المختبر 9

طرق زراعة الفيروسات Culture of viruses

بما ان الفيروسات طفيليات داخل خلوية اجبارية فانها تحتاج الى خلايا حية من اجل ان تنمو وتتضاعف ومن الطرق المستخدمة مايلي :

١- الزرع في حيوانات المختبرية Lab animals

كالفأر الأبيض والأرانب والقردة والعجول وغنازير غينيا ويحقن معلق الفيروس في أعضاء معينة من الحيوانات ، فمثلاً يحقن فيروس الكلب في مخ الفأر الأبيض وفيروس الجدري في قرنية الأرنب .

٢- الزرع في أجنة الدجاج Chick embryo

ان بعض الفيروسات تفضل التضاعف في البيوض الخصبة لتوفر المواد اللازمة لنموها بكثره ،وتستخدم اجنة الدجاج لتوفرها وقلة كلفتها ،وكل فيروس يفضل التضاعف في جزء معين من البيضة، فمثلا يفضل فيروس الانفلونزا جنين البيضة ، بينما يفضل فيروس الجدري التضاعف في اغشية البيضة . يمكن تلقيح جنين البيض بأعمار مختلفة ما بين اليوم ٧-١١ ثم يعاد حضن البيض لعدة أيام على درجة حرارة ٣٦-٣٨ مئوية ويفحص كل يوم لدراسة التغيرات المرضية ويمكن الاستفادة منها لانتاج اللقاحات ضد الأمراض الفيروسية .

3- المزارع النسيجية Tissue culture

وهي عبارة عن مجموعة من الخلايا المتشابهة مضاف لها املاح وسكر واحماض امينية وفيتامينات ومضادات حيوية مع مصل دم حيوان بنسبة ١٠-٢٠ % لاحتوائه على عوامل مساعدة تفيد التضاعف، حيث توضع هذه المواد في اوعية خاصة بظروف معقمة، ويمكن استخدامها كمزارع للحفظ باضافة ٢-٥% من المصل، حيث يتم حقن العينة في خلايا المزرعة ومراقبة التأثيرات المرضية الخلوية للفيروس على الخلايا مثل تحلل الخلايا او زيادة انقسامها بشكل غير منتظم ، ومن فوائد المزارع النسيجية بشكل عام هي انتاج اللقاحات والاجسام المضادة ،وتشخيص مسبب المرض، ولتضاعف الفيروسات من اجل استخدامها في مجال البحث العلمي. ويمكن تقسيم المزارع النسيجية الى ٣ انواع رئيسية:

١- المزارع النسيجية الاولية Primary Cell Cultures

وهي مشتقة من انسجة طازجة معاملة انزيميا بواسطة التربسين او اي انزيم يحلل البروتين وذلك للحصول على خلايا مفردة. وهذه الخلايا تعاني انقساما محدودا او بمستويات واطئة،لذلك فترة حياتها محدودة.ويمكن ان تعيش ل٢٠ تمريره خارج الجسم الحي . وتستعمل لتضاعف بعض الفيروسات.

٢- المزارع شبه المستمرة Semi-continuous Cultures

وتسمى ايضا ب**Diploid cell lines** وذلك لانها تحتوي Diploid chromosome بصورة طبيعية. وهي مزارع نسيجية اولية تحتوي بعض الخلايا التي تستطيع ان تستمر بالحياة لفترة، وتميل ان تعيش ل٣٠-٥٠ تمريره خارج الجسم الحي. وتستعمل لتنمية مدى واسع من الفيروسات. وهي غالبا عبارة عن fibroblast.

٣- المزارع النسيجية المستمرة Continuous Cell Cultures

وتسمى ايضا ب**Heteroploid cell lines** وذلك لانها تحتوي اعداد غير طبيعية من الكروموسومات. وهي مزارع مشتقة من انسجة سرطانية تتميز بقابليتها غير المحدده بالانقسام. وتستعمل بصورة واسعة في تضاعف الفيروسات لغرض انتاج اللقاحات والبحوث العلمية.

التأثيرات الخلوية المرضية Cytopathic effects (CPE)

معظم الفيروسات التي تتضاعف داخل الخلايا تحدث تأثيرات خلوية مرضية، وتظهر هذه في العائل المصاب والخلايا المزروعة، وهي مميزة للإصابات الفيروسية وتستخدم في الاختبارات التشخيصية. ونوع التأثيرات الخلوية المرضية يعطي فكرة عن نوع الاستجابة المناعية المتوقعة. وتكون على انواع

١- تحلل الخلايا Cell lysis

نتيجة تجمع بروتينات الكابسيد ربما يسبب تثبيط عام لكلا من خلية العائل وللصناعة الفيروسية، لذلك موت الخلية يتبع تحلل وتحرر الاعداد الكبيرة من الفريونات.كما في العاثيات البكتيرية كما في الشكل(١)

٢- اتحاد الخلايا Cell fusion كما في الشكل(٢)

نتيجة مرور الفريونات من خلية الى اخرى وتحللها يؤدي الى تكوين خلايا عملاقة متعددة الانوية تسمى Syncytia كما في بعض الفيروسات القهقرية Retroviruses وفيروسات العائلة الهربسية herpesviruses

٣- اجسام الاشتمال او المتظمنة Inclusion bodies

هي اجسام حامضية او قاعدية تظهر داخل خلايا العائل نتيجة للاصابة ببعض الفيروسات والكلاميديا ،وتظهر اما في السايتوبلازم اوالنواة او في كلاهما.طبيعة هذه الاجسام تختلف من فيروس الى اخر ،ربما تمثل تجمع من الفريونات الناضجة (Papovaviruses,Reoviruses)اوهي عبارة عن تغيرات لونية في اماكن الصناعة الفيروسية او هي عبارة عن تغيرات تحللية بسيطة .وتستخدم في تشخيص الاصابات الفيروسية. كما في الشكل(٣)

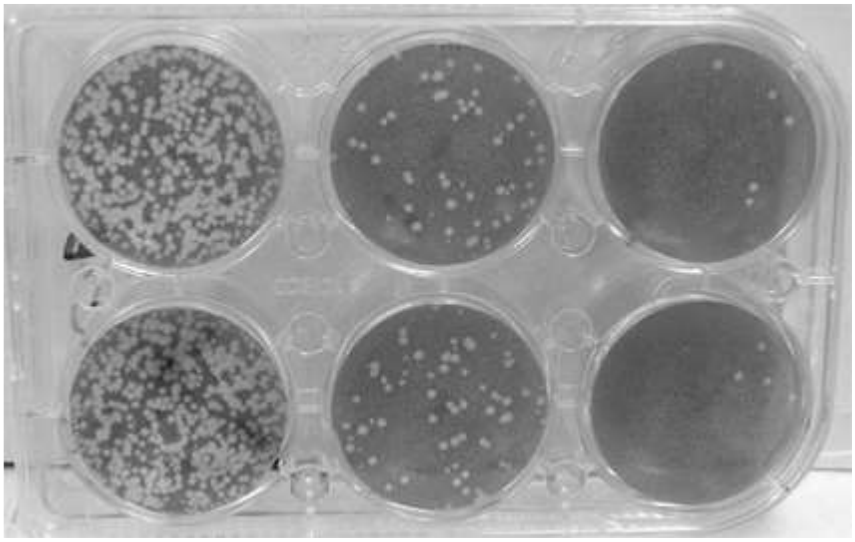
٤- موت الخلايا المبرمج Programmed cell death

بعض الفيروسات سوف تحث الخلايا الى موت مبرمج كما في الشكل(٤)

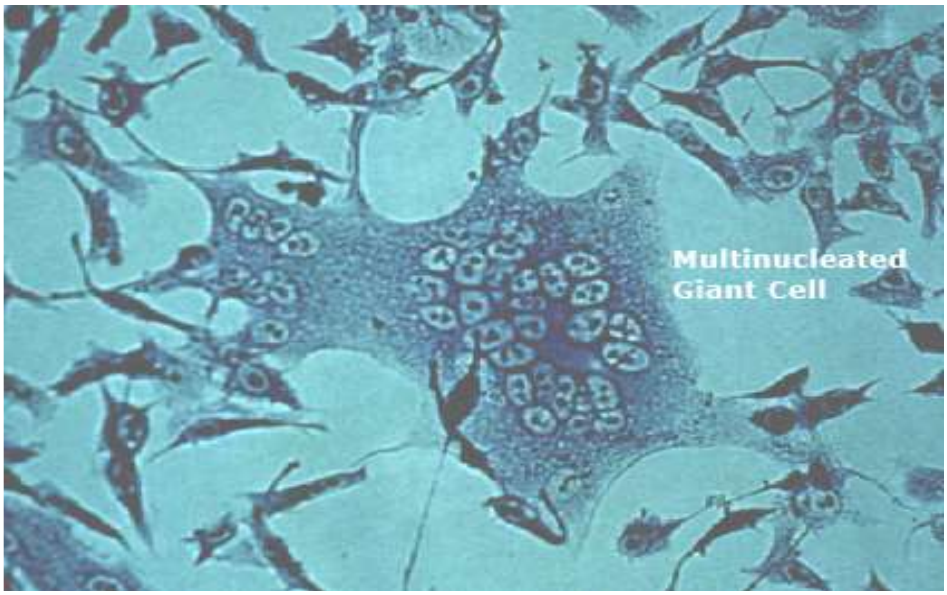
٥- تغير الشكل Altered shape

بعض الفيروسات تعمل على تغيير اشكال الخلايا كما في الشكل(٥)

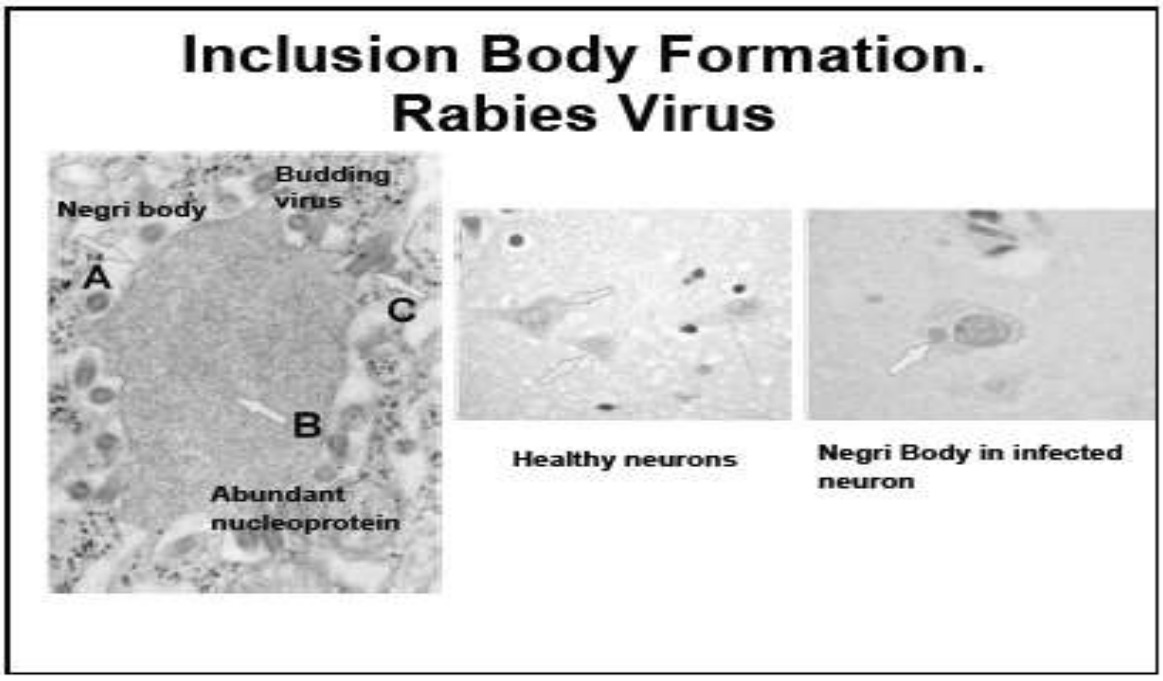
٦- احداث السرطانات



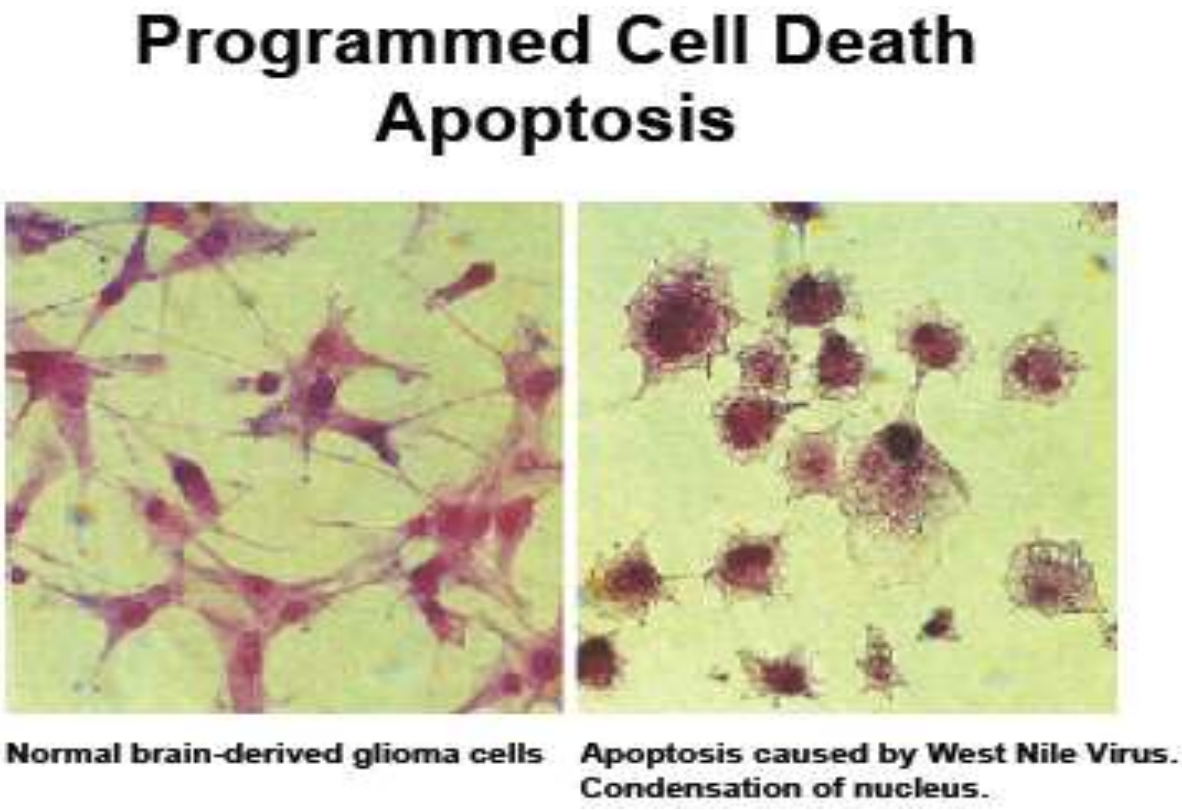
الشكل(١)



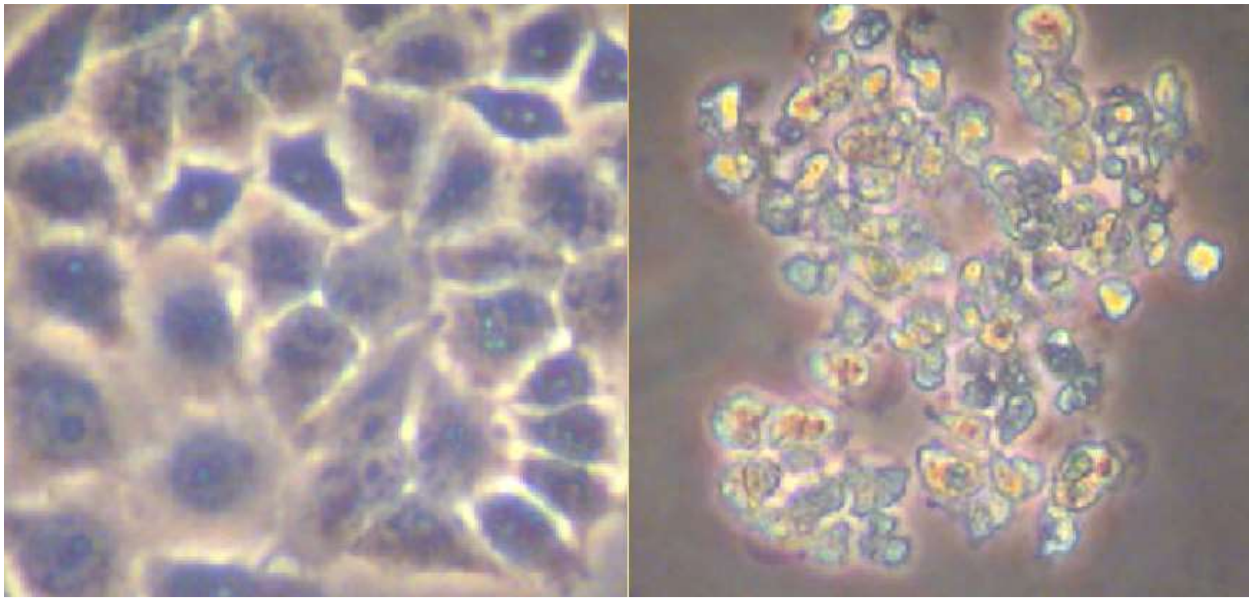
الشكل(٢)



الشكل(٣)



الشكل(٤)



Monolayer of epithelial cells in tissue culture **Rhinovirus-infected Cells ALTERED SHAPE**

الشكل(٥)