

وليد

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. Diaan 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.

والحمد لله

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

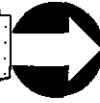
أ.د. سهير بدر

رئيس بحوث بمعهد بحوث الأمصال واللقاحات البيطرية بالعباسية

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

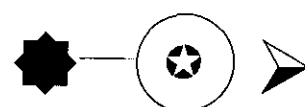
المستخلص

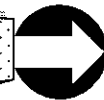
أجريت هذه الدراسة لمحاولة تحضير لقاح لفيروس مرض الحمى القلاعية يحتوي على محفز يتميز بالقوة المناعية وطول فترة المناعة، وعلى ذلك تم تحضير ثلاثة لقاحات يحتوي الأول على زيت المونتانيد ٢٠٦ والثاني على زيت الفول السوداني كمحفزات مناعية ومقارنتهما باللقاح الثالث المحتوي على الألومنيوم هيدروكسيد جل والمتداول حاليا كلقاح للحمى القلاعية. وتم اختبار فاعلية اللقاحات الثلاثة عن طريق اختبار الحماية فى خنازير غينيا كذلك تم إجراء اختبار السلامة والنقاوة. و تم استخدام 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 فى الأغنام لمدة ثمانية أشهر وذلك باستخدام اختباري المصل المتعادل والإليزا وقد أكدت النتائج أفضلية استخدام زيت المونتانيد ٢٠٦ كمحفز مناعي عند تحضير اللقاح الميت للحمى القلاعية. وبإجراء اختبار التحدي على الخراف التي تم حقنها باللقاح المحتوي على زيت المونتانيد ٢٠٦ أكدت التجربة فاعلية اللقاح المحتوي على المحفز المناعي المذكور من حيث القوة.



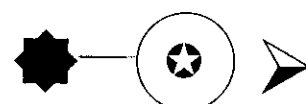
List of Contents

	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

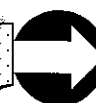




	page
3.2.4. Preparation of inactivated FMD vaccine adjuvanted with aluminium hydroxide gel	33
3.2.5. Preparation of inactivated FMD vaccine with double oil emulsion	33
3.2.6. Preparation of inactivated FMD vaccine with single oil emulsion	34
3.2.7. Testing of vaccine for sterility, safety and potency	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

