



جامعة الموصل
كلية الطب البيطري

تقييم الاستجابة المناعية للقاحات التجارية المبطلّة لمرضى النيوكاسل وإنفلونزا الطيور H9 في فروج الحم

زينا ذنون يونس بدر

رسالة ماجستير

الطب البيطري / أمراض الدواجن

بإشراف

الأستاذ الدكتور

فنانر ابلحد اسحق

الخلاصة

يعد مرض النيوكاسل وإنفلونزا الطيور H9N2 من أهم الأمراض الفيروسية التي تصيب الدواجن، لما لهما من تأثير كبير على الصحة العامة والإنتاج، وتعتمد عملية الوقاية منهما على استخدام لقاحات حية ومبطللة لتحفيز استجابة مناعية فاعلة تتمكن الطيور المحصنة بها من مقاومة الإصابة بهذين المرضين وذلك من خلال التصدي للمرض وتقليل نسبة الإصابة والهلاكات والخسائر الاقتصادية التي تنتج عن الإصابة بهما.

اذ هدفت هذه الدراسة إلى تقييم الاستجابة المناعية والتجانس المناعي والكيمياء المناعية النسجية لسبعة أنواع من اللقاحات الثنائية المبطللة ضد مرضي النيوكاسل وإنفلونزا الطيور H9N2 ، إذ تم استعمال أفراخ فروج اللحم عدد 225 بعمر يوم واحد قسمت عشوائياً على 9 مجاميع (25 فرخاً لكل مجموعة)، المجاميع من 1-8 تم تلقيحها باللقاح الحي المضعف ND-Clone30-Nobilis وذلك بالتقطير بالعين بعمر 1 و14 يوم من عمر الأفراخ، أما اللقاحات الثنائية المبطللة التي تم استعمالها فقد أعطيت بعمر يوم واحد بطريقة الحقن تحت الجلد في منطقة الرقبة وكل حسب جرعتـه وتعليمات الشركة المنتجة له. المجموعة الأولى تم إعطاؤها لقاح AINK PRO-VAC™ (Koripha/Komipharm) بجرعة 0.25 مل، المجموعة الثانية لقاح Poul Shot® flu H9N2+ND (CAVAC/كوريا) بجرعة 0.2 مل، المجموعة الثالثة لقاح QVAC ND+H9 (QYH BIOTECH/الصين) بجرعة 0.25 مل، المجموعة الرابعة لقاح MEFLUVAC™ H9ND7 (MEVAC/مصر) بجرعة 0.3 مل، المجموعة الخامسة لقاح CEVAC® NEW FLU H9 K (Ceva/فرنسا) بجرعة 0.2 مل، المجموعة السادسة لقاح (NOBILIS H9N2+ND P) (MSD/هولندا) بجرعة 0.25 مل، المجموعة السابعة لقاح Gallimmune (Boehringer Ingelheim/فرنسا) بجرعة 0.3 مل، المجموعة الثامنة أعطيت لقاح ND Clone30 Nobilis وعُدت مجموعة السيطرة الموجبة، المجموعة التاسعة تركت بدون معاملة وعُدت مجموعة السيطرة السالبة، بعد ذلك تم جمع الدم بالأعمار 1 و7 و14 و21 و28 و35 يوماً للحصول على المصل لإجراء الفحوصات المصلية لقياس مستوى الأضداد المناعية الناتجة من عملية التلقيح بهذه اللقاحات بواسطة تقنية الإنزيم المناعي المتميز غير المباشر واختبار تثبيط التلازن الدموي، وقد تم حساب معدل أوزان الجسم والزيادة الوزنية أسبوعياً وحساب معامل التحويل الغذائي في أفراخ مجاميع التجربة، كما تم إجراء الفحص النسجي والكيمياء المناعية النسجية للتحري عن مؤشر CD19 الخاص بالخلايا البائية B- lymphocyte لمقاطع الأنسجة من غدة فابريشيا والغدة الزعترية.

لقد أوضحت النتائج تذبذب معيار الأضداد للمستضد اللقاحي لمرض النيوكاسل بين المجاميع منذ بداية التجربة إذ كان أفضل معيار للأضداد في المجموعتين الثالثة والخامسة (4255.2 ± 1023.8) (5442 ± 2407.6) عند عمر 21 يوماً واستمر هذا التفاوت في معيار الأضداد عند عمر 28 و35 يوم، وكان أعلى معيار للأجسام المضادة للمستضد اللقاحي للإنفلونزا نوع A في المجموعة السادسة عند عمر 35 يوم (7744.2 ± 1326.2) وهو معيار عالٍ مقارنة مع مجاميع التجربة الأخرى والتي لم تظهر أي معيار مقبول للأجسام المضادة خلال فترة التجربة وحتى مع تقدم عمر الأفراخ المحصنة (35 يوم) وعند قياس معيار الأجسام المضادة لمستضد لقاح مرض إنفلونزا الطيور بواسطة عدة الإنزيم المناعي الممتاز المتخصص للـ H9، فقد أعطت المجموعة السادسة أعلى معيار لها أيضاً وبفارق معنوي عن المجموعة السابعة أولاً وبالمجاميع الأخرى ثانياً وبالأعمار 28 و35 يوماً، ان المجموعتين السادسة والسابعة بدأت بإعطاء معيار عالٍ للأضداد لمرض إنفلونزا الطيور نوع H9 في وقت مبكر من عمر الأفراخ وبعمر 21 يوماً في حين تأخرت المجاميع الأخرى إلى عمر 35 يوماً، وحسب بيانات اختبار تثبيط التلازن الدموي كان معيار الأجسام المضادة في المصل لمستضد مرض النيوكاسل أعلى في المجموعة السادسة (4.23 ± 0.25) والمجموعة الخامسة (5.23 ± 0.25) والمجموعة الثانية (9.25 ± 0.47) بالأعمار 7 و21 و35 على التوالي، كما وقد تباين معدل أوزان الجسم بين المجاميع المختلفة وباختلاف أعمار التجربة إذ لوحظ أن أفضل معدل للأوزان كان في المجموعة التاسعة (2281 ± 99.1) وأقل معدل لها في المجموعة الخامسة ± 56.9 (1978.5) عند عمر 35 يوماً، وفي الأسبوع الأخير من التجربة كان أفضل معامل تحويل غذائي في المجموعة الثامنة وبلغ (1.261 ± 0.014) يليه معامل التحويل في المجموعة السادسة والتاسعة (1.412 ± 0.005) (1.436 ± 0.013) على التوالي، أظهرت معظم المجاميع المحصنة تعبيراً نسيجياً عالياً إلى متوسط لمؤشر CD19 الخاص بالخلايا البائية بتقنية الكيمياء المناعية النسجية. وأخيراً، فإن معظم اللقاحات التي تم اختبارها في هذا البحث أعطت كمية كافية من الأجسام المضادة لمستضد مرض النيوكاسل، بينما كانت النتائج ضعيفة بالنسبة لمستضد فيروس إنفلونزا الطيور نوع H9 إذ أظهرت العديد من هذه اللقاحات أجساماً مناعية ضعيفة باستثناء لقاح المجموعة السادسة.

University of Mosul
College of Veterinary Medicine



Evaluation of Immune Response to Commercial Inactivated Newcastle and Avian Influenza H9 Diseases Vaccines in Broilers

Zena Thanoon Younis Badr

MSc/Thesis

Veterinary Medicine / Poultry Diseases

Supervised by

Professor

Dr. Fanar Ablahad Isihak

Abstract

Newcastle disease and avian influenza H9N2 are among the most important viral diseases affecting poultry due to their significant impact on public health and production. Prevention of these diseases relies on the use of both live and inactivated vaccines to stimulate an effective immune response. These vaccines enable immunized birds to resist infection by combating the disease, thereby reducing infection rates, mortality, and the economic losses associated with these infections.

The goal of this study was evaluating the immune response, homogeneity, and immunohistochemistry of seven different types of inactivated vaccines that protect against Newcastle disease and avian influenza H9N2. Day-old broiler chicks (225) were randomly split into 9 groups (25 chicks/group); groups from 1 to 8 were vaccinated with the live attenuated vaccine ND-Clone30-Nobilis by eye drop at 1 and 14 days of age, while the 7 bivalent inactivated vaccines were given subcutaneously in the neck region, each in accordance with the manufacturer's dosage and instructions. Group 1 vaccinated with PRO-VACTM AINK (Komipharm / Korea) in dose of 0.25 ml, group 2 administrated with Poul Shot® flu H9N2+ ND vaccine (CAVAC/ Korea) in dosage of 0.2 ml, group 3 injected with QVAC ND+H9 vaccine (QYH BIOTECH/ China) in a dose of 0.25 ml, group 4 vaccinated with MEFLUVACTM H9ND7 (MEVAC/ Egypt) in a dosage of 0.3 ml, group 5 injected with CEVAC® NEW FLU H9 K (Ceva/ France) vaccine in a dose of 0.2 ml, Then group 6 was administrated with NOBILIS N9H2+ND P (MSD/ Netherlands) vaccine with a dose of 0.25 ml, group 7 injected with Gallimune vaccine (Boehringer Ingelheim/ France) in a dose of 0.3 ml, group 8 gave a live attenuated vaccine ND Clone30 Nobilis (positive control), finally, group 9 considered as untreated group (negative control), Following that, blood samples were collected at 1, 7, 14, 21, 28, and 35 days to obtain serum for serological tests including indirect ELISA and hemagglutination inhibition tests to measure the level of antibodies produced by the vaccination process. Body weight, weekly weight gain, and feed conversion ratio were calculated for

experimental groups. Histological and immunohistochemical examinations were also carried out to look for the CD19 B-cell marker in sections of the bursa of Fabricius and the thymus gland. The results showed fluctuation of antibodies titer for Newcastle disease antigen between groups since the beginning of the experiment, the best titer of antibodies was present in both G3 and G5 (4255.2 ± 1023.8) (5442 ± 2407.6) at the 21 day, then this difference of titers of antibody continued till 28 and 35 day, the highest titer of antibodies for influenza type A antigen is showed in G6 at age 35 day (1326.2 ± 7744.2), therefore this represent a high titer of Abs compared to other experimental groups, which did not showed any acceptable titer for antibodies during the experimental period, even with the progression with age of vaccinated chicks. When measuring specific antibodies against the H9 antigen of avian influenza virus by ELISA, G6 also gave the highest titer with a significant difference from G7 in terms of ages 28 and 35 days. Both G6 and G7 began to give a high titer of antibodies for avian influenza H9 antigen earlier, starting at 21 days, while other groups are delayed until 35 days of age. According to data from the hemagglutination inhibition test, the antibody titer to the NDV antigen was greater in G6 (4.23 ± 0.25), G5 (5.23 ± 0.25), and G2 (9.25 ± 0.47). The body weight was varied between the different groups and the ages of the experiment, as it was noted that the best weight gain was in the G9 (2281 ± 99.1) and the lowest weight in the G5 (1978.5 ± 56.9); thus, with the last week of the experiment, the best feed conversion ratio with G8 was reached (1.261 ± 0.014), followed by G6 and G9 (1.412 ± 0.005) (1.436 ± 0.013), respectively. Most of the immunized groups showed high to moderate tissue expression of CD19 (a specific marker of B-cell) with immunohistochemistry. Finally, most of the vaccines that tested in this study produced sufficient antibodies to Newcastle disease antigen, while the immune responses were weak for avian influenza virus antigen (H9), so many of the tested vaccines showed a weak antibody titer except vaccine of G6.