

## تحضير لقاح حي مضعف للمكورات السبحية الخيلية بالحقن في الشفه العليا في الارانب

عبد المناف حمزة الجودي  
محمد اسعد صالح  
كلية الطب البيطري /جامعة بغداد

### الخلاصة

حضر لقاح حي مضعف من المكورات السبحية الخيلية بزرع الجرثومة بتركيز متدرجة من الاكرفلايين بدءاً من ٢ جزء بالمليون الى ١٦ جزء بالمليون وبواقع ٧٧ تمريرة لمدة ثلاثة اشهر. المجموعة الاولى اعطيت اللقاح بالحقن بالشفه العليا والمجموعة الثانية اعطيت اللقاح بالتقطير بالأنف. بلغ معدل المعيار الحجمي للاضداد في المجموعة الاولى  $853.33 \pm 107.93$  بعد ثمانية اسابيع،  $384 \pm 57.24$  في المجموعة الثانية مع فرق احصائي مهم معنوياً  $P < 0.05$  بين المجموعتين. لم تظهر كلا المجموعتين أي اعراض مرضية بعد اعطائها اصابة التحدي في حين هلكت حيوانات مجموعة السيطرة.

### المقدمة

الاصابة هي باستخدام اللقاحات (3). تم دراسة العديد من اللقاحات ضد خناق الخيل مثل اليكترين، بروتين (م) شبه النقي والنقي، خلاصة يعرض الاجزاء من الخلية الجرثومية واللقاحات الحية المضعفة والتي تتميز بكفاءة مناعية عالية (4,5,6,7). تهدف الدراسة الى تحضير لقاح حي مضعف من المكورات السبحية الخيلية وقياس كفاءة اللقاح بالحقن في الشفه العليا في الارانب.

ان مرض خناق الخيل هو احد اهم الامراض الوبائية للخيول في العالم وقد تستمر فترة الاندلاع الوبائي لعدة اشهر مع نسبة اصابة عالية قد تصل الى 80-100% مع انخفاض نسبة الهلاك ويرافق المرض ظهور مضاعفات كثيرة (1,2). ولانتشار المرض وتأثيره الشديد على صحة الخيول المصابة ولكون العلاج بالمضادات الحيوية غير فعال في الحد من المرض، فان افضل وسيلة لحماية الخيول من

### المواد وطرائق العمل

رفع التركيز جزء واحد بالمليون كل خمس تمريرات و٧٧ تمريرة واستغرقت عملية التحضير ثلاثة اشهر (11).

الايوساط الزرعية: اكار الدم، اكار الدم الحادي على ازاييد الصوديوم، اكار ملرنتون، مرق تود هويت، اكار تود هويت، مرق السكريات (8).

اختباري العقامة والامان (12).  
تصميم التجربة: تم اختيار (٣٠) أرنباً من السوق المحلية وبأوزان متقاربة ووضعت في المكان المخصص للتجربة لمدة أسبوعين وأعطيت العلاجات المضادة للديدان و الكوكسيديا، وقسمت إلى ثلاث مجموعات (١٠) أرانب لكل مجموعة، المجموعة الأولى أعطيت اللقاح بالحقن في الشفه العليا، المجموعة الثانية أعطيت اللقاح بالتقطير بالأنف، المجموعة الثالثة مجموعة السيطرة اعطيت اللقاح بالحقن بالشفه العليا والتقطير بالأنف وبجرعة  $1.0 \times 2.4$  خلية مكونة للمستعمرات الجرثومية وأعطيت الجرعة المنشطة بعد أسبوعين تم سحب الدم كل أسبوعين وفي الأسبوع الثامن من إعطاء اللقاح تم إعطاء جرعة التحدي من الجرثومية الضارية ( $1.0 \times 10^7$ ) خلية مكونة للمستعمرات الجرثومية، ومراقبة حيوانات التجربة لمدة أسبوعين بعد إعطاء جرعة التحدي.

المحاليل والصبغات: محلول الملح الفسيولوجي، محلول دارىء الفوسفات الملحي، محلول الالف، صبغة كرام (8).

العزل الجرثومي: تم عزل المكورات السبحية الخيلية من خراجات غير مفتوحة من الخيول المصابة بالمرض وتم توصيفها باستعمال الاختبارات الكيميوحيوية (8) واستعمال عدة  $20 \text{ strept Api}$ .

اختبار التلازن الدموي المنفعل: استخدام هذا الاختبار المصلي لقياس مستوى الاضداد في مصل الأرانب (9).

تحديد الجرعة المميئة لنصف العدد: تم اعتماد طريقة (10) لتحديد الجرعة المميئة لنصف العدد وكانت  $1.0 \times 10^7$  خلية جرثومية مكونة للمستعمرات الجرثومية.

اللقاح الحي المضعف: زرعت الجرثومة في مرق تود هويت بتركيز متدرجة من ٢ جزء بالمليون وانتهاءً ب١٦ جزء بالمليون من الاكرفلايين حيث تم

### النتائج

أظهرت المجموعة الأولى مجموعة الحقن بالشفه العليا استجابة مناعية خلطيه حيث كان معدل المعيار الحجمي للاضداد  $53.33 \pm 6.74$  بعد أسبوعين،  $170.66 \pm 26.98$  بعد أربعة أسابيع،  $426.66 \pm 53.96$  بعد ستة أسابيع،  $107.93 \pm 107.93$

أظهرت المجموعة الثانية مجموعة الحقن بالشفه العليا استجابة مناعية خلطيه حيث كان معدل المعيار الحجمي للاضداد  $53.33 \pm 6.74$  بعد أسبوعين،  $170.66 \pm 26.98$  بعد أربعة أسابيع،  $426.66 \pm 53.96$  بعد ستة أسابيع،  $107.93 \pm 107.93$

مرضية بعد إعطاء إصابة التحدي ولمدة أسبوعين. وهلكت جميع حيوانات مجموعة السيطرة خلال أسبوع من إعطاء إصابة التحدي وعزلت المكورات السبحية الخيلية بصورة نقية من القلب بعد إجراء الصفة التشريحية.

سته أسابيع ،  $57.24 \pm 384$  بعد ثمانية أسابيع من إعطاء اللقاح. وظهر التحليل الإحصائي فرقا معنويًا مهما بمستوى  $p < 0.05$  في معدل المعيار الحجمي للأضداد بين المجموعتين. لم تظهر حيوانات كلا المجموعتين أي أعراض مرضية أو تفاعل موضعي في الأنف بعد إعطاء اللقاح ولم تظهر أي علامات

### المناقشة

متدرجة من الاكرفالين أدى إلى حصول استجابة مناعية ووقاية الحيوانات من إصابة التحدي. وأظهرت النتائج تفوق معنوي مهم في معدل المعيار الحجمي للأضداد بين المجموعتين حيث إن إعطاء اللقاح بالحقن في الطبقة المخاطية في الشفة العليا أدى إلى حصول استجابة مناعية أعلى من اللقاح عن طريق النقطير بالأنف حيث إن آلية حدوث الاستجابة المناعية تكون أفضل عن طريق الحقن لكون قد لا يستفاد من كامل الجرعة التي تعطى عن طريق النقطير بالأنف بسبب العطاس (13,14). تميز اللقاح المضعف عن طريق الحقن بالشفة العليا بعدم حدوث تفاعل موضعي في مكان الحقن أو علامات جانبية في حين أشار (15) إلى حدوث تفاعل موضعي بعد إعطاء اللقاحات.

إن اللقاحات الحية المضعفة للمكورات السبحية الخيلية تؤدي إلى استجابة مناعية أعلى من اللقاحات الأخرى مثل البكتريين وبروتين (م) واللقاحات المحضرة من أجزاء من الخلية الجرثومي (3,7). وهناك العديد من الطرق المصلية المستخدمة لقياس المعيار الحجمي للأضداد لللقاحات ضد مرض خناق الخيل ويعتبر اختيار التلازن الدموي المنفعل من الاختبارات الكفوءة لذلك (1,11). أظهرت الدراسة كفاءة اللقاح الحي المضعف من المكورات السبحية الخيلية على إحداث استجابة مناعية خلطيه ووقاية الحيوانات من إصابة التحدي ، بعد إجراء عملية تضعيف المكورات السبحية الخيلية من خلال تمريرها ٧٧ مرة في أوساط زرعيه تحوي تراكيز متدرجة من الاكرفالين ، وهذا يتفق مع ما ذكره (11,12) من أن اللقاح المضعف بتمريره بتراكيز

### المصادر

1. Timoney ,J.F. (1993). Strangles . Vet. Clin. North Am. Equine practice 9(2),365-74
2. Leadon , P.D (2005). Epidemiology & management of Strep. equi. Breeding farm equine medicine J.150,87-88
3. Guss,B.,Flock,M.,Frykberg,L.,Waller, A.S,Robinson,C.,Smith,K.C.;&Flock J.I(2009).Getting to grips with strangles: an effective multi component recombinant vaccine for the protection of horses from Streptococcus equi infection . PLOS Pathog. S(9).
4. Al\_Judi,A.M.H.(1990).preparation of vaccine against strangles & evaluation of of its efficiency . Ph.D thesis ,college of Vet. Med., University of Baghdad.
5. Hoffman,A.M, Stampfil,H.R;& Vial, L.(1991).Field evaluation of commercial M-protein vaccine against Strep. equi infection in foals. American J.Vet.Res.52,589\_592.
6. Jacobs,A.A; Goovaert, D.;&Nuijter,P.T. (2000). Investigation towards effective & safe strangles vaccine: submucosal vaccine with live attenuated Strep.equi. Vet.Rec.147,563-567.
7. Florindo,H.F., Pandit,S.,Goncalves, L.M., Alpar , H.O ;&Almeida, A.J.(2009). New approach on the development of a mucosal vaccine against strangles: systemic and mucosal immune responses in a mouse model. Vaccine,27(8),1230\_1241.
8. Carter, G.R.(1974). Diagnostic procedures in veterinary bacteriology & mycology,3rd.ed. Charles Thomas, springfield [].
9. Pesdine,R.W.;& Pine ,L. (1963) Preparation & description of high molecular weight soluble surface antigen from group A Streptococci. J. Bacteriol . 96, 1953-1960.
10. Davis, B.O.; Dubecca, R., Eisen, H.N., Ginsberg, H.S., Wood, W.B.;& Meclarty, M. (1973).

- Microbiology , 2<sup>nd</sup>.ed. Harper & Raw Publishing, Maryland.
11. Myron, G(1988). Equine strangles vaccine & the method of preparation . American J. of Veterinary research , 45, 59\_64.
١٢. عبد المناف حمزة الجودي ، مقداد قاسم محمود (٢٠٠٧). تحضير لقاح حي مضعف ضد مرض خناق الخيل . المجلة الطبية البيطرية العراقية المجلد ٣١، العدد ١ ٥٠\_٤٥
13. Timoney, J.F(2004). Pathogenic equine Streptocci, veterinary research ,23, 397\_409.
14. Timoney, J.F;& Kumar, P (2008). Early pathogenesis of equine Streptococcus equi infection .Equine Vet. J. 40(7),637\_642.
15. Kemp-Symonds, J.,Kemble, T.;& Waller, A(2007). Modified Streptococcus equi (strangles) Vaccination followed by clinically adverse reactions associated with bacterial replication . Equine Vet.J., 39(3), 284\_286.

## Preparation of live attenuated vaccine of Streptococcus equi equi by submucosal injection in the upper lips of rabbits.

A.M.H.Al- Judi M.A.Salih

### Abstract

Live attenuated vaccine of Strept. equi equi was prepared by culturing the bacteria in increasing concentration of acriflavin beginning from 2ppm to 16ppm by 77 passage for three months. The first group recived submucosal injection in the upper lip , and the second group recived intranasal installation of the vaccine. The titer of antibodies in the first group was  $853.33 \pm 107.93$  8 weeks post vaccination, &  $384 \pm 57.24$  in the second group with significant difference at the level of  $P < 0.05$  between the two groups. Both groups did not show any clinical findings after challenge dose , while the control group died.