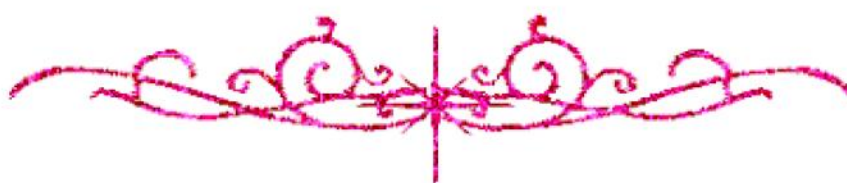


hossam maghraby



شبكة المعلومات الجامعية

بسم الله الرحمن الرحيم



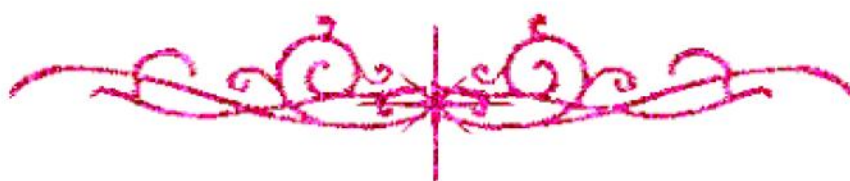
hossam maghraby



شبكة المعلومات الجامعية



شبكة المعلومات الجامعية التوثيق الالكتروني والميكروفيلم



hossam maghraby



شبكة المعلومات الجامعية

جامعة عين شمس

التوثيق الإلكتروني والميكروفيلم

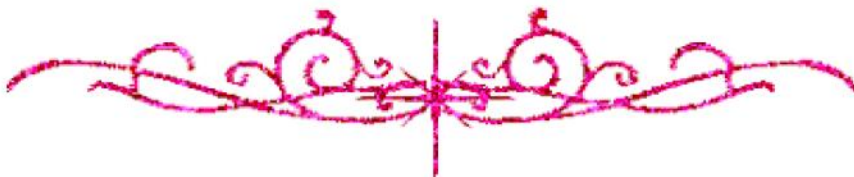
قسم

نقسم بالله العظيم أن المادة التي تم توثيقها وتسجيلها
علي هذه الأقراص المدمجة قد أعدت دون أية تغيرات



يجب أن

تحفظ هذه الأقراص المدمجة بعيدا عن الغبار



hossam maghraby



شبكة المعلومات الجامعية



بعض الوثائق الأصلية تالفة



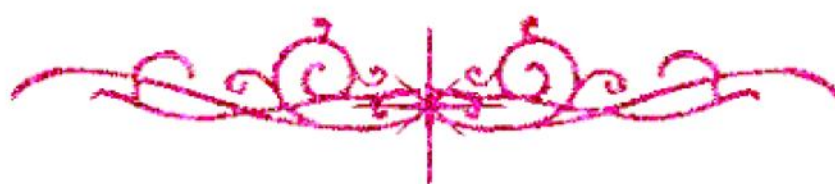
hossam maghraby



شبكة المعلومات الجامعية



**بالرسالة صفحات
لم ترد بالأصل**



B16696

وفاء غسان الحبال

إجازة في الصيدلة والكيمياء الصيدلية

دبلوم في التشخيص المخبري

تحديد معايير تفاعل Real-Time PCR لتشخيص الفيروس البشري المضخم للخلايا

بحث علمي أعدّ لنيل درجة الماجستير في التشخيص المخبري

إشراف

أ. د. فوزة منعم

أستاذة علم الفيروسات والمناعة

كلية الصيدلة - جامعة دمشق

كلية الصيدلة - جامعة دمشق

2006

إهداء

وفاء



قرار لجنة الحكم

السيد الأستاذ الدكتور عميد كلية الصيدلة

إشارة إلى قرار مجلس كلية الصيدلة رقم 196 تاريخ 2002/7/13، وقرار مجلس جامعة دمشق رقم 6916 تاريخ 2002/8/11 المتضمن الموافقة على تسجيل رسالة الماجستير لطالبة الدراسات العليا الصيدلانية وفاء غسان الحبال بعنوان تحديد معايير تفاعل Real-time PCR لتشخيص الفيروس البشري المضخم للخلايا وتسمية السيدة الأستاذة الدكتورة فوزة منعم مشرفاً السيد الأستاذ الدكتور مشاركاً

وبالإشارة إلى قرار مجلس كلية الصيدلة رقم 49 تاريخ 2005/10/5 وقرار مجلس الشؤون العلمية بجامعة دمشق رقم 149 م.ش.ع تاريخ 2005/10/31 القاضي بتشكيل لجنة الحكم على رسالة الماجستير المقدمة من الصيدلانية وفاء الحبال من الأساتذة الدكاترة:

السيد الأستاذ الدكتور	خليل القوتلي	عضواً
السيدة الأستاذة الدكتورة	فوزة منعم	عضواً مشرفاً
السيد الأستاذ الدكتور	محمد نورين الأهل	عضواً

فقد قامت لجنة الحكم بدراسة الرسالة وحضرت جلسة الدفاع عن رسالة الماجستير المقدمة من الصيدلانية وفاء الحبال

وذلك في تمام الساعة 11:00 من يوم الخميس الواقع في 2006/1/19 على مدرج تشرين في كلية الصيدلة وبنتيجة تقويمها، وبالإشارة لما سبق فقد قررت لجنة الحكم منح الصيدلانية وفاء الحبال طالبة الماجستير في قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة في كلية الصيدلة بجامعة دمشق درجة الماجستير في التشخيص المخبري

بمرتبة امتياز وعلامة قدرها تسعون، وتوصي اللجنة بقبولها لمتابعة درجة الدكتوراه، كما توصي اللجنة بطباعة الرسالة على حساب جامعة دمشق.

يرفع هذا القرار إلى مجلس كلية الصيدلة ومجلس جامعة دمشق للمصادقة عليه أصولاً.

الأستاذ الدكتور

عضو

خليل القوتلي

الأستاذ الدكتور

عضو

محمد نورين الأهل

الأستاذ الدكتور

المشرف

فوزة منعم

شكر

بعد حمده تعالى حمداً يوافي نعمه ويكافئ مزيده، ثمة فضلٌ يُذكر، وشكرٌ يؤدّي؛ لكنّما ضاقت السطور،
وحارت الكلمات؛ إذ فاق الجودُ مزيدَ شكري، وأعجب الفضلُ براعةَ منطقي، فما يسعني في هذه الهبة إلا
أن أذكر غيضاً من فيض، وغرفةً من بحر..

رَفْدُ العطاء ودَفْقُ لا ينضب...

أ. د. فوزة منعم

حِصْنُ الرعاية وجناحٌ لا يتخلّى...

منارةٌ لسفينتي، ولهمّتي المثل!

غوثٌ في الشدّة، ومددٌ لا تجفّ منابعه...

Prof. Dr. Barbara Gärtner

أنالني فضلاً في التعليم، وزادني شرفاً في التحكيم...

أ. د. خليل القوتلي

سندٌ أبويٌّ كريم...

أ. د. محمد نورين الأهدل

وفيضُ برٍّ غامرٌ لا أكاد أنساه!

أسرة كلية الصيدلة

غذت في الطموح...

فأطلقتُ أشرعتي لما وراء الأفق!

يمثلها أ. د. محمد عامر المارديني عميداً

أ. د. فايزة القبيلي وكيلاً علمياً

أ. د. محمد الحسن وكيلاً إدارياً

أسرة مستشفى الأسد الجامعي

عينُ رعايةِ ترنو لآفاقٍ بلا حدود...

يمثلها أ. د. طريف العيطة المدير العام

أ. د. فوزة منعم رئيسة المخبر

أسرتي

بالحُبِّ احتضنتُ مسيرتي...

علّمتني أن أحيا من أجل المعرفة!

ولكلّ من جاد بسراجِ علمٍ، أو أمنيةِ صدقٍ، أو شدّةِ عزيمة..

من صميم قلبي ووجداني...

أهدي جزيل شكري، وعميق امتناني...

وفاء

كانون الثاني 2006

المحتوى

I. مقدمة نظرية

1	1. الفيروس البشري المضخم للخلايا Human Cytomegalovirus
1	1.1. مقدمة Introduction
2	2.1. التصنيف Classification
3	3.1. الذراري CMV strains
4	4.1. الجينوم CMV genome
6	5.1. الخريطة الوراثية Genetic map
8	6.1. التعبير المورثي Gene expression
10	7.1. التشخيص المخبري Laboratory diagnosis
10	1.7.1. الزرع الخلوي Cell culture
12	2.7.1. معايرة المستضد pp65 في الدم Quantitative pp65 antigenemia assay
13	3.7.1. معايرة الحموض النووية Nucleic acids quantification
18	2. تقنية المتابعة اللحظية للتفاعل التسلسلي للبوليمراز Real-Time PCR
18	1.2. تعريف Definition
20	2.2. المبادئ Principles
20	1.2.2. استخلاص الحموض النووية Nucleic acids extraction
22	2.2.2. التضخيم Amplifications
22	3.2.2. الكشف Detection
28	3.2. التطبيقات Applications
28	1.3.2. المعايرة الكمية Quantification
32	2.3.2. Melting analysis
36	4.2. تصميم التجربة Experiment design
36	1.4.2. تصميم البادئات Primers design
38	2.4.2. تصميم المسابير Probes design

39	.	.	.	.	.	.	Bioinformatics المعلوماتية الحيوية	3.
39	.	.	.	.	.	.	GenBank قاعدة بيانات	1.3
44	.	.	.	.	.	.	EMBL قاعدة بيانات	2.3
45	.	.	.	.	.	.	DDBJ قاعدة بيانات	3.3
46	.	.	.	.	.	.	PubMed قاعدة بيانات	4.3
48	.	.	.	.	.	.	PubMed Central قاعدة بيانات	5.3
50	.	.	.	.	.	.	Goal & Justification هدف البحث ومسوغاته	4.

II. الدراسة المعلوماتية الحيوية

56	.	.	.	.	.	.	Bioinformatic Study الدراسة المعلوماتية الحيوية	5.
56	.	.	.	.	.	.	Materials المواد	1.5
56	.	.	.	.	.	.	Methods الطرق	2.5
56	.	.	.	.	.	.	Papers collection جمع الأوراق العلمية	1.2.5
57	.	.	.	.	.	.	Oligonucleotides collection جمع عديدات النوكليوتيد	2.2.5
58	.	.	.	.	.	.	Computational software البرمجيات الحاسوبية	3.2.5
59	.	.	.	.	.	.	Perfect match study تحريّ التطابق التام	4.2.5
60	.	.	.	.	.	.	Correspondence مراسلة المؤلفين	5.2.5
61	.	.	.	.	.	.	Results النتائج	3.5
61	.	.	.	.	.	.	Papers الأوراق العلمية	1.3.5
62	.	.	.	.	.	.	Oligonucleotides عديدات النوكليوتيد	2.3.5
63	.	.	.	.	.	.	Computational software البرمجيات الحاسوبية	3.3.5
110	.	.	.	.	.	.	Perfect match study تحريّ التطابق التام	4.3.5
116	.	.	.	.	.	.	Correspondence مراسلة المؤلفين	5.3.5
127	.	.	.	.	.	.	Discussion المناقشة	4.5
127	.	.	.	.	.	.	Literature exploration سير الأدب الطبي	1.4.5
128	.	.	.	.	.	.	Target regions المناطق الوراثية المستهدفة	2.4.5
129	.	.	.	.	.	.	Correspondence مراسلة المؤلفين	3.4.5
129	.	.	.	.	.	.	Perfect match study تحريّ التطابق التام	4.4.5
134	.	.	.	.	.	.	Conclusion الاستنتاج والتوصيات	5.5

III. الدراسة التجريبية

135	Experimental Study	الدراسة التجريبية	6.
135	Materials	المواد	1.6
135	Reagents	الكواشف	1.1.6
135	Tools	الأدوات	2.1.6
136	Equipments	التجهيزات	3.1.6
136	Computational software	البرمجيات الحاسوبية	4.1.6
137	Statistical programs	البرامج الإحصائية	5.1.6
137	Methods	الطرق	2.6
137	CMV standard preparation	تحضير العياري	1.2.6
138	Dilutional series preparation	تحضير السلسلة العيارية	2.2.6
139	Primers selection	اختيار البادئات	3.2.6
139	Optimization	تحديد الشروط المثلى	4.2.6
145	Sensitivity assessment	تقويم الحساسية	5.2.6
146	Results	النتائج	3.6
146	Selected primers	البادئات المنتقاة	1.3.6
146	Excluded primers	البادئات المستبعدة	2.3.6
154	Optimization	تحديد الشروط المثلى	3.3.6
162	Sensitivity assessment	تقويم الحساسية	4.3.6
164	Discussion	المناقشة	4.6
164	Optimization	تحديد الشروط المثلى	1.4.6
166	Sensitivity assessment	تقويم الحساسية	1.4.6
170	Conclusion	الاستنتاج والتوصيات	5.6

IV. الملحقـات

[illegible]

1. الفيروس البشري المضخم للخلايا

Human Cytomegalovirus

1.1. مقدمة Introduction

يعدّ الفيروس البشري المضخم للخلايا (HCMV) human cytomegalovirus أو فيروس الحادّ البشري الخامس (HHV-5) human herpesvirus 5 شائع الانتشار ubiquitous دونما أعراض سريرية asymptomatic عموماً، إذ ينتقل بالتماسّ المباشر مع الأشخاص الذين يطرحون الفيروس في سوائل بدنه كاللعب، والبول، والدم، وحليب الثدي، والمني semen، وكذلك الأعضاء المغروسة transplanted organs (171)، ويبقى كامناً latent تحت ضبط المناعة الخلوية cellular immunity (128، 138)؛ لكنّه يشكّل مصدر خطرٍ كبيرٍ لأولئك الذين يعانون من نقص الكفاية competency في الجهاز المناعي immune system كحديثي الولادة neonates، ومرضى غرس الأعضاء transplant recipients، ومرضى الإيدز AIDS (50، 73، 119، 155) سواء أكان خمجاً أولياً primary infection أو ثانوياً reactivation تالياً لمرحلة الكمون latency (140).

ولكونه يمتلك القدرة على خمج مختلف أنواع الخلايا والأنسجة (58، 90) فإنّه يبدي لدى هؤلاء تنوعاً في الأعراض والعلامات السريرية مثل الألم الشرسوفي epigastric pain، ومتلازمة الزكام cold syndrome، والتهاب الكبد hepatitis، والتهاب الرئة pneumonitis، والحمى fever، وقلة الكريات البيض leukopenia، والألم المفصلي arthralgia، والإسهال diarrhea، والقرحات الفموية oral ulcers (156)، والتهاب الدماغ encephalitis (147، 156)، كما يسبّب مضاعفاتٍ جمّة تتضمّن التخلف العقلي mental retardation، والتهاب الشبكية المرافق للإيدز AIDS-associated retinitis (58)، والأمراض