

ZV0001122

INSTITUT SENEGALAIS DE RECHERCHES
AGRICOLAS (I.S.R.A.)

LABORATOIRE NATIONAL DE L'ELEVAGE
ET DE RECHERCHES VETERINAIRES
B.P. 2057

DAKAR-HANN

FICHE TECHNIQUE

ISOLEMENT D'UN ARBOVIRUS PAR INOCULATION
AUX SOURICEAUX

Par Dr A. NIASSE

REF. N° 112/VIRO.
OCTOBRE 1982.

Transférer dans le broyeur refroidi et broyer pendant une minute. Transvaser dans un pot à centrifuger en caoutchouc stéril. Centrifuger 2 500 t/m pendant 10 minutes.

Répartir le surnageant dans des tubes d'essai stériles à raison de 2 ml/tube.

Réserver un tube aux inoculations immédiates et conserver les autres à - 70°C (portoir des souches arbovirus).

Contrôle "stérilité"

Ensemencer 2 gouttes dans du bouillon et incubé à 37°.

B - Inoculation aux souriceaux

Eviter les bulles d'air dans la seringue.

- Injecter 0,025 ml à 1 mm de profondeur et de la ligne médiane vers l'occiput. Il ne doit pas ressortir de goutte au point d'inoculation.

- Injecter autant en intra-péritonéale du côté droit s'il s'agit d'isolement (pas nécessaire au cours des passages).

- Replacer les inoculés dans le local où les attend la mère.

C - Observation des souriceaux (v. fiche d'observation)

D - Récolte des souriceaux

- **Ne jamais récolter les morts**

- Les souriceaux paralysés sont récoltés pour passage ultérieur après un séjour d'une heure à - 25°C comme suit :

La peau de la tête enlevée, on relève la calotte du crâne découpée et le cerveau ainsi mis en évidence est prélevé avec la pointe ouverte des ciseaux et l'on procède comme en A.

REACTIFS (Voir annexe milieux)

TP

TPS

Hanks BSS

Bouillon ordinaire

Antibiotiques pénicilline
streptomycine

MATERIEL STERIL

Ciseaux

Pinces

Seringue et aiguille

Broyeur refroidi

Pot à centrifuger

Tubes à essai

Important

A - Préparation de l'inoculum

Broyage des prélèvements

	Quantité	Volume diluant nécessaire pour broyage dans du Hanks BSS ou TPS
Moustiques	20 - 30 unités	2 ml
-"-	30 - 60	4 ml
-"-	60 - 100	6 ml
Tiques	1 - 5	2 ml
-"-	6 - 10	4 ml
-"-	11 - 20	6 ml
Organe	1 P	10 V
Sang	1 ml	9 ml
-"-	10 ml	sans diluant

E - Passages

Procéder à des passages jusqu'à l'obtention d'un temps fixe d'incubation et 100 p.100 de mortalité et inoculer plusieurs portées pour récolte importante de matière virale pour épreuves de caractérisation, préparation de l'antigène et constitution de banque,

F - Réisolement

Procéder à un réisolement à partir du prélèvement original.

Service de Virologie

PATHOLOGIE VIRALE DES ANIMAUX

ARBOVIRUS

FICHE D'OBSERVATION DES SOURICEAUX INOCULES

		<u>Légende</u>
N° du lot du prélèvement		/ bien portant
Nature du prélèvement		M malade
Origine du prélèvement		P paralysé
Date de réception du prélèvement		A agonisant
Date d'inoculation		+ mort
Isolement en n° de passage		Ø disparu ou manquant
Nombre de souriceaux inoculés		D dévoré par la mère
Age des souriceaux . l'inoculation		

OBSERVATIONS QUOTIDIENNES (Voir légende)												
Souris n°	1-2-3	4-5	6-7	8-9	10-11	12-13	14-15	16-17	18-19	20-21	22-23	24-25
1												
2												
3												
4												
5												
6												
7												
8												

L'observateur