Cairo University
Faculty of Veterinary Medicine
Department of Medicine and Infectious Diseases

Name : **Ahmed Salah Abd El-Karim**
Nationality : Egyptian
Date and place of birth : 1/1/1961
Degree : Master in Veterinary Science
Specialization : Infectious Diseases

Supervisors : **Prof. Dr. Diaa Gamal El-Din Abou El-Hassan**
Professor of Infectious Diseases
Faculty of Veterinary Medicine - Cairo University

Dr. Walid Sayed Ahmed
Ass. Professor of Infectious Diseases
Faculty of Veterinary Medicine - Cairo University

Prof.Dr. Soheir Badr
Chief Researcher
Vet.Serum and Vacc. Res. Institute- Abbassia - Cairo

Title of thesis :

"Comparative Studies on Foot and Mouth Disease Vaccine Containing Different Adjuvants in Sheep"

Abstract :

The present work was carried out to prepare vaccine contains new adjuvant characterized by its long lasting effect and high immunogenicity. For this we prepared three types of inactivated FMD virus vaccines, the first contained Montanide 206, the second contained peanut oil and compared with the third which contains Al(OH)3 gel as adjuvant (commercially used). The three vaccines tested for safety, sterility and potency in Guinea pigs. We prepared four groups of sheep (each of 5 sheep) proved to be free from antibodies against FMD virus. Each type of vaccine inoculated in group of sheep and the 4th group leaved as control. Then the antibodies in each of sheep were measured for 8 months using serum neutralization test and ELISA. The results gave the priority to the vaccine containing Montaniode 206 as adjuvant that gave high and long lasting effect after making challenge test, the results supports using inactivated FMD vaccine containing Montanide 206 as adjuvant.

جامعة القاهرة
كلية الطب البيطرى
قسم الأمراض الباطنة والمعدية

الإسم : **أحمد صلاح عبد الكريم** **الجنسية** : مصرى

تاريخ وجهة الميلاد : ١٩٦١/١/١

الدرجة : ماجستير العلوم الطبية البيطرية

التخصص : أمراض معدية

المشرفون : **أ.د. ضياء جمال الدين أبو الحسن**

أستاذ الأمراض الباطنة والمعدية بكلية الطب البيطرى – جامعة القاهرة

د. وليد سيد أحمد

أستاذ مساعد الأمراض الباطنة والمعدية بكلية الطب البيطرى - جامعة القاهرة

أ.د سهير بدر

رئيس بحوث بمعهد بحوث الأمصال واللقاحات البيطرية بالعباسية

عنوان الرسالة : **" دراسات مقارنة على لقاح الحمى القلاعية بمحفزات مختلفة فى الأغنام "**

المستخلص :

أجريت هذه الدراسة لمحاولة تحضير لقاح لفيروس مرض الحمى القلاعية يحتوي على محفز يتميز بالقوة المناعية وطول فترة المناعة، وعلى ذلك تم تحضير ثلاثة لقاحات يحتوي الأول على زيت المونتانيد ٢٠٦ والثاني على زيت الفول السوداني كمحفزات مناعية ومقارنتهما باللقاح الثالث المحتوي على الألومنيوم هيدروكسيد جل والمتداول حالياً كلقاح للحمى القلاعية. وتم إختبار فاعلية اللقاحات الثلاثة عن طريق إختبار الحماية في خنازير غينيا كذلك تم إجراء إختبار السلامة والنقاوة. و تم إستخدام أربعة مجموعات من الخراف الخالية من الأجسام المناعية للفيروس (كل مجموعة تحتوي على خمسة خراف) وحقن اللقاحات الثلاثة بها (لقاح لكل مجموعة) وتركت المجموعة الرابعة كحكم للتجربة. تم متابعة الأجسام المناعية النوعية لفيروس الحمى القلاعية الناتجة عن حقن اللقاحات الثلاثة في الأغنام لمدة ثمانية أشهر وذلك بإستخدام إختباري المصل المتعادل والإليزا وقد أكدت النتائج أفضلية إستخدام زيت المونتانيد ٢٠٦ كمحفز مناعي عند تحضير اللقاح الميت للحمى القلاعية. وبإجراء إختبار التحدي على الخراف التي تم حقنها باللقاح المحتوي على زيت المونتانيد ٢٠٦ أكدت التجربة فاعلية اللقاح المحتوي على المحفز المناعي المذكور من حيث القوة.

List of Contents

		Page
1. INTRODUCTION	.....	1
2. LITERATURE	.....	4
2.1. History of Foot and Mouth Disease (FMD)	.....	4
2.2. Foot and Mouth Disease among sheep	.....	4
2.3. Types and subtypes of FMD virus isolated from sheep	.....	6
2.4. Control of FMD	.....	7
2.5. Foot and Mouth Diseases Vaccine	.....	9
2.6. Types of inactivated FMD virus vaccine according to types of adjuvants	.....	10
2.7. Evaluation of FMD vaccines using SNT and ELISA	.....	16
3. MATERIALS AND METHODS	.....	24
3.1. Materials	.....	24
3.1.1. Animals	.....	24
3.1.2. Samples	.....	25
3.1.3. Viruses	.....	25
3.1.4. Tissue culture	.....	26
3.1.5. Cell culture media and their requirements	.....	26
3.1.6. Adjuvants	.....	28
3.1.7. Materials used for virus inactivation	.....	28
3.1.8. Materials used for SNT	.....	29
3.1.9. Materials used for ELISA	.....	29
3.2. Methods	.....	32
3.2.1. Collection of samples	.....	32
3.2.2. Titration of FMD virus using tissue culture	.....	32
3.2.3. Virus inactivation	.....	32

page

3.2.4. Preparation of inactivated FMD vaccine adjuvanted with aluminium hydroxide gel 33
3.2.5. Preparation of inactivated FMD vaccine with double oil emulsion 33
3.2.6. Preparation of inactivated FMD vaccine with single oil emulsion 34
3.2.7. Testing of vaccine for sterility, safety and potency 34
3.2.8. Serological Assays 35
3.2.9. Statistical Analysis 39

4. EXPERIMENT AND RESULTS. 40

4.1. Screening of the sheep used in vaccine evaluation 40

4.2. Preparation of inactivated FMD vaccine using Aluminium hydroxide gel Al(OH)3 40

4.3. Preparation of inactivated FMD vaccine using Montanide ISA 206 41

4.4. Preparation of inactivated FMD vaccine using peanut oil 42

Experiment No. (1):
Vaccination of sheep with inactivated FMD vaccine adjuvanted with $Al(OH)_3$ gel 45

Experiment No. (2)
Vaccination of sheep with inactivated FMD vaccine adjuvanted with ISA-206 49

Experiment No. (3)
Vaccination of sheep with inactivated FMD vaccine adjuvanted with peanut oil 53

Experiment No. (4)
Comparative evaluation of the immunogenicity of the prepared FMD inactivated experimental vaccines batches 57

Experiment No. (5)
Challenge test for evaluation of prepared vaccine in sheep 62

page

5. DISCUSSION. 66
6. SUMMARY. 73
7. REFERENCES. 75
ARABIC SUMMARY.

List of Abbreviation

$Al(OH)_3$ Gel	:	*Aluminium hydroxide Gel*
BEI	:	*Binary ethyleneimine*
BHK	:	*Baby hamster kidney cells*
BTT	:	*Bovine tongue tissue*
CFT	:	*Complement fixation test*
DOE	:	*Double oil emulsion*
ELISA	:	*Enzyme linked immunosorbent assay*
FAO	:	*Food and Agriculture Organization*
FMD	:	*Foot and Mouth Disease*
FMDV	:	*Foot and Mouth Disease virus*
GP	:	*Guinea pigs*
MEM	:	*Minimum essential medium*
MLD_{50}	:	*Minimal Lethal Dose fifty*
OD	:	*Optical density*
OIE	:	*Office International des Epizootic*
OPD	:	*Orthophenyl diamine*
PBS	:	*Phosphate buffer saline*
PBS-BAL	:	*Phosphate buffer saline – bovine albumin*
PBS-T	:	*Phosphate buffer saline – tween*
PD_{50}	:	*Protective dose fifty*
PEG	:	*Polyethylene glycol*
SAT	:	*South Africa Territories*
SNT	:	*Serum neutralization test*
$TCID_{50}$	:	*Tissue culture infective dose fifty*
VIA	:	*Virus infection associated antigen*
VP1	:	*Virus protein1*