

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

" وَقُلِ رَبِّيَ زِدْنِي عِلْمًا "

صدق الله العظيم

Experimental Serological Evaluation Of Commercially Available Inactivated Avian Influenza Vaccines In Egypt

A Thesis Presented to
Faculty of Veterinary Medicine,
Alexandria University
In Partial fulfillment of the
Requirements for the Degree

Of
Master of Veterinary
Sciences

In
(Immunology)

By
Nahed Zaki El-Beeh

December (2009)

Acknowledgment

First of all my prayerful gratitude should be submitted to the merciful **ALLAH**, who gave me the ability to finish this work and help I always seek, and without his willing, I will achieve nothing .

I am sincerely grateful to **Prof. Dr. Helmy Ahmed Torkey** Prof. of Microbiology . Department of Microbiology . Faculty of Veterinary Medicine Alex. Univ. for his supervision, scientific guidance and valuable advices.

I would like to express my sincere gratitude to **Dr. Ashraf Mahmoud Awad** Ass. prof. of Poultry Diseases and Hygiene, Fac. Of Vet. Med. Alex. University for his Stimulating supervision and the great help and support during the preparation of this study.

My greatest appreciation to **Dr. Hany Fawzy El-Lakkany** Assistance Professor of Poultry Diseases and Hygiene and The Head of Poultry and Fish Diseases Department . Faculty of Veterinary Medicine Alexandria University for the scientific advice, kindness, constructive assistance, the facilitates he offered to me during this work and continuous encouragement.

Finally, It is great pleasure to express my deepest thanks to **Department of Microbiology and Department of poultry Diseases** for their helpful and advising .

To whom I may have forgotten my sincerest thank .

Dedication

I wish to dedicate this thesis and everlasting gratitude to :

all my family for their support and continuous
encouragement



كلية الطب البيطرى
الدراسات العليا

مذكرة للعرض على مجلس الجامعة بشأن منح درجة الماجستير فى العلوم الطبية البيطرية للسيدة ط . ب / ناهد ذكى البيه تخصص / المناعة

الجنسية : مصرية
الديانة : مسلمة

الاسم : ناهد ذكى البيه
تاريخ ومحل الميلاد : ٢ / ٢ / ١٩٨٥ - بلطيم - كفر الشيخ
الوظيفة : لا يوجد

البكالوريوس وتاريخ الحصول عليه : دور مايو سنة ٢٠٠٦ من كلية الطب البيطرى بإدفيينا
جامعة الإسكندرية بتقدير " جيد "

تاريخ التسجيل للماجستير : ١٩ / ٩ / ٢٠٠٧
التخصص الدقيق : المناعة

القسم : الميكروبيولوجى
التخصص العام : الميكروبيولوجى
عنوان الرسالة باللغة العربية :

التقييم التجريبي للمنعاعات للقاحات أنفلونزا الطيور الخاملة المتاحة فى مصر
عنوان الرسالة باللغة الإنجليزية :

Experimental Serological Evaluation Of Commercially Available Inactivated Avian Influenza Vaccines In Egypt

● أعضاء لجنة الإشراف :

أستاذ الميكروبيولوجيا - قسم الميكروبيولوجيا
كلية الطب البيطرى - جامعة الإسكندرية
أستاذ مساعد صحة وأمراض الدواجن
قسم أمراض الدواجن والأسماك
كلية الطب البيطرى - جامعة الإسكندرية

(١) الأستاذ الدكتور / حلمى أحمد تركى

(٢) الدكتور / أشرف محمود عوض

● أعضاء لجنة الحكم والمناقشة :

- (١) أ. د / جبر فكري الباجورى
أستاذ ورئيس قسم الفيروسولوجيا - كلية الطب البيطرى - جامعة بنها
- (٢) أ. د / سامى عبد السلام خليل
أستاذ الميكروبيولوجيا - كلية الطب البيطرى - جامعة الإسكندرية
- (٣) أ. د / حلمى أحمد تركى
أستاذ الميكروبيولوجيا المتفرغ - كلية الطب البيطرى - جامعة الإسكندرية
- (٤) د / أشرف محمود عوض
أستاذ مساعد صحة وأمراض الدواجن - قسم أمراض الدواجن والأسماك - كلية الطب البيطرى - جامعة الإسكندرية
تاريخ موافقة السيد الأستاذ الدكتور نائب رئيس الجامعة للدراسات العليا والبحوث على التشكيل ١٠ / ١١ / ٢٠٠٩
تاريخ ومكان انعقاد المناقشة يوم الأحد الموافق ٦ / ١٢ / ٢٠٠٩ بمقر الكلية
تاريخ موافقة مجلس القسم على اقتراح التوصية بمنح الدرجة / / ٢٠٠٩
تاريخ موافقة مجلس الكلية على التوصية بمنح الدرجة / / ٢٠٩
والأمر معروض على مجلس الجامعة برجاء النظر

عميد الكلية

أ. د / فكري محمد حسين



كلية الطب البيطرى
الدراسات العليا

بيانات تحرير شهادة
بشأن منح درجة الماجستير فى العلوم الطبية البيطرية
للسيدة ط . ب / ناهد زكى البيه
تخصص / المناعة

- الاسم : ناهد زكى البيه
- تاريخ الميلاد : ١٩٨٥ / ٢ / ٢
- محل الميلاد : بلطيم - كفر الشيخ
- اسم الوالد : زكى البيه
- الجنسية : مصرية
- الديانة : مسلمة

عميد الكلية

أ . د / فكرى محمد
حسين



قرار رئيس الجامعة
رقم / / ٢٠٠ بتاريخ

- رئيس الجامعة :

- بعد الإطلاع على قرار السيد رئيس جمهورية مصر العربية رقم ٤٩ لسنة ١٩٧٢ بشأن قانون تنظيم الجامعات والقرارات المعدلة له .
- وعلى القرار الجمهورى رقم ٨٠٩ لسنة ١٩٧٥ باللائحة التنفيذية لقانون تنظيم الجامعات والقرارات المعدلة له .
- وبعد الإطلاع على قرار مجلس الكلية بجلسته بتاريخ / / ٢٠٠٩ / الموافق على منح درجة الماجستير فى العلوم الطبية البيطرية .
- وعلى موافقة مجلس الجامعة بجلسته المنعقدة بتاريخ / / ٢٠٠٩ /

- قرار :

- منح الطالب : ناهد ذكى البيه
- درجة الماجستير فى العلوم الطبية البيطرية تخصص : المناعة
- فى موضوع : التقييم التجريبي للمناعات للقاحات أنفلونزا الطيور الخاملة المتاحة فى مصر

تحريراً فى : / / ٢٠٠٩ الموافق ١٤٢ هجرية

رئيس الجامعة

عميد الكلية

أ . د / حسن ندير

أ . د / فكرى محمد حسين

خير الله

- CONTENTS -

SUBJECT	PAGE
I. Introduction	1
II. Review of literature	3
II.1.Incidence and distribution	3
II.2.Etiology and properties of the causative agent	5
II.2.a.Genetic and antigenic drift	8
II.3.Clinical signs	9
II.4.Postmortem lesions	10
II.5.Transmission	11
II.6.The immune response to influenza infection	15
II.6.a.Humoral immunity	15
II.6.b.Cellular immunity	17
II.6.c.Host response	19
II.7.Vaccination	21
II.7.a.Conventional vaccines	28
II.7.b.Experimental and future vaccines	34
II.8.Serology	40
II.9.Epidemiology	41
II.6.Diagnostic tests	42
III. Material and Methods	46
III.1.Material	46
III.2.Methods	47
IV. Results	51
V. Discussion	69
VI. Conclusion	77
VII. English Summary	79
VIII. References	81
Arabic summary	

- LIST OF TABLES -

TABLE	PAGE
Table (1) : Weaning of maternally derived antibody to AIV in experimental chicks	53
Table (2) : Humoral immune response of experimental chicks using dose of 0.5 ml of inactivated oil- emulsion AIV- vaccines at 7 days using homologous antigen	54
Table (3) : Humoral immune response of experimental chicks using dose of 0.5 ml of inactivated oil- emulsion AIV- vaccines at 14 days using homologous antigen	56
Table (4) : Humoral immune response of experimental chicks using dose of 0.5 ml of inactivated oil- emulsion AIV- vaccines at 21 days using homologous antigen	58
Table (5) : Ratio of sera that have HI titers above protective titer (7 log.2) at different wks p.v. using homologous antigen	60
Table(6) : Humoral immune response of experimental chicks using dose of 0.5 ml of inactivated oil- emulsion AIV- vaccines at 7 days using heterologous antigen	65
Table (7) : Humoral immune response of experimental chicks using dose of 0.5 ml of inactivated oil- emulsion AIV- vaccines at 14 days using heterologous antigen	66
Table (8) : Humoral immune response of experimental chicks using dose of 0.5 ml of inactivated oil- emulsion AIV- vaccines at 21 days using heterologous antigen	67
Table(9) : Ratio of sera that have HI titers above protective titer (7 log. 2) at different wks P.V. using heterologous antigen	68
Table(10) : Antibody titers detected by homologous or heterologous HI Antigens at different wks p.v. either at 7, 14 or 21 days of age .	

- LIST OF FIGURES -

FIGURE	PAGE
Fig. (1) : HI-titers at different wks p.v. with 0.5 ml of (H5N1 or H5N2) AIV- vaccines given at 7 days old, using homologous HI antigen .	55
Fig. (2) : HI-titers at different wks p.v. with 0.5 ml of (H5N1 or H5N2) AIV- vaccines given at 14 days old, using homologous HI antigen .	57
Fig. (3) : HI-titers at different wks p.v. with 0.5 ml of (H5N1 or H5N2) AIV- vaccines given at 21 days old, using homologous HI antigen .	59
Fig (4) : HI-titers at different wks p.v. with 0.5 ml of (H5N1) AIV- vaccines given either at 7 , 14 or 21 days old .	61
Fig (5) : HI-titers at different wks p.v. with 0.5 ml of (H5N2) AIV- vaccines given either at 7 , 14 or 21 days old .	62
Fig (6) : Experimental chicks with HI protective titers vaccinated with 0.5 ml of (H5N1) AIV vaccine given either at 7 , 14 or 21 days old .	63
Fig (7) : Experimental chicks with HI protective titers vaccinated with 0.5 ml of (H5N2) AIV vaccine given either at 7 , 14 or 21 days old .	64

الملخص العربي

أجريت التجارب المعملية لتقييم الاستجابات المناعية للقاحات الخاملة لفيروس أنفلونزا الدجاج الشديد الضراوة تحت النوع (إتش ٥ إن ١) . وقد تم استخدام اللقاحات التجارية الأكثر شيوعاً وهم (إتش ٥ إن ١) المهندس وراثياً ولقاح (إتش ٥ إن ٢)

— وقد أسفرت التجارب عن النتائج الآتية :

(١) عند تحصين كتاكيت الساسو المهجنة مع السلالات المحلية التي تحمل منسوباً منخفض من الأجسام المضادة المنقولة من الأم باللقاحات (إتش ٥ إن ١) عند عمر ٧ أيام بجرعة ٠.٥ سم / طائر تحت جلد الرقبة كانت الاستجابات المناعية وعدد العينات التي تحمل مستوى مناعي يحمى ضد النفوق متوسطة ، ولكن باللقاح (إتش ٥ إن ٢) كانت الاستجابات المناعية وعدد العينات التي تحمل مستوى مناعي يحمى ضد النفوق قليلة .

(٢) عند تحصين كتاكيت التجربة التي تحمل منسوباً منخفض من الأجسام المضادة المنقولة من الأم باللقاح (إتش ٥ إن ١) عند عمر ١٤ أو ٢١ يوم بجرعة ٠.٥ سم / طائر تحت جلد الرقبة ، كانت الاستجابات المناعية وعدد العينات التي تحمل مستوى مناعي يحمى ضد النفوق عالية وكافية للحماية مقارنة بالطيور التي تحصنت بلقاح (إتش ٥ إن ٢) عند عمر ١٤ أو ٢١ يوم حيث كانت الاستجابات المناعية مرضية ولكنها أقل من الاستجابات المناعية التي أعطاها لقاح (إتش ٥ إن ١) وعدد العينات التي تحمل مستوى مناعي يحمى ضد النفوق قليله أو غير كافيه للحماية .

(٣) الاستجابات المناعية وعدد العينات التي تحمل مستوى مناعي يحمى ضد النفوق باللقاح (إتش ٥ إن ١) ولقاح (إتش ٥ إن ٢) كانت عالية ومرضيه في طيور التجربة التي تحصنت عند عمر ١٤ يوم أو ٢١ يوم مقارنة بالطيور التي تحصنت عند عمر ٧ أيام حيث كانت الاستجابات المناعية وعدد العينات التي تحمل مستوى

مناعي يحمى ضد النفوق قليلة أو متوسطة ، ولكن الطيور التي تحصنت عند عمر ١٤ يوم كانت استجابتها المناعية وعدد العينات التي تحمل مستوى مناعي يحمى ضد النفوق عاليه مقارنة بالطيور التي تحصنت عند عمر ٢١ يوم .

وقد استنتج من الدراسات السابقة أن اللقاحات التجارية الخاملة المستعملة من النوع (إتش ٥ إن ١) و (إتش ٥ إن ٢) لفيروس أنفلونزا الطيور الضاري في مصر قادرة على تنشيط الاستجابة المناعية سيرولوجياً .

كما أن نتائج التجارب في دجاج التجربة أشارت إلى ضرورة مراجعة أعمار الطيور عند التحصين وذلك بهدف الحصول على أعلى استجابة مناعية سيرولوجياً .

كما أن الاستجابات المناعية في كتاكيت التجربة التي تم تحصينها تحت الجلد باللقاح (إتش ٥ إن ١) أو (إتش ٥ إن ٢) عند قياسها بالـ **heterologous Ag** كانت أقل من الاستجابات المناعية التي تم الحصول عليها عند القياس بالـ **homologous Ag** . وبالتالي نوع **Ag** الذي يستخدم في القياس يؤثر على نسبة الاستجابات المناعية حيث أنه في حاله تماثل **Ag** مع نوع التحصين تكون الاستجابات المناعية أعلى .

- Under Supervision of :

Prof.Dr. Helmy Ahmed Torky

Prof. of Microbiology

Department of Microbiology

Faculty of Veterinary Medicine Alex. Univ.

Dr. Ashraf Mahmoud Awad

Ass. prof. of Poultry Diseases and Hygiene

Department Of Poultry and Fish Diseases

Fac. Of Vet. Med. Alex. University

- لجنة الإشراف :-

الأستاذ الدكتور / حلمى أحمد تركى

أستاذ الميكرو بيولوجيا

قسم الميكروبيولوجيا

كلية الطب البيطرى - جامعة الإسكندرية

الدكتور / أشرف محمود عوض

أستاذ مساعد صحة وأمراض الدواجن

قسم أمراض الدواجن والأسماك

كلية الطب البيطرى - جامعة الإسكندرية

