسیون انجام دهد در نتیجه رسوب داده به صورت تکمه‌هایی در چاهک‌ها ته‌نشین می‌شود. اما در چاهک‌هایی که ویروس وجود داشته باشد (یعنی آنتی‌بادی دیگر حضور نداشته که ویروس توانسته رشد کند) ویروس با گویچه‌ی سرخ آگلوتینه می‌شود.

برای نمونه پس از واکسیناسیون گله باید تیتر ۷ را دشته باشد که در غیر این صورت واکسیناسیون دوباره انجام خواهد شد. یادآور می‌شود که تنها ویروس نیوکاسل و آنفولانزا خاصیت هم‌آگلوتیناسیون را دارا هستند.

---

۱ ـ به توضیحی از (ب.ر) در صفحه‌ی ۱۷ نگاه شود.

*سخنی چند درباب لگاریتم:

لغت لگاریتم از دو کلمهٔ یونانی لوگوس به معنای نسبت و آرتیموس به معنای عدد ترکیب گردیده است. در لگاریتم به ازای هر عدد، عدد دیگری داده می شود که در برخی اعمال حسابی ممکن است جایگزین آن گردد. این قسمت از ریاضیات، که مبدع و مخترع آن ژان نپر اسکاتلندی است بعضی اعمال حساب را به طرز حیرت آوری ساده کرده است تا جایی که کپلر دانشمند نامی، که قوانین او در هیئت انقلابی پدید کرد و نظام نوینی را به وجود آورد، اعتراف کرد که بدون قواعد لگاریتم ممکن نبود به نتایجی که به دست آورده است برسد. ژان نپر نخستین جدول های لگاریتم را به سال ۹۹۳ (=۱۶۱۴ میلادی) در جزوهٔ کوچکی به نام mirifici logarithmorum canonis description به زبان یونانی منتشر ساخت، زیرا در آن زمان در اروپا مرسوم بود که دانشمندان آثار خود را به زبان لاتینی بنویسند؛ هم چنان که در ایران دانشمندان کتاب های خویش را به زبان عربی می نگاشتند. نپر در جدول خود بنا ۲ را عدد قرار داده بود که محاسبات را اندکی دشوار می ساخت، و خود او دریافت که اگر بنا عدد ۱۰ اختیار شود برای محاسبه مناسب تر خواهد بود اما عمرش برای تکمیل کار کفاف نداد. (بیرشک ـ انواری /تهران ـ آبان ماه ۱۳۲۶/کتابفروشی محمد علی علمی)

اکنون به مهم‌ترین خواص و توابع لگاریتمی می‌پردازیم:

تابع نمایی $f(x)=a^x$ یک تابع اکیداً صعودی ($a>1$) یا اکیداً نزولی ($0<a<1$) می‌باشد. لذا تابع یک به یک بوده و معکوس پذیر خواهد بود.

۱) ☑ (تعریف لگاریتم) $y = \log_a x \leftrightarrow x = a^y, a > 0, a \neq 1 \; x > 0$

مثلاً $\log_6 1 = 0 \longrightarrow 1 = 6^0$ یا $\log_3 \frac{1}{9} = -2 \rightarrow \frac{1}{9} = 3^{-2}$.

در این صورت در آزمایش HA تیتر ویروس به این شکل خواهد بود: $\log_2 32 = 5$:Titr virus

۲) $A = B \leftrightarrow \log_a A = \log_a B$

۳) $\log_a xy = \log_a x + \log_a B$

۴) $\log_a \frac{x}{y} = \log_a x - \log_a y$

۵) $a^{\log_a x} = x$

۶) $\log_{a^m} x = \frac{1}{m}\log_a x$

۷) $\log_a \sqrt[m]{x^n} = \log_a x^{\frac{n}{m}} = \frac{n}{m}\log_a x$

۸) $\log_a x = \frac{1}{\log_x a}$ یا $\log_a x \times \log_x a = 1$

۹) $\log_b a = \frac{\log_c a}{\log_c b}$

۱۰) $lnx = y \leftrightarrow x = e^y$

پیروز باشید

توجه۱: این جزوه به تأیید استاد مربوط نرسیده و مسئولیتی را پدید نخواهد آورد.

توجه۲: آنچه با عنوان ب.ر درج شده است از تدریس رسمی به حساب نیامده و تنها جهت توضیح بیش‌تر نگاشته شده است و هیچ سندیتی را ایجاد نمی‌کند.