

تحضير لقاح حي مضعف ضد مرض خناق الخيول

عبد المناف حمزة الجودي مقداد محمود قاسم

فرع الطب الباطني والوقائي - كلية الطب البيطري - جامعة بغداد

الخلاصة

تم تحضير لقاح حي مضعف من المكورات السبحية الخيلية وذلك بزراع الجرثومة بتراكيز متدرجه من الاكرفلافين واعطي اللقاح عن طريق التطير بالانف الى الارانب . اظهرت مجموعه المعامله استجابة مناعية خلطية حيث كان معدل المعيار الحجمي للاضداد 4.57 ± 59.4 بعد اسبوعين من اعطاء اللقاح وارتفع الى 18.28 ± 237.7 بعد اربع اسابيع و 475.4 ± 36.57 بعد ستة اسابيع ووصل الى $512 \pm$ صفر بعد ثمانية اسابيع ، ولم تظهر مجموعة المعامله أي اعراض مرضية بعد اعطائها جرعه التحدي في حين هلكت مجموعة السيطرة

Preparation Of Live Attenuated Vaccine Against Strangles

M. M. Kaisium A.M.H. AL- Judi

Dept.of internal and preventive med.college of Vet.Med.Baghdad unevercity

SUMMARY

Live attenuated vaccine of Strept. Equi was prepared by culturing the bacterium in increasing concentration of acriflavin and the vaccine was given by installation in the nose of rabbits. The treated group showed immune response, the titer of the antibodies was 59.4 ± 4.57 after 2 weeks of vaccination, 237 ± 18.28 after 4 weeks, 475.4 ± 36.57 after 6 weeks, & reach atiter of 512 ± 0 after 8 weeks, and the treated group did not show any signs after challenge dose, while the control group died after challenge.

المقدمة

يعد مرض خناق الخيول واحدا من اهم الامراض الوبائية للخيول في العالم وقد يدوم الاندلاع الوبائي لعدة اشهر (12، 13) وتبلغ نسبة الاصابه 80-100% ومع انخفاض نسبة الهلاكات فان المرض يكتسب اهمية بالغه مع ظهور المضاعفات في العديد من الخيول المصابه (11، 4) .
لقد تم انتاج العديد من اللقاحات مثل البكتريين ، بروتين الغشاء الجرثومي (م) شبه النقي ، بروتين الغشاء

الجرثومي (م) النقي ، خلاصة بعض الاجزاء من الخلية الجرثومية (17،8،9،1،3) وتم التوجه حديثاً لانتاج اللقاحات الحية المضعفه لكونها ذات كفاءه مناعيه عاليه (5) .

تهدف هذه الدراسة الى الحصول على لقاح حي مضعف من المكورات السبحية الخيلية بواسطة زرع الجرثومة في تراكيز متصاعده من الاكرفلافيين وقياس كفاءه اللقاح في الارانب .

المواد وطرائق العمل

الايوساط الزرعية : اكار الدم ، اكار الدم الحاوي على ازايد الصوديوم ، اكار ملرهننتون، مرق تودهيت ، اكار تودهويت ، ومرق السكريات (7) .

المحاليل والصبغات: محلول الملح الفسيولوجي ، محلول دارىء الفوسفات الملحي ، محلول الالاسفر ، وصبغة كرام (7) .

العزل الجرثومي : تم عزل المكورات السبحية الخيلية من خراجات غير مفتوحة من الخيول المصابه بالمرض(6).

اختبار التلازن الدموي المنفعل: استخدم هذا الاختبار لقياس مستوى الاضداد (15) تحضير المصل المضاد للمكورات السبحية الخيلية : تم حقن ارنب مره واحده اسبوعياً ولمدة ثلاثة اسابيع بجرعة 500 ما يكوغرام من بروتين (م) من المكورات السبحية الخيلية (2) وتم سحب الدم من القلب مباشرة والحصول على المصل .

تحديد الجرعه المميته لنصف العدد : تم اعتماد طريقة (7) لتحديد الجرعه المميته لنصف العدد من الفئران حيث كانت 10×7 خلية مكونه للمستعمرات الجرثومية .

اللقاح الحي المضعف : تم زرع الجرثومة في مرق هوديت ذو تراكيز متدرجه من الاكرفلافيين ابتداءً من 2 جزء بالمليون وانتهاءً ب 16 جزء بالمليون (14)، حيث تم رفع تركيز الاكرفلافيين 1 جزء بالمليون كل خمسة تمريرات . استغرقت هذه العملية احد عشر اسبوعاً ثم تم ترسيب الجراثيم وجعل التركيز مساوياً الى 10×7 خلية مكونه للمستعمرات الجرثومية .

اختبار العقامه: اخذت عينات من المستضد اللقاحي المحضر وزرعت على اكار الدم للتأكد من عدم وجود أي ثلوث جرثومي .

اختبار الامان : تم حقن المستضد اللقاحي بالتجويف الخليبي للفئران و ملاحظة ظهور أي اعراض مرضية .

تصميم التجربة : تم اختيار 14 ارنباً من السوق المحلية وباوزان متقاربة ووضعت في الاماكن المخصصة للتجربة لمدة اسبوعين ، واعطيت العلاجات المضاده للديدان والكوكسيديا وقسمت الى مجموعة المعامله (7ارانب) ومجموعة السيطرة (7 ارانب) . تم سحب الدم من القلب مباشرة ثم اعطي

اللقاح عن طريق التقطير بالانف ، ثم سحب الدم كل اسبوعين وفي الاسبوع الثامن من اعطاء اللقاح تم اعطاء جرعة التحدي من الجرثومة الضارية (10×10^7) خلية مكونه للمستعمرات الجرثومية الى مجموعة المعاملة ومجموعة السيطرة ومراقبة الحيوانات لمدة اسبوعين .

النتائج

لقد اظهرت حيوانات مجموعة المعاملة استجابة مناعية خلطية حيث كان معدل المعيار الحجمي للاضداد بعد اسبوعين من اعطاء اللقاح 4.57 ± 59.4 ثم ارتفع بعد اربعة اسابيع الى 18.28 ± 237.7 ليصل بعد ستة اسابيع الى 36.57 ± 475 ثم ارتفع الى $512 \pm$ صفر بعد ثمانية اسابيع ، ولم نلاحظ أي اثار جانبية او اية اعراض مرضية بعد اعطاء القاح ، وبعد اعطاء جرعة التحدي لم تظهر حيوانات مجموعة المعامله أي اعراض مرضية ولمدة اسبوعين من اعطاء جرعة التحدي ، في حين هلكت جميع حيوانات مجموعة السيطرة خلال اسبوع من اعطائها جرعة التحدي من المكورات السبحية الخيلية وظهورعلامات سريرية تنفسية ، وتم عزل الجرثومة من القلب بعد اجراء الصفة التشريحية .

المناقشة

ان اللقاحات الحية المضعفة تؤدي الى استجابة مناعية اعلى من اللقاحات المقتولة (10،17) وتوجد عدة طرق لقياس الاستجابة المناعية الخلطية ولكن يعتبر اختبار التلازن الدموي المنفعل من الطرق الجيدة لقياس الاستجابة المناعية لخناق الخيل (1،9،11،14،15)

اظهرت نتائج الدراسة كفاءة اللقاح الحي المضعف من المكورات السبحية الخيلية والمعزوله من خراجات غير مفتوحة من الخيول المصابه بالمرض قدرتها على احداث استجابة مناعية خلطية بعد تضعيفها من خلال تمرير الجرثومي ولمدة احد عشر اسبوعاً بتراكيز متدرجه من الاكرفلافين ، حيث كان معدل معيارية الاضداد 4.57 ± 59.4 بعد اسبوعين من اعطاء القاح وواصل ارتفاعه ليصل الى $512 \pm$ صفر بعد ثمانية اسابيع ، ولم تظهر مجموعة المعامله أي اعراض مرضية بعد اعطاء جرعة التحدي في حين نفقت حيوانات السيطرة ، وهذا ما يتفق مع ما ذكره (14) من ان اعطاء اللقاح الحي المضعف بواسطة تراكيز متدرجه من الاكرفلافين في الخيول عن طريق الحقن ادى الى مقاومة الحيوانات اصابة التحدي بعد 29 يوماً من اعطاء اللقاح . وفي دراسة (10) وجد بان اللقاح الحي المضعف المحور وراثياً ادى الى وقاية الحيوانات من اصابة التحدي بعد اعطائه عن طريق الحقن بالطبقة تحت المخاطية للشفه العليا في الخيول ، في حين ثلثي الحيوانات اصببت بالمرض بعد اصابة التحدي بعد اعطاء اللقاح عن طريق الانف .

ان اللقاح الحي المضعف عند اعطائه عن طريق الانف ادى الى حدوث تفاعلا موضعيا بدون ظهور

اعراض سريرية مع حدوث استجابة مناعية (16) ، ووصل المعيار الحمي للاضداد الى اعلى مستوى بعد ثمانية اسابيع ولم تؤدي اصابة التحدي الى ظهور أي اعراض مرضية مما يؤكد نجاح اللقاح المحضر في وقاية حيوانات التجربة من الاصابة بالمرض.

المصادر

1. AL-Judi, A.M.H. (1990). Preparation of vaccine against strangles and evaluation of its efficiency .Ph.D. thesis, College of Vet. Medicine , University of Baghdad.
2. Pesdine, R.W.; Pine, L. (1968). Preparation & description of high molecular weight soluble surface antigen from group A streptococci. Journal of Bacteriology, 96, 1953-1960.
3. Bryans, J.T. ;Doll,E.R.; Shepard,B.P. (1964). The etiology of strangles. Cornell Veterinarian, 54, 198-203.
4. Canfield, P.J.; Love, D.N.; Bailey, C.D. (2000). Strangles in horses. Rural industry research development, Corporation, P. 2-3.
5. Chanter (2002). Bacterial infections including mycoplasma in Equine Respiratory diseases, edited by Lebeux, P. International Veterinary service, New York.
6. Carter, G.R. (1974). Diagnostic procedures in Veterinary bacteriology& Mycology, 3rd ed., Charles Thomas, Springfield II.
7. Davis, B.O.; Dubecca, R.; Eisen.H.N; Ginsberg, H.S.; Wood, W.B.; Meclarty, M. (1973). Microbiology, 2nd ed., Harper& Raw Publishing, Maryland.
8. Flanagan, J.; Collin, N.; Timong, J.F. (1998). Characterization of hemolytic activity of Strept. Equi. Microbiological Pathology Journal, 24,211-221.
9. Hoffman,A.M.; Stampfli,H.R.; Vial,L.(1991). Field evaluation of commercial M- protein vaccine against Strept. equi infection in foals. American Journal of Veterinary Research, 52,589-592.
10. Jacobs,A.A.;Goovaerts,D.;Nujten,P.T.(2000).Investigation vaccine Investigation to wards an effective & safe strangles vaccine: submucosal vaccine with live attenuated Strept. Equi .Veterinary Record, 147, 563-567.
11. Jorm, L.R.(1990). Strangles in horse studs, Incidence, Risk factors, & effect of vaccination . Austrlian Veterinary, Journal, 67,436-439.
12. .Leadon, P.D. (2005). Epidemiology & management of Strept. equi Breeding Farm Equine Medicine Journal, 150,87-88.
13. Loving, N.S. (2003). Bacterial disease in Equine Diseases.1st ed., Saundres Company, Publishing,PP. 219-222.
14. Myron, G. (1988). Equine Strangles vaccine & the method of preparation. American Journal of Veterinary research, 45. 59-64.

15. Srivastava, S.K. & Barum, D.A. (1981). The serological response of foals to vaccination against strangles, Canadian J. of comparative Medicine, 45,20-23.
16. Timoney, J.F. (2004). The pathogenic equine Streptococci Veterinary Research, 23, 397-409.
17. Timoney, J.F. (2005). Do all vaccines protect your horse. Thoroughbred Times Today, 233, 7-8.