*تقيم لقاحات الأنفلونزا التجارية المستخدمة في العراق بواسطة تقنية الاليزا

شيماء عبد جبر
جامعة القادسية /كلية الطب البيطري
Shamaa @yahoo.com

نافع صبيح جاسم
جامعة القادسية / كلية الطب البيطري
NSJa1965 @yahoo.com

الخلاصة

هدفت هذه الدراسة الى تقييم انواع لقاحات الانفلونزا المبطلة المستخدمة في حقول الدواجن في العراق للتقليل من الهلاكات والخسائر الاقتصادية في دجاج اللحم والبيض ، حيث تم تقييم كفاءة اللقاحات بالاعتماد على فحص الاليزا بعمر (١٨، ٢٥، ٣٢، ٤٠) يوم على افراخ التجربة المكونة من (٨٠٠ فرخ) ، خمسة عشر منها تم اختيارها عشوائيا لغرض المناعة الامية بعمر(٤يوم) ، و٣٥ طير تركت بدون لقاح كمجموعة سيطرة وقسمت البقية الى خمسة مجاميع كل مجموعة تحتوي على ١٥٠ طير ، لقحت المجموعة الاولى بلقاح الانفلونزا + النيوكاسل المبطل من شركة انترفيت ، المجموعة الثانية لقحت بلقاح الانفلونزا + النيوكاسل المبطل من شركة مريال ، المجموعة الثالثة لقحت بلقاح الانفلونزا + النيوكاسل المبطل من شركة فاترو، المجموعة الرابعة لقحت بلقاح الانفلونزا من شركة ايزو والمجموعة الخامسة لقحت بلقاح الانفلونزا + النيوكاسل من شركة ايزو ايضا .
كل شركة قسمت الى خمسة مجاميع ثانوية ، لقحت المجاميع الثانوية الثالثة والرابعة والخامسة بلقاحات حية ومضعفة لمرض النيوكاسل ومرض التهاب القصبات المعدي . كل المجاميع الملقحة بلقاح الانفلونزا لقحت بلقاح الكمبورو بعمر ١٢ يوم ، حيث اظهرت النتائج وجود فرق معنوي بالاستجابة المناعية بين المجاميع الملقحة بالمقارنة مع مجموعة السيطرة كما اظهرت المجموعة الثانية والرابعة فرق معنوي بالمقارنة مع باقي المجاميع الملقحة . واظهر لقاح الانفلونزا من شركة انترفيت استجابة مناعية اكثر من بقية اللقاحات الاخرى.

كلمات مفتاحية : انفلونزا الطيور ، لقاح الانفلونزا الزيتي ، اللقاح الحي المضعف ، اختبار الاليزا.

المقدمة

احتلت صناعة الدواجن أهمية كبيرة في الاقتصاد العالمي لكونها توفر مادة غذائية اساسية لما فيها من بروتين في البيض واللحم وكذلك توفير فرص العمل واستخدام مخلفات الدواجن كسماد حيواني في الزراعة واستخدام الريش في الصناعة ،فضلا على ان استقرار وانخفاض اسعار الدواجن تؤدي الى استقرار اسعار اللحوم الحمراء وتوجه المستهلك نحوها لكونها ارخص ثمنا وافضل صحيا من اللحوم الحمراء(34).

فايروسات الانفلونزا تنتمي الى عائلة Orthomyxoviridiae ، هذه الفايروسات تصنف الى ثلاثة انواع A ,B, C بالاعتماد على المستضدات الداخلية (27) ، ان فايروسات الانفلونزا نوع (A) تصيب الانسان وانواع عديدة من الحيوانات منها الخيول والخنازير والطيور والحيتان وتعتبر الطيور المائية المصدر الرئيسي لجميع فايروسات الانفلونزا التي تصيب الحيوانات الاخرى .(33 ; 24) و يعتبر الخنزير المضيف المهم لهذه الفايروسات والذي يكون حساس لكل من فايروس انفلونزا الانسان والطيور (18). واعتمادا على إمراضيه فيروسات الانفلونزا في الدواجن تقسم ثانويا الى نوعين ممرضين هما مجموعة فيروسات الانفلونزا عالية الامراضية (HPAI) وتشمل معظم فيروسات ال(H5,H7) (13) ، والتي تسبب هلاكات عالية تصل الى ١٠٠% ومجموعة فيروسات قليلة الامراضية (LPAI) والتي تسبب علامات تنفسية بسيطة مع قلة انتاج البيض ونسبة هلاكات قليلة (37) .

تطرح فيروسات مرض انفلونزا الطيور من المنخرين والفم والغشاء المبطن للعين conjunctiva والمجمع cloacae للطيور المصابة الى المحيط الخارجي وذلك لان الفايروس يتكاثر في اعضاء الجهاز التنفسي ، الهضمي ، البولي او التناسلي (28)، ان فايروسات انفلونزا الطيور نوع H9N2 سببت اصابات مرضية مختلفة الشدة في مناطق عدة من العالم منها الدول المجاورة كالسعودية ، ايران، سوريا، الاردن ، باكستان ،ودول جنوب شرق اسيا حيث ادت الى خسائر اقتصادية كبيرة (7) وقد تم عزل فايروس انفلونزا الطيور H9N2 لأول مرة في العراق من قطعان الدجاج البياض عام٢٠٠٢ من قبل (8) .

ان سبب زيادة الاهتمام العالمي بمرض انفلونزا الطيور يعود الى انتقال الفايروس بواسطة الطيور المهاجرة وهذا يسبب انتشار المرض في مناطق مختلفة من العالم (36).

ونظرا للارتفاع الكبير في نسبة الهلاكات في قطعان الدواجن وبسرعة عالية فقد تم اللجوء الى التلقيح باللقاح المبطل لهذا الفايروس ،وكذلك منع استيراد الطيور الحية من البلاد المصابة وتجنب صيد الطيور المهاجرة والتخلص الفوري من الطيور المصابة(5).

وقد هدفت هذه الدراسة الى :

١-تقييم كفاءة لقاحات مرض الانفلونزا المستخدمة في العراق(لقاح مرض الانفلونزا الزيتي عترة H9N2).

٢- السيطرة على مرض انفلونزا الطيور (H9N2) في العراق .

٣- معرفة تأثير اعادة التلقيح بلقاح مرض الانفلونزا بعد اسبوع .

٤- دراسة تأثير اللقاحات الاخرى على لقاح انفلونزا الطيور (ND vaccine ,IB vaccine , IBD vaccine) .

المواد وطرق العمل

موقع التجربة :-

تمت التجربة في قاعة من قاعات كلية الطب البيطري/ جامعة القادسية حيث تم غسل القاعة بمساحيق التنظيف وتبخيرها بالفورمالين وبرمنغنات البوتاسيوم على التوالي وتركت القاعة ثلاث ايام قبل البدء بالتجربة وكذلك تم غسل المناهل والمعالف البلاستيكية وتعقيمها وكانت درجة الحرارة في اليوم الاول ٣٥ م° ثم خفضت بعد ٤ ايام الى ٣٢ م° وفي كل اسبوع ٢م°حتى نهاية فترة التجربة.

التغذية:-

تم استعمال علف الدواجن المركز في تغذية الافراخ طيلة فترة التربية حيث كان العلف ضمن المواصفات الطبيعية

افراخ التجربة

استخدم في هذه التجربة افراخ فروج اللحم من عرق كوب (Cobb) عدد (800) وكانت فترة التجربة من ١٠/كانون الثاني ٢٠١٥ الى ٢٠/شباط /٢٠١٥ وتم الحصول على الافراخ من احدى مفاقس مدينة الديوانية(مفقس زبيد).

١- مجموعة لقحت بلقاح الانفلونزا من شركة انترفيت
٢- مجموعة لقحت بلقاح الانفلونزا من شركة ميريال
٣- مجموعة لقحت بلقاح الانفلونزا من شركة فاتروا
٤- مجموعة لقحت بلقاح الانفلونزا من شركة ايزو
٥- مجموعة لقحت بلقاح الانفلونزا المنفرد من شركة ايزو.

اللقاحات المستخدمة في التجربة

١- لقاح الانفلونزا الزيتي المبطل

ت	The dose	Source	Vaccine
١	o.2 ml انترفيت	Holland شركة انترفيت	1-ND + Influenza H9N2
٢	o.2 ml ميرال	France شركة ميريال	2-Influenza + ND
٣	0.2 ml فاترو	Italy شركة فاترو	3-Influenza+ND
٤	0.2ml ايزو ND+ AI	Italy شركة ايزو	4-Influenza+ ND
٥	0.2ml ايزو AI	Italy شركة ايزو	5-Influenza H9N2 (منفرد)

٢-اللقاحات الحية المضعفة

ت	Source	Vaccine
١	Holland شركة انترفيت	1-Ma5+ clone 30
٢	Holland شركة انترفيت	2-ND Clone 30
٣	Holland شركة انترفيت	3-Gimboro 228e
٤	BoehringerIngelheim (Germany)	4- ND + Ibma5
٥	BoehringerIngelheim (Germany)	5- ND Lasota
٦	Izo S. V. R. L. (Italy)	6- Izovac Clone
٧	Izo S. V. R. L. (Italy)	7- Izovac CHB
٨	Izo S. V. R. L. (Italy)	8- IzovacLasota

- طريقة التلقيح باللقاح الزيتي هي الحقن تحت الجلد في الرقبة .
- طريقة التلقيح باللقاح الحي المضعف (vaccine, NDvaccineIB) هي طريقة التقطير بالعين .
- طريقة تلقيح لقاح الكمبورو هي طريقة الشرب بالماء .

جمع عينات الدم

جمعت عينات الدم من كافة المجاميع(١٠ أفراخ من كل مجموعة) في الاعمار (١٨ ، ٢٥ ، ٣٢ ، ٤٠) يوم من الوريد الجناحي في انابيب معقمة خالية من اي مادة مانعة للتخثر ثم وضعت في جهاز الطرد المركزي بسرعة ٢٥٠٠ دورة / دقيقة ولمدة ٥ دقائق ثم بعدها تم سحب مصل الدم بواسطة ماصة باستور ومن ثم نقل الى قناني بلاستيكية محكمة السد وحفظت في المجمدة ٢٠ م° لحين اجراء الفحص المناعي المطلوب عليها في المستشفى البيطري التعليمي ، كذلك جمعت عينات الدم من ١٥ فرخ بعمر (٤ يوم) لقياس المناعة الامية. وقد تم استخدام Influenza antibody kit (Symbiotic – USA)

***اختبار الاليزا:**

طبقت طريقة الفحص حسب النشرة المرفقة مع عدة الاليزا حيث يعتبر اختبار الاليزا سريع في الكشف عن الاجسام المضادة لفايروس الانفلونزا ، هذا الفحص يساعد على تحديد مستوى الاجسام المضادة قبل وبعد عملية التلقيح .

التحليل الاحصائي :-

تم تحليل نتائج معايير الاضداد المقاسة باستخدام تقنية الانزيم المناعي الممتز غير المباشر Indirect ELISA احصائيا باستخدام اختبار تحليل التباين الثنائي (ANOVA) ومقارنتها باستخدام اختبار اقل فرق معنوي (LSD) عند مستوى احتمالية ٠,٠٥ (Steel and Torrie ,1980) .

٤- النتائج :

تبين النتائج بان معدل الاضداد الناتجة من التلقيح بلقاح الانفلونزا بدأ بالارتفاع في عمر ١٨ يوم في جميع المجاميع الملقحة بالمقارنة مع مجموعة السيطرة وكذلك تبين النتائج بان المجاميع الثانوية الثانية والرابعة الملقحة بجرعتين من لقاح الانفلونزا كان معدل الاضداد فيها اعلى من المجاميع الثانوية الاولى والثالثة والخامسة الملقحة بجرعة واحدة من لقاح الانفلونزا وان هذا المعدل استمر بالارتفاع في عمر ٤٠ يوم في المجاميع الملقحة بجرعتين وفي عمر ٣٢ يوم في المجاميع الملقحة بجرعة واحدة ومن النتائج يتضح ان اعلى معدل للاضداد كان في المجموعة الملقحة بلقاح الانفلونزا من شركة انترفيت .

جدول ١:- المجاميع الملقحة بلقاح الانفلونزا الزيتي المنفرد من شركة ايزو الايطالية:

C:- (٣٠ طير) تمثل مجموعة السيطرة
G1 : (30طير) لقح بلقاح الانفلونزا الزيتي المبطل بعمر ١ يوم
G2:(٣٠طير) لقح بنفس اللقاح بعمر ١ يوم وتم اعادة اللقاح بعمر ٧ يوم
G3:(٣٠ طير) لقح بنفس اللقاح بعمر ١ يوم ولقح لقاح حي مضعف IZOVAC CHB بعمر ١ يوم وعمر ١٤ يوم بطريقة التقطير بالعين
G4:(٣٠ طير) لقحت بلقاح الانفلونزا الزيتي بعمر ١ يوم وعمر ٧ يوم وكذلك لقحت بلقاح الحي المضعف IZOVAC CHB بعمر ١ يوم وعمر ١٤ يوم بطريقة التقطير بالعين
G5:(٣٠ طير) لقح بلقاح الانفلونزا الزيتي بعمر ١ يوم ولقحت باللقاح الحي المضعف IZAVAC Clone بعمر ٤ يوم وعمر ١٨ يوم
* تدل الحروف الكبيرة الى القراءة العمودية (بين المجاميع) في حين تدل الحروف الصغيرة الى القراءة الاحصائية الافقية (بين الفترات لنفس المجموعة)
*تدل الحروف المختلفة الى وجود فروقات مهمة احصائيا في حين تدل الحروف المتشابهة الى عدم وجود فروقات احصائية تحت مستوى احتمالية ($p<0.05$)

جدول ٢ :المجاميع الملقحة بلقاح الانفلونزا +النيوكاسل الزيتي من شركة فاترو الايطالية.

Groups	18 Day	25 Day	32 Day	40 Day
C	±٠,٥ ٢٥٨,٤ Aa	±١,٢٨ ٢١٣,٤ Ab	±١,٦٦ ١٨٥,٤ Ac	±١,٨٦ ١١٧,٦ Ad
G1	±٦,٠٦ ٤٧٩,٨ Ba	±١,٠ ٥٨٤ Bb	±٠,٧٠ ٧٥٣ Bc	±١,٢٩ ٦٨٣,٤ Bd
G2	±١,٢٦ ٥٣٤ Ca	±٩,٣٢ ٦٣٦,٨ Cb	±٠,٨٧ ٨٥٢,٦ Cc	±١,٣٨ ٨٧٥ Cd
G3	±٣,٣٢ ٣٨٨,٤ Da	±٠,٥٤ ٥٥٨ Db	±١,٦٥ ٦٨٥,٢ Dc	±١,٧٧ ٦٨٤,٨ Bc
G4	±٢,٦٢ ٥٢٣ Ea	±٢,٤٧ ٥٥٨,٢ Db	±٠,٠٢ ٧٩٣,٠ Ec	±٠,٨٦ ٨١٧,٢ Dd
G5	±٠,٩٨ ٤٢٢,٦ Fa	±٠,٧٥ ٥٣٢,٤ Eb	±١,٠٤ ٦٩٢ Fc	±٠,٨٣ ٦٨٨ Bc

C:- (٣٠طير) تمثل مجموعة السيطرة.
G1: ٣٠ طير لقح بلقاح الانفلونزا الزيتي ا بعمر ١يوم.

Groups	18 day	25 day	32day	40 day
C	٢٥٨,٤ ±٠,٥ Aa	±١,٢٨ ٢١٣,٤ Ab	±١,٦٦ ١٨٥,٤ Ac	±١,٨٦ ١١٧,٦ Ad
G1	٤٦٧±٢,٠٢ Ba	٠,٩٢ ± ٥٧٣,٤ Bb	± ١,٦٥ ٧٢١,٨ Bc	٧٢٠±١,١٤ Bc
G2	٥٢١,٤±١,٠٢ Ca	١,١٤ ٦٦٤ ± Cb	± ٠,٨٠ ٨٣٠,٨ Cc	±١,٥٩ ٨٤٣,٢ Cd
G3	±٢,٤٨ ٣٩٥,٤ Da	٣,٢٤ ٥١٢ ± Db	١,١٢ ٦٤٤,٤ Dc	± ٠,٦٧ ٦٣٩,٦ Dc
G4	٥١٤± ٣,٦٥ Ea	٠,٥١ ± ٥٧١,٤ Bb	٠,٥١ ٨٠٥,٦ Ec	± ١,٩٣ ٨٣٦,٢ Ed
G5	٤٠٩,٤ ٠,٥١ Fa	٠,٥٨ ٤٨٧,٢ Fb	± ١,٤٣ ٦٧٠,٨ Fc	±٠,٨٣ ٦٦٥ Fc

G2:٣٠طير لقح بنفس اللقاح بعمر ١ يوم وتم اعادة اللقاح بعمر ٧ يوم
G3:٣٠ طير لقح بنفس اللقاح بعمر ١ يوم ولقح لقاح حي مضعف IZOVAC CHB (Italy)
بعمر ١ يوم وعمر ١٤ يوم بطريقة التقطير بالعين
G4: ٣٠ طير لقحت بلقاح الانفلونزا الزيتي بعمر ١ يوم وعمر ٧ يوم وكذلك لقحت بلقاح الحي IZOVAC CHB (Italy) بعمر ١ يوم وعمر ١٤ يوم بطريقة التقطير بالعين
G5:٣٠ طير لقح بلقاح الانفلونزا الزيتي بعمر ١ يوم ولقحت باللقاح الحي المضعفclone Izovac بعمر ٤ يوم وعمر ١٨ يوم
* تدل الحروف الكبيرة الى القراءة العمودية (بين المجاميع) في حين تدل الحروف الصغيرة الى القراءة الاحصائية الافقية (بين الفترات لنفس المجموعة)

*تدل الحروف المختلفة الى وجود فروقات مهمة احصائيا في حين تدل الحروف المتشابهة الى عدم وجود فروقات احصائية تحت مستوى احتمالية ($p<0.05$) .

جدول ٣ : المجاميع الملقحة بلقاح الانفلونزا + النيوكاسل الزيتي من شركة ميريا ل الفرنسية .

Groups	18 Day	25 Day	32 Day	40 Day
C	±٠,٥ ٢٥٨,٤ Aa	±١,٢٨ ١٢٣,٤ Ab	±١,٦٦ ١٨٥,٤ Ac	±١,٨٦ ١١٧,٦ Ad
G1	±٠,٧٣ ٥١٦,٨ Ba	±٠,٦٦ ٦٣٠,٨ Bb	±١,٧٦ ٧٨٢ Bc	±١,٦٨ ٧٢١,٨ Bd
G2	±٠,٦٧ ٦٠٧,٤ Ca	٧٥٣,٦±١,٥٠ Cb	±١,١٢ ٩١٤,٤ Cc	±٠,٧٧ ١٠٣٠ Cd
G3	±٠,٩٧ ٤٢١,٨ Da	±١,٤٦ ٥٣٣,٨ Db	±١,١٦ ٧١٧,٢ Dc	±١,٥٧ ٧٠٥,٦ Dd
G4	±٠,٨٦ ٥٤٥,٢ Ea	±٠,٩٧ ٦٩٧,٨ Eb	±٠,٥٨ ٨٩١,٨ Ec	±٠,٥٨ ٩٩٧,٢ Ed
G5	±١,٠٣ ٤٠٨,٦ Fa	٥٨٧ ±١,٣٤ Fb	±١,٠٣ ٧٠١,٤ Fc	±٠,٨١ ٧٠١,٤ Dc

C:-(٣٠ طير) تمثل مجموعة السيطرة .

G1 :- (٣٠ طير) لقح بلقاح الانفلونزا بعمر ١ يوم .

G2-: 30طير لقح بنفس اللقاح بعمر ١ يوم وتم اعادة اللقاح بعمر ٧ يوم

G3:٣٠ طير لقح بنفس اللقاح بعمر ١ يوم ولقح لقاح حي مضعف ND + IBMA5 (Germany)

بعمر ١ يوم وعمر ١٤ يوم بطريقة التقطير بالعين

G4: ٣٠ طير لقحت بلقاح الانفلونزا الزيتي بعمر ١ يوم وعمر ٧ يوم وكذلك لقحت بلقاح الحي المضعف ND IBMA5 (Germany) + بعمر ١ يوم وعمر ١٤ يوم بطريقة التقطير بالعين

G5:٣٠ طير لقح بلقاح الانفلونزا الزيتي بعمر ١ يوم ولقحت باللقاح الحي المضعف ND (Germany) Lasota بعمر ٤ يوم وعمر ١٨ يوم

* تدل الحروف الكبيرة الى القراءة العمودية (بين المجاميع) في حين تدل الحروف الصغيرة الى القراءة الاحصائية الافقية (بين الفترات لنفس المجموعة)

*تدل الحروف المختلفة الى وجود فروقات مهمة احصائيا في حين تدل الحروف المتشابهة الى عدم وجود فروقات احصائية تحت مستوى احتمالية ($p<0.05$)

جدول ٤: المجاميع الملقحة بلقاح الانفلونزا + النيوكاسل الزيتي من شركة ايزو الايطالية

IZO AI+ND Vaccine

Groups	18 Day	25 Day	32 Day	40 Day
C	±٠,٥ ٢٥٨,٤ Aa	±١,٢٨ ٢١٣,٤ Ab	±١,٦٦ ١٨٥,٤ Ac	±١٨,٦ ١١٧,٦ Ad
G1	±٦,٥٤ ٤٢١,٦ Ba	±٢,٣٩ ٥٦٧,٢ Bb	±٠,٦٧ ٦٣١,٦ Bc	±٠,٤٠ ٥٦٨,٤ Bb
G2	±١,٥٢ ٤٤٨,٢ Ca	±١,٥ ٦٠٢,٨ Cb	±٠,٧٣ ٦٩٠,٨ Cc	٦٩٨ ±٠,٧ Cc
G3	±٢,٤٦ ٣٩٦,٢ Da	±٢,٥ ٥٣٧,٤ Db	±٠,٦٦ ٦١٠,٨ Dc	±٨,١٨ ٤٢٦,٦ Dd
G4	٣,٤٠ ± ٤٣٢,٦ Ea	±٠,٨٦ ٥٧٢,٨ Eb	±١,٠٧ ٦٤٥,٦ Ec	±٢,٢٣ ٦٤٧,٦ Ec
G5	±٨,٨٥ ٣٨٣,٦ Fa	±٢,١٥ ٥٣٥,٦ Db	±١,٤٦ ٥٥٢,٨ Fc	±٢,٣١ ٤٣٢,٨ Dd

G1: ٣٠ طير لقح بلقاح الانفلونزا الزيتي بعمر ١ يوم

G2:٣٠طير لقح بنفس اللقاح بعمر ١ يوم وتم اعادة اللقاح بعمر ٧ يوم

G3:٣٠ طير لقح بنفس اللقاح بعمر ١ يوم ولقح لقاح حي مضعف Izovac clone بعمر ١ يوم وعمر ١٤ يوم بطريقة التقطير بالعين

G4: ٣٠ طير لقحت بلقاح الانفلونزا الزيتي بعمر ١ يوم وعمر ٧ يوم وكذلك لقحت بلقاح الحي المضعف Izovac clone بعمر ١ يوم وعمر 14 يوم بطريقة التقطير بالعين

G5:٣٠ طير لقح بلقاح الانفلونزا الزيتي بعمر ١ يوم ولقحت باللقاح الحي المضعف (IZOVAC lasota) (Italy بعمر ٤ يوم وعمر ١٨ يوم

* تدل الحروف الكبيرة الى القراءة العمودية (بين المجاميع) في حين تدل الحروف الصغيرة الى القراءة الاحصائية الافقية (بين الفترات لنفس المجموعة)

*تدل الحروف المختلفة الى وجود فروقات مهمة احصائيا في حين تدل الحروف المتشابهة الى عدم وجود فروقات احصائية تحت مستوى احتمالية ($p<0.05$)

جدول ٥ :- المجاميع الملقحة بلقاح الانفلونزا + النيوكاسل الزيتي من شركة انترفيت .

Groups	18 Day	25 Day	32 Day	40 Day
C	±٠,٥ ٢٥٨,٤ a A	±١,٢٨ ٢١٣,٤ Ab	±١,٦٦ ١٨٥,٤ Ac	±١,٨٦ ١١٧,٦ Ad
G1	±٣,٢٧ ٥٣٧ Ba	٦٩٤ ±٠,٣١ Bb	±٠,٧٣ ٧٦١,٢ Bc	±١,١٦ ٧٦٢,٨ Bc
G2	±٠,٨٨ ٦١١,٨ Ca	٧٨١,٢±٠,٨٦ Cb	±١,١٤ ٩٦٤ Cc	±٤,٢١ ١١٩٧,٢ Cd
G3	±٣,١٨ ٤٦٥,٤ Da	٥٦٢ ±١,٠٥ Db	±١,٣٢ ٧١٦,٢ Dc	±٠,٤٠ ٧١٨,٤ Dc
G4	±١,٩٤ ٥٥٨,٦ Ea	٧١١,٢ ±٢,٦ Eb	±١,١١ ٩٢٢,٨ Ec	±١,٣٠ ١٠٦٢ Ed
G5	±٠,٦٦ ٤١٢,٨ Fa	±٠,٧٥ ٥٨١,٤ Fb	±٠,٣٧ ٧٢١,٢ Dc	±٠,٦٦ ٧١٧,٨ Dc

G1: ٣٠ طير لقح بلقاح الانفلونزا الزيتي بعمر ١ يوم

G2:٣٠طير لقح بنفس اللقاح بعمر ١ يوم وتم اعادة اللقاح بعمر ٧ يوم

G3:٣٠ طير لقح بنفس اللقاح بعمر ١ يوم ولقح لقاح هي مضعف (انترفيت)

MA5 + clone 30 بعمر ١ يوم وعمر ١٤ يوم بطريقة التقطير بالعين

G4: ٣٠ طير لقحت بلقاح الانفلونزا الزيتي بعمر ١ يوم وعمر ٧ يوم وكذلك لقحت بلقاح الحي المضعف MA5+ clone 30(انترفيت) بعمر ١ يوم وعمر ٧ يوم بطريقة التقطير بالعين

G5:٣٠ طير لقح بلقاح الانفلونزا الزيتي بعمر ١ يوم ولقحت باللقاح الحي المضعف NDclone (انترفيت) بعمر ٤ يوم وعمر ١٨ يوم

* تدل الحروف الكبيرة الى القراءة العمودية (بين المجاميع) في حين تدل الحروف الصغيرة الى القراءة الاحصائية الافقية (بين الفترات لنفس المجموعة)

*تدل الحروف المختلفة الى وجود فروقات مهمة احصائيا في حين تدل الحروف المتشابهة الى عدم وجود فروقات احصائية تحت مستوى احتمالية ($p<0.05$).

المناقشة

١-نتائج فحص المناعة الاميةلمرض انفلونزا الطيور بواسطة تقنية الاليزا

Results of Maternal Immunity for Influenza Disease by ELISA .

اخذت عينات الدم في عمر٤ يوم لقياس المناعة الامية للأفراخ (Maternal immunity) وقد اظهرت نتائج العينات المفحوصة ان معدل الاجسام المضادة لمرض انفلونزا الطيور كان (٠,٦١ ± ٣٧٣,٤) ،

ان المناعة الامية لها اهمية في الحماية من الاصابة بالأمراض التنفسية حيث وضع الباحث (16) ان الخسائر الاقتصادية التي تحدث جراء الاصابة بالأمراض التنفسية غالبا ما ترافق المناعة الامية الضعيفة للقطيع في وقت التفقيس .ان المناعة الامية تتداخل مع الاستجابة المناعة للقاح الاول ويعتمد هذا على مستوى المناعة الامية اذا كانت جيدة او ضعيفة، وقد تم قياس مستوى المناعة الامية في عمر ٤يوم وذلك لاكتمال امتصاص كيس المح Yolk sac في هذا العمر واكتمال انتقال الكلوبيولين المناعي IgG الى جسم الطير بعد الفقس (12) .

٢- الاستجابة المناعية للقاح الانفلونزا الزيتي بواسطة تقنية الاليزا

Results of Antibody Response for Influenza Vaccine by ELISA .

ان اللقاح الفعال ضد مرض انفلونزا الطيور (Avain influenza) هو اللقاح الذي يبرهن قدرته على تحفيز الاستجابة المناعية والتي بدورها تحمي الطيور من المرض(23) .ان اللقاحات التجارية الحالية لا توفر حماية كاملة من المرض ولكن الدراسات التجريبية اظهرت بأن استعمال اللقاحات بصورة صحيحة يمكن ان يحقق عدة اهداف منها الحماية من الاصابة ، التقليل من طرح الفايروس الحقلي اذا ما أصيبت الدواجن الملقحة، منع انتقال الفيروس الحقلي عن طريق الاحتكاك وزيادة مقاومة الطيور للإصابة بفايروس انفلونزا الطيور ((32 ;10) ، لقد تم استخدام تقنية الانزيم المناعي الممتز غير المباشر في قياس اضداد مرض انفلونزا الطيور كونها احد الاختبارات الاكثر حساسية وذا خصوصية عالية لأضداد مرض الانفلونزا (20) .

ان الفايروس المعزول في العراق هو من نوع الـ H9N2 (٢;١)مع تأكيد وجود اضداد هذا الفايروس في قطعان الدواجن في محافظة نينوى (٣، ١) فضلا عن وجود دراسة اخرى في نفس المحافظة اثبتت وجود اضداد لفايروس انفلونزا الطيور عترة H9N2 في الحمام ودور هذا الطائر كناقل طبيعي لهذا المرض (٦) لذلك فأن التلقيح باللقاح المماثل لنفس العترة المعزولة هو من الاشياء الاساسية التي تقلل من احتمالية الاصابة بالفايروس والتقليل من طرحه من قبل القطعان الملقحة به وبالتالي الحد من انتشاره وهذه احدى الاهداف الاساسية المستحصلة من التلقيح ضد المرض(٣٠). كما ان استعمال هذا اللقاح في العراق جاء بعد ان تم استعمال لقاح من نفس العترة في بعض دول الشرق الاوسط (٢٥). ان عملية التلقيح ضرورية جدا لان القطعان غير الملقحة تزداد فيها اعداد الفايروسات المتكاثرة وتطرح بالتالي كميات كبيرة من الفايروس والتي يمكن ان تصيب اعداد اكثر من الدواجن(17). ان نتائج المجاميع الملقحة بلقاح الانفلونزا من شركة انترفيت بينت في عمر ١٨ يوم ان جميع المجاميع الملقحة قد اظهرت زيادة معنوية واضحة ($p< 0.05$) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة وان اعلى معدل للأضداد كان في المجموعة الثانية اما في عمر ٢٥ يوم يلاحظ ايضا زيادة معنوية مهمة ($p< 0.05$) بين المجاميع الملقحة وبين مجموعة السيطرة وكان اعلى معدل للأجسام المضادة في المجموعة الثانية والمجموعة الرابعة . في عمر ٣٢ يوم و٤٠ يوم استمر معدل الاضداد بالارتفاع حيث تبين النتائج ان هنالك فروق معنوية بالمقارنة مع مجموعة السيطرة .

ان ارتفاع معيار الاضداد كان تدريجيا مع كل اللقاحات ووصل هذا المعيار الى اعلى مستوى له عند عمر ٤٠ يوم بالنسبة للمجاميع الملقحة بجرعتين من لقاح انفلونزا الطيور (المجموعة الثانية والمجموعة الرابعة) وفي عمر ٣٢ يوم بالنسبة لباقي المجاميع الملقحة بجرعة واحدة فقط وذلك لان فترة تكون المناعة الكفؤة تختلف بالاعتماد على عدد الجرع المعطاة وعمر الطيور ووقت التلقيح وكمية المستضد في الجرعة اللقاحية الواحدة (19.).ان نتائج المجاميع الملقحة بلقاح الانفلونزا من شركة ميريال في عمر ١٨ يوم اظهرت ان هنالك زيادة معنوية ($p< 0.05$) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة وقد اظهرت المجموعة الثانية اعلى معدل للأضداد بينما استمرت الزيادة في معدل الاضداد في عمر ٢٥ يوم وايضا اظهرت المجاميع الملقحة فروق معنوية ($p< 0.05$) مهمة بالمقارنة مع مجموعة السيطرة في عمر ٣٢ يوم ، وفي عمر ٤٠ يوم نلاحظ ان هنالك زيادة معنوية ($p< 0.05$) للمجاميع الملقحة بالمقارنة مع مجموعة السيطرة ،حيث تفوقت المجموعة الثانية والمجموعة الرابعة على بقية المجاميع الملقحة، ومن النتائج يتبين ان معدل الاجسام المضادة الناتجة من لقاح الانفلونزا من شركة ميريال اقل من معدل الاضداد الناتجة من لقاح الانفلونزا من شركة انترفيت و ان السبب في اختلاف المستوى المناعي بين اللقاحات يأتي نتيجة لاختلاف القابلية المستضدية لكل اللقاحات وكذلك مكونات كل لقاح مثل نوع العامل المساعد (15,14) فالعامل المساعد يلعب دور مهم في كفاءة اللقاح لتحفيز استجابة مناعية قوية(9) .

اما بالنسبة للقاح الانفلونزا من شركة فاترو فقد بينت نتائج فحص الاليزا ان هنالك زيادة معنوية ($p< 0.05$) مهمة للمجاميع الملقحة بالمقارنة مع مجموعة السيطرة وكان اعلى معدل للأجسام المضادة في المجموعة الثانية اما في عمر ٢٥ يوم فتوجد زيادة معنوية ($p< 0.05$) لكل المجاميع الملقحة بالمقارنة مع مجموعة السيطرة . وفي عمر ٣٢ يوم اظهرت النتائج استمرار ارتفاع معدل الاضداد لكل المجاميع الملقحة وكان اعلى معدل للأضداد في المجموعة الثانية ويليها المجموعة الرابعة ، اما عند عمر ٤٠يوم فأظهرت

جميع المجاميع الملقحة زيادة معنوية ($p< 0.05$) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة .

ان هذه النتائج تتفق مع ما توصل اليه الباحث (٢١) حيث ذكر ان اعلى معدل للأضداد كان في عمر ٥ اسابيع بعد التلقيح بلقاح الانفلونزا بعمر ٥ يوم . ان المجاميع الملقحة بلقاح الانفلونزا الزيتي المنفرد من شركة ايزو اظهرت زيادة معنوية ($p< 0.05$) لجميع المجاميع الملقحة بالمقارنة مع مجموعة السيطرة في عمر ١٨ يوم مع استمرار هذه الزيادة في عمر ٢٥ يوم حيث بلغ اعلى مستوى للأجسام المضادة في المجموعة الثانية .اما في عمر ٣٢ يوم فهنالك زيادة معنوية ($p< 0.05$) لكل المجاميع الملقحة في هذا. في عمر ٤٠ يوم كان اعلى مستوى للأضداد في المجموعة الثانية والمجموعة الرابعة حيث اظهرت كل المجاميع زيادة معنوية ($p< 0.05$) بالمقارنة مع مجموعةالسيطرة. ومن النتائج يتضح ان المجموعة الثانية والمجموعة الرابعة وهي المجاميع الملقحة بجرعتين من لقاح انفلونزا الطيور بعمر ١ يوم وعمر ٧ يوم قد اظهرت معدل للأجسام المضادة اعلى من بقية المجاميع الملقحة بجرعة واحدة بعمر ١ يوم واستمر هذا المعدل بالارتفاع في عمر ٤٠ يوم في المجاميع الملقحة بجرعتين وهذا يتفق مع ما ذكره الباحث (٢٢)، حيث ذكر ان هنالك علاقة ايجابية بين الجرع العالية من اللقاح ومعدل الاضداد كما يتفق مع (٢) الذي ذكر ان فحص الاليزا قد اظهر ان ١٠٠% من الامصال المفحوصة من حقول دجاج البيض الملقح بجرعتين من لقاح H9N2 كانت تحتوي على اضداد اللقاح المستعمل اما الحقول الملقحة بجرعة واحدة فقد كانت نسبة النماذج الموجبة بين (٧-٤١-١٠٠%) .

اما نتائج لقاح الانفلونزا + النيوكاسل الزيتي من شركة ايزو فقد اظهرت زيادة معنوية ($p< 0.05$) للمجاميع الملقحة بالمقارنة مع مجموعة السيطرة بعمر ١٨ يوم ولكن هذه الزيادة كانت اقل من المجاميع المذكورة سابقا ، اما في عمر ٢٥ يوم وعمر ٣٢ يوم فقد كانت الزيادة تدريجية وكانت اعلى نسبة للأجسام المضادة في عمر ٣٢ يوم في المجموعة الثانية ويليها المجموعة الرابعة ، وفي عمر ٤٠ يوم كان هنالك زيادة غير معنوية في المجموعة الثانية والمجموعة الرابعة ، بينما المجموعة الاولى والثالثة و الخامسة فقد اظهرت انخفاض معنوي ($p< 0.05$) ، ومن النتائج يتضح بأن لقاح الانفلونزا الزيتي من شركة انترفيت اعطى معدل لمعيار الاضداد اعلى مقارنة مع بقية اللقاحات ، وهذا يعتمد على نوعية اللقاح ، كفاءته ، نقاوته ، ونسبة الامان فيه حيث ان نوعية اللقاح وشروط تحضيره يجب ان تتوفر في ذلك اللقاح وان تطبق اثناء تحضيره اعتمادا على البلد اوالمنطقة التي يصنع لها اللقاح(٢٦).ان اختيار اللقاح المناسب وبرنامج التلقيح وتداخله مع الحالة المناعية للامراض الاخرى له اهمية كبيرة لضمان الحصول على الوقاية الكافية للسيطرة على الامراض التنفسية(٢) ،حيث نلاحظ ان معدل الاضداد لفايروس الانفلونزا في المجاميع الملقحة باللقاح الحي المضعف لمرض النيوكاسل(ND) والتهاب القصبات المعدي(IB)كان اقل من المجاميع التي لم تلقح باللقاح الحي المضعف لكلا المرضين المذكورين سابقا وبشكل واضح في الاعمار(١٨ يوم) و(٢٥ يوم) مما يشير الى حدوث تداخل سلبي بين اللقاحات .

ان تلقيح الافراخ التي يكون فيها معيار الاضداد منخفض يجب ان يكون في عمر (١ يوم) وذلك لإعطاء حماية مبكرة ضد المرض كما توصي بعض الدراسات بضرورة اعادة التلقيح (٢١) الا ان نسبة الحماية التي يوفرها اللقاح غير ثابتة (٣١) حيث يمكن ان تظهر القطعان الملقحة انخفاض في معيار الاضداد وهذايعود لعدة اسباب قد تؤدي بدورها لفشل عملية التلقيح ومنها نوع اللقاح نفسه او اعطاء جرعة اقل من الجرعة المقررة او الحفظ او التعامل غير الجيد مع اللقاح اوعدم اتباع تعليمات الشركة المصنعة او اخطاء في عملية التلقيح (35 ; 31) .

المصادر العربي

١- جلميران ، رصين علي حسن . دراسة احتمالية تواجد الاصابة بفيروس انفلونزا الطيور من النوع المصلي A في الثورات المرضية عالية الهلاكات في حقول الدجاج . رسالة دبلوم عالي / كلية الطب البيطري / جامعة الموصل .(٢٠٠٩).

٢- حسن ، امين احمد صبار . دراسة وبائية وتشخيصية لمرض انفلونزا الطيور في العراق . رسالة ماجستير / كلية الطب البيطري / جامعة بغداد . (٢٠٠٧).

٣- العطار ، مزاحم ياسين خليل . التحري عن الاجسام المضادة لفيروس انفلونزا الطيور في الدجاج في محافظة نينوى . المجلة العراقية للعلوم البيطرية .(٢٠٠٧) . المجلد ٢١ العدد ١ : ٣٩-٤٤.

٤- النصراوي ، هدى عبد الهادي علي ، البنا ، انطوان صبري ، الخياط ، رمزية محمد حسن ، دراسة عن

الاصابة بفايروس انفلونزا الطيور في الدجاج مجلة القادسية لعلوم الطب البيطري .(٢٠٠٥). المجلد ٤ ، العدد ١ ص ٦-١٤.

5- Adwar , T. and Lukesova , D. (2008). Evaluation of thermostable vaccine against Newcastle disease invillage chicken used in tropics and subtropics agricultural tropicaetsub tropics institute of tropics and subtropic , Czech university of life scinces , republic , 4 (2) : 74 -79.

6- Al-attar my , denial fa , al- baroodisy . detection of antibodies against avian influenza virus inwild pigeons and starlings . journal of animals and veterinary advances .2008.7(4): 448-449.

7- Alexander D. J.(2000) . Areview of avian influenza indifferent bird species . vet . microbial 74: 3-13.

8- Al-nassrawe , H. A.(2002). Study of influenza in human and birds . m.sc. thesis . vet . coll. University of Baghdad .

9- Aucouturier , j.,dupuis , l., and nn. Ganne .(2001).adjuvants designed for veterinary and human vaccines . vaccine 19.(2001). 2666-2672.

10- Bublot m, Pritchard n, Swayne de , selleck p, karaca k , suarwz dl , audonnent j c &mickle tr. Development and use of foul pox vectored vaccines for avian influenza .animals newyork academy sci .2006.1081:193-201.

11- Cardoso , w.m.; gomes , l..p.; romao , , j. m.; salles , r.p.r.; Teixeira , r. s. c; sobral , m. h.n.r. ; camara , s.r.; ; oliveira , w. f.(2006). Antibodies specific to infections bronchitis in broilers in ceara state , brazil . arq . bras . med . vet . zootec., v.58 , n. 3, p.327-332.bozorgh mchrifardln , m. h. andmayahi , m. (2000).comparison of enzyme linked immunosorbent assay and haemagglutination inhibition test for detecting of antibodyies against ND vaccine in broiler chicks . ind .j. anim. Sci , 70: 39-40.

12- Cardoso , w.m.; aguiar – filho , j.l.; room , j.m.; oliveira w. f. ; salles r. p.; Teixeira , r.s. and so bral , m.h.(2006). Interference of infections bursal disease virus on antibody production against Newcastle and infections bronchitis virus .braz . j. poult . sci ., 8:177-182.

13- Chenng , T. K. & poon , L .L.(2007) . Biology of influenza avirus , ann NYA cad sci 1102,1-25.

14- Claasseajtm , Jonas e , sahest : a, farida a, balk f and bouma a.pd-50 experiments demonstrate that avian influenza vaccine used in Indonesia differ greatly importective capacity . an oie /fao / izsve scientific conference , Verona (Italy).2007. 20-22 march, pp:73.

15- Cristalli , a, terreginoct , lovg t h , gilbert j , lubbroth j and capua i. field and laboratory evaluation of avaccinationprogramme against H5N1 in water fowl . an oie /fao /izsve scientific conference , Verona (Italy) . 20-22 march .2007.pp:74.

16- De herdt , , p.; ducatteel , a. r.; vyttebroke , a. e.; sneep , a. and torbeynes , r.(2001). Infecttions bronchitis serology in broiler and layer breeder : correlation antibody titer and performance in vaccinated flock , avian disease , 45 .(3) 312-61.

17- Ellis t m, hustas l. Mackenzie j s and Watson I m. rapid detection of group specific influenza avirus antigen [avian influenza ; fowl plague] . Australian veterinary journal .1988; 65(11) : 357-358.

18- Hadipour , m.m.; habibi , g.h.; golchin , p.; hadipourfard , m. r., and shayanpour , n.(2011b). the role of avian influenza , Newcastle disease and infections bronchitis viruses during the respiratory disease out break in commercial broiler farms of iran . int . j. ani .vet . adva., 3:69-72.

19- Jansen , t. ; hofmans , m.p.; theelen , m. j.; manders , f. and schijns , v.e.(2006). Structure and oil type –based efficacy of emulsion adjuvants. Vaccine 24 (26): 5400-5405.

20- Jin m , wwang g, zhang r, zhao s, li h,tan y, and chenh.development of enzyme – linked immunosorbet assay with nucleoprotein as antigen for detection of antibodies to avian influenza virus . avian diseases .2004.48(4) : 870-8.

21- Ka- oud ha , zakia ma &mervet m. kamel . evaluation of immune response in ai vaccinated broiler chickens : effet of biosecurity faults on immune response . international journal of poultry science . 2008.7(4) : 390 -396.

22- Kapczynski, d.r. and king , d. j.(2005). Prptection of chickens against overt clinical disease and determination of viaral shedding following vaccination with commercially available Newcastle disease virus vaccine upon challenge with highly virulent virus from the California

.(2002). Exotic Newcastle disease out break. Vaccine 23 (26) : 3424-33.

23- Lee, c. w.&saif , y. m. (2009). Avian influenza vians comp immunol microbial infect dis 32, 301-310.

24- Nada ,t.&kawaoka , y.(2010). Structure of influenza virus ribonucleo protein complexes and their packaging in to virions . rev medvirol 20, 380-391.

25- Naeem k., siddiq n, ayaz m &jalalee am . avian influenza in Pakistan : out break of low & high pathogenicity avian influenza in Pakistan during 2003-2006.2007 . avian dis 51: 189-193.

26- Oie . avian influenza . manual of diagnostic tests & vaccines for terrestrial animals .http://www. Oieint/ing /norms /mmanual /a summary . htm ? eld11 . oie : paris , france . 2007.

27- Palese , p. &shaw , m. l.(2007). Orthomyxoviidae : the viuses and their replication . in fields virology , pp. 1647-1689. Edited by d. m. knipe& p. m. howley . Philadelphia : lippeincott Williams &wilkins.

28- Roussan , d. a. ; haddad , r. and khawaldeh , g.(2008). Molecular survey of avian respiratory pathogens in commercial broiler chicken flocks in jordan . poult . sci .,87:444-448.

29- Steel R G D and Torrie J H .principles and procedures of statistics 2nd , mc graw- hill company , inc ., london . 1980.

30- Suarez dl . selection of vaccines strains for avian influenza vaccination . proceding of the American college of poultry vetrinarians work shop highly pathogenic avian influenza , H5N1: an evolving global challenge march , 26 , 2006 . lasvegas . Nevada .

31- Swayne , d. e.&kapczynski , d.(2008). Strategies and challenges for eliciting immunity against avian influenza virus in birds . immunol rev 225. 314-331.

32- Swayne de . princeples fore vaccine protection in chicken & domestic water fowl against avian influenza : emphasis on asian H5N1 high pathogencity avian influenza – annals of newyork academy of science .2006. 1801:174-181.

33- Tanbenberger , j. k.&morens , d. m.(2010). Influenza: the once and future pandemic . public health rep125 suppl 3, 16-26.

34- Thomazelli , l. m. ; aranjo, ,J.D.; Ferreira , c.s. ; hurtado , r.; oliverira ; d. b.; ometto , t.; golono , m .; sanfilippo , l. Demetrio , c.; figueiredo , m. l. and duringon ; e. l.(2012). Molecular surveillance of the Newcastle disease virus in domestic and wild birds on the north eastern coast and amazon biome of brazil . Brazilian j. poult . sci .14(1):01-07.

35- Vegad j l. bio security in (poultry diseases influenza virus vaccine with all eight genes from avian viruses .2004.25 : 7379-84.

36- Woo, j. t. and park , b. k.(2008).seroprevalence of low pathogenic avian influenza (H9N2) and associated risk factors in the gyeonggi-do of korea during 2005-2006.j.vet . sci. 9:161-168.

37- Wright , p.f., Neumann , g. , and kawaoka , y.(2007). Orthomyxo viruses . in d. knipe , and p. howley (eds). Fields virology , 5th ed ., pp.1691-1740, Lippincott Williams and wilkines , Philadelphia , Pennsylvania U.S.A.

***Evaluation of efficiency the commercial influenza vaccines used in Iraq by ELISA technique.**

Nafea S .Jasim
College of veterinary
Medicine/ university of Al-Qadisiya
NSJa1965@yahoo.com

ShiemaAbid- Jabber
College of veterinary medicine /
University of Al – Qadisiya
Shiema @yahoo.com

Summary
This study was done to evaluate types of inactivated influenza vaccines in poultry field in Iraq to reduce high incidence outbreaks of disease to minimize high ecomoical losses in broiler and layers . the efficacy of vaccines on immune response was evaluated depending on indirect immune sorbent assay (ELISA) test at (18,25,32,40) days of age in experiment consisting of 800 chicks .
The results revealed high significant titer of immune response in the vaccinated groups comparison with control group , and results showed significant titer of immunity response in subgroups , 2, 4 comparison with other subgroups . the influenza vaccine from intervet company showed immune response more than other vaccines.

.

.