

## *Summary*

Foot-and-mouth disease is a highly contagious picornaviral disease affecting domestic and wild cloven- hoofed animals.

### **1-Experiment (I):**

In this experiment we study the effect of several factors like, species, the type of used vaccine, site of collecting samples and its level of biosecurity on efficiency of inactivated FMD vaccine for protection of animals against FMD in Egypt. By collecting serum samples from animals before vaccination, 21 and 40 days post vaccination from four governorates, examined by both methods ELISA & SNT and the results show that antibody titer increased significantly with age.

In this study the best type of vaccine which give the highest antibody titers are aftovaxpur vaccines Merial (pentavalent and hexavalent vaccine), followed by polyvalent oil adjuvant vaccine Abbassia and the least antibody titer obtained from triaphthovac vaccine MEVAC. This result confirmed by the occurrence of post vaccination infection as 3.17% for Aftovaxpur hexavalent vaccine Merial, 15.57 % Trivalent inactivated oil adjuvant vaccine “Abbassia” and 46.67% Triaphthovac vaccine MEVAC, while Aftovaxpur pentavalent vaccine Merial didn't cause any infection .

### **2-Experiment (II):**

In this experiment we study the effect of interval change of FMD vaccination from every (4 months) to (6 months) on degree of immunity of farm animals. By collecting serum samples from farm animals (4), (4.5) months post vaccination, examined by both method ELISA & SNT. From the results indicated that all titers after (4.5) months of vaccination

are lower than titers after (4) months of vaccination as these results confirmed that the time interval between vaccination every (4) months is more protective than 6 months as the antibody titer is begin to decrease after (4) months till completely disappear after (6) months of vaccination.

### **3-Experiment (III):**

Investigation of the prevalence of FMDV nonstructural protein 3ABC antibodies to differentiate between vaccinated and infected animals by collecting 30 serum samples vaccinated by trivalent oil adjuvant vaccine (Abbassia) 10 days post vaccination, the samples tested by both SNT & ELISA to show its antibody titer, then followed by 3ABC FMDV'CHECK test , divided the animals into positive NSP and negative, the vaccinated animals should be negative one, the result documented that 56.67% were positive and 43.33% were negative.

### **4-Experiment (IV):**

Show the results of mean antibody titer of both dams and their offspring's before vaccination by trivalent oil adjuvant vaccine (Abbassia), 21 days and 40 days post vaccination-by both methods SNT & ELISA. From the tables appear that FMDV specific antibodies appeared since the 1<sup>st</sup> week post vaccination in all samples reached the protection level in the 3<sup>rd</sup> week post vaccination and reached the higher protective level at 40 days post vaccination.

### **5-Experiment (V):**

Detection and identification of the isolated FMDV by serotyping ELISA KITS "IZSLER Method" and confirmation by RT-PCR and sequencing of some of them .The results show that clinically infected cattle in Gharbia governorate samples infected by serotype (O).

Four clinical samples collected from clinically infected cattle and buffaloes in Kalyoubia governorate infected with serotype (O), confirmed by RT-PCR and generated the VP1 coding sequence of FMDV serotype which revealed that this isolate is (98%) resemble in nucleotides sequence to **Foot-and-mouth disease virus O isolate o5india iso34, complete genome.**

Nine clinical samples collected from clinically infected cattle and buffaloes in Menofia governorate, seven samples were positive to FMDV infection, which serotyped as: five samples were serotype (O) and two were (SAT-2), confirmed, typed by RT-PCR and sequenced which revealed that this isolate is (99%) resemble in nucleotides sequence to **Foot-and-mouth disease virus - type SAT- 2 isolate Egy-Kal-18-2014 VP1 gene, partial cds.**

Out of twenty three samples collected from clinically infected cattle and buffaloes in Giza governorate sixteen samples were positive to FMDV infection, which eight samples from them serotyped as SAT-2 and seven were serotype (O) and one was serotype (A), confirmed, typed by RT-PCR and sequenced which revealed that this (SAT-2) isolate is (94%) resemble in nucleotides sequence to **Foot-and-mouth disease virus - type SAT 2 isolate EGY/7/2012 capsid protein gene, partial cds** and the isolate (O) is resemble in nucleotides sequence by (95%) to **Foot-and-mouth disease virus - type O isolate O/3/Giza/EGY/2014 structural protein VP1 gene** and the isolate (A) is resemble in nucleotides sequence by (99 %) to **Foot-and-mouth disease virus - type A strain A/Cairo/EGY/2013 structural protein VP1 gene, partial cds.**

Out of four clinical infected cattle unvaccinated samples collected from Sharquia governorate three were positive to FMDV infection,

confirmed , typed by RT-PCR and sequenced which revealed that this isolate was serotype (A) and is resemble in nucleotides sequence by (97%) to **Foot-and-mouth disease virus - type A isolate 4234 poly protein gene, partial cds** and the second sample is serotype (O) also confirmed , typed by RT-PCR and sequenced which revealed that this isolate are resemble in nucleotides sequence by (96%) to **Foot-and-mouth disease virus –type O isolate O/Sharquia/EGY/2014 structural protein VP1 gene** and the third sample was serotype (O) is confirmed , typed by RT-PCR and sequenced, which revealed that this isolate is resemble in nucleotides sequence by (97%) to **Foot-and-mouth disease virus - type O isolate O/Sharquia/EGY/2014 structural protein VP1 gene.**

## الملخص العربي

يعتبر مرض الحمى القلاعية من أهم الأمراض المعدية بل شديدة العدوى التي تصنف فيروlogيا تحت اسم عائلة البيكورونا فيروس، وهو مرض يصيب الحيوانات مشقوقة الظفر المستأنسة والبرية.

في هذه التجربة نقوم بدراسة تأثير عدة عوامل: مثل إختلاف الاعمار ، نوع الحيوان ،مكان أخذ العينات ونوع اللقاح المستخدم على كفاءة لقاح الحمى القلاعية المثبط لحماية الحيوانات ضد مرض الحمى القلاعية في مصر . وذلك من خلال أخذ عينات مصل الدم من الحيوانات قبل التحصين وبعد التحصين بواحد و عشرين يوم وأيضا بعد أربعين يوم ، وقد تم فحص هذه العينات بإختباري إنزيم فحص مرتبط بالمناعة (ELISA) و إختبار تحديد المصل المتعادل (SNT) .

### أولا: التجربة الأولى:-

وقد أوضحت النتائج أن معدل الأجسام المناعية ضد المرض يزيد بشكل ملحوظ مع التقدم في السن كما تعزى هذه النتائج الى أن الأعمار الكبيرة لديها جهاز مناعي ناضج وكامل ، أو من الممكن أن تكون هذه الحيوانات قد تعرضت للإصابة بمرض الحمى القلاعية أو التحصين من قبل.

أما بالنسبة لتأثير عامل المحافظة المأخوذ منها العينات فظهر على النحو التالي : حيث تم تجميع عدد 364 عينة مصل الدم من أربع محافظات مختلفة ، من بينهم 109 عينة من محافظة القليوبية ، عدد 90 عينة من محافظة الشرقية ، عدد 100 عينة من محافظة الأسكندرية وعدد 65 عينة من محافظة المنوفية ، وقد أشارت النتائج الى أن أعلى مستوى للأجسام المناعية كانت في محافظة الأسكندرية وذلك يرجع الى أن تلك المزرعة من مزارع الجيش المغلقة وأيضا المزرعة بالكامل قائمة على تربية الجاموس فقط والتي تعتبر من أكثر المجترات مقاومة للمرض وأقل عرضة للإصابة من الأبقار. أما بالنسبة للأغنام والمجترات الصغيرة عموما لا يوجد نظام معين للتحصين إلا على حدود البلاد وتحصن أيضا ضد العترة الفيروسية (O) فقط كما أنها قد تكون حاملة للمرض ولكن لا يظهر عليها أعراض لذلك تعتبر بمثابة مصدر جيد لإنتقال المرض .

أما بالنسبة لتأثير نوع اللقاح المستخدم للتحصين يعتبر أفضل نوع لقاح ، هو الذي يعطي أعلى معدل للأجسام المناعية، يعتبر لقاح أفتوفاكسبور (Aftovaxpur) الخماسي و

السداسي ( التابع لشركة ميريال Merial هو الذى حقق أعلى معدل للأجسام المناعية ، ويأتى فى المرتبة التالية لقاح العباسية الثلاثى العترة ، وأخيرا أدنى عيار للأجسام المناعية هو لقاح Triaphthovac ثلاثى العترة التابع لشركة MEVAC و هذه النتائج قد تأكدت من خلال حدوث الإصابة للحيوانات بعد التحصين، حيث وصلت نسبة الإصابة بعد استخدام لقاح Aftovaxpur السداسي Merial الى ( 3.17 % )، أما بالنسبة للقاح المثبط ثلاثى العترة " العباسية " نسبة الإصابة وصلت ( 15.57 %) أما اللقاح Tri- apthovac MEVac تسبب فى نسبة إصابة ( 46.67 %) ، ولم تسجل أى نسبة إصابه عند إستخدام اللقاح الخماسي التابع لشركه ميريال Aftovaxpur Merial.

### ثانيا: التجربة الثانية:-

في هذه التجربة ندرس تأثير تغيير الفاصل الزمني لتحصين الحمى القلاعية من كل أربعة أشهر الى ستة أشهر على درجة الصد المناعى لدى حيوانات المزرعة . من خلال أخذ عينات مصل الدم من حيوانات المزرعة بعد أربعة أشهر وبعد أربعة أشهر ونصف من التحصين وفحصها بطريقتى انزيم فحص مرتبط المناعة (ELISA) و إختبار تحديد المصل المتعادل (SNT).

وقد أوضحت النتائج أن معدل الأجسام المناعية بعد أربعة أشهر ونصف من التحصين أقل من مثلتها بعد أربعة أشهر من التحصين كما أكدت هذه النتائج أن الفاصل الزمني بين التحصين كل أربعة أشهر أفضل من كل ستة أشهر حيث يبدأ معدل المستوى المناعى فى الإنخفاض بعد أربعة أشهر حتى تختفي تماما بعد ستة أشهر من التحصين مما يعرض الحيوانات الى زيادة معدل الإصابة وخاصة فى الدول المستوطن فيها المرض مثل جمهورية مصر العربية .

### ثالثا: التجربة الثالثة:-

فى هذه التجربة تم استخدام الأجسام المناعية ضد البروتين الغير تركيبى للفيروس ABC3 فى التفريق بين الحيوانات المحصنة و المصابة عن طريق أخذ (30) عينة مصل الدم من الحيوانات فى محافظة القليوبية والمحصنة باللقاح الثلاثى ( العباسية ) ، 15 عينة منهم كانت لحيوانات مصابة وظاهر عليها أعراض ، وباقي 15 عينة من الحيوانات الحاملة للمرض علما بأن هذه الحيوانات لم تظهر عليها أي أعراض ، وقد تم استخدام ABC 3FMDV 'CHECK test للتمييز بين الحيوانات المصابة والمحصنة و تقسيم الحيوانات إلى إيجابية وسلبية لذلك البروتين، يجب أن تكون الحيوانات المحصنة سلبية لهذا البروتين ، لأنه

موجود فقط في الحيوانات المصابة كما أوضحت النتائج أن من إجمالي الحيوانات (56.67 %) منهم إيجابية مصابة و (43.33 %) كانت سلبية محصنة.

#### رابعا : التجربة الرابعة:-

بعرض النتائج لمتوسط الأجسام المناعية لكل من الأمهات وولاداتهم قبل التحصين بلقاح ثلاثى العترة ( العباسية ) وبعد واحد وعشرين يوم وأربعين يوم من التحصين فى محافظة القليوبية و المنوفية بإختبارى SNT & ELISA . وقد أوضحت النتائج أن معدل الأجسام المناعية فى المزرعة التى جمعت منها العينات فى محافظة القليوبية أعلى من المستوى المناعى لقربنتها من محافظة المنوفية . وأوضحت النتائج أن المستوى المناعى الوقائى يبدأ فى الأسبوع الثالث وتصل الى أعلى معدل لها بعد أربعين يوم من التحصين.

#### خامسا: التجربة الخامسة:-

فى هذه التجربة تم التعرف والتصنيف للمعزولات الفيروسيه من أنسجة العينات المصابة بفيروس الحمى القلاعية باستخدام "IZSLER ELISA FMDV antigen detection kits .

وقد أجرى إختبار تفاعل البلمرة المتسلسل (RT-PCR) كإختبار تأكيدى لبعض العينات. وأظهرت النتائج أن الأبقار المصابة فى محافظة الغربية مصابه بالعترة الفيروسيه (O) لمرض الحمى القلاعية .وكذا خضعت أربع عينات جمعت من الأبقار والجاموس المصابين فى محافظة القليوبية للتجربه و أوضحت النتائج أن العترة المعزوله كانت (O) بكل من إختبارى FMD antigen detection & RT-PCR وقد تم تصنيف العترة المعزوله والتى أوضحت أنها تتماثل فى تسلسل النيوكليوتيدات لفيروس المرض بنسبة (98 %) **Foot-and-mouth isolate 05 india iso34, complete genome disease virus O** .

ويتجمع وفحص تسع عينات من الأبقار والجاموس المصابين فى محافظة المنوفية: أثبتت النتائج أن سبعة عينات منهم كانت إيجابية للإصابة بفيروس الحمى القلاعية، خمسة منهم كانوا مصابين بالعترة الفيروسيه (O) وعينتين تم تصنيفهم (SAT-2) ، وتم تأكيد النتائج بواسطة RT-PCR وبعد ذلك تم التصنيف الذى كشف أن هذه المعزولة تشابه بنسبة (99%) فى تسلسل النيوكليوتيدات لفيروس المرض مع **SAT 2 isolate Egy-Kal-18-2014 VP1 gene, partial cds.**

بتجميع ثلاث وعشرون عينة من حيوانات مصابة من الأبقار والجاموس فى محافظة الجيزة ، ستة عشر عينات كانت إيجابية للإصابة بالمرض، ثمانى عينات منهم تم تصنيفهم

للعنزة الفيروسيية (SAT-2) ، وسبعة منهم تم تصنيفهم للعنزة الفيروسيية (O) وعينة واحدة منهم تم تصنيفها للعنزة الفيروسيية (A)، وتم تأكيد النتائج باستخدام RT-PCR و التي برهنت أن المعزولة (SAT-2) تشابة بنسبة (94%) في تسلسل النيوكليوتيدات لفيروس مرض الحمى القلاعية مع **SAT 2 isolate EGY/7/2012 capsid protein gene, partial cds**، أما المعزولة (O) تشبه في تسلسل النيوكليوتيدات بنسبة (95%) مع فيروس مرض الحمى القلاعية : **type O isolate O/3/Giza/EGY/2014 structural protein VP1 gene**، والمعزولة (A) تشبه في تسلسل النيوكليوتيدات بنسبة (99%) لفيروس الحمى القلاعية

:

**Strain A /Cairo /EGY / 2013 structural protein VP1 gene, partial cds.**

من إجمالي أربعة عينات تم جمعها من الأبقار المصابة من محافظة الشرقية ، ثلاث عينات منها كانت إيجابية للإصابة بفيروس الحمى القلاعية ، أكدت النتائج بواسطة RT-PCR أن هذه المعزولة تم تصنيفها انها (A) والتي تشبه العنزة الفيروسيية في التسلسل النيوكليوتيدى بنسبة (97%) مع

**Foot-and-mouth disease virus - type A isolate 4234 polyprotein gene, partial cds**. والمعزولة الثانية تم تصنيفها أنها (O) والتي تشبه العنزة الفيروسيية في التسلسل بنسبة (96%) **Foot-and-mouth disease virus - type O isolate O** /Sharquia /EGY /2014 structural protein VP1 gene. أما المعزولة الثالثة تم تصنيفها انها (O) والتي تشبه العنزة الفيروسيية في التسلسل النيوكليوتيدى بنسبة (97%) **Foot-and-mouth disease virus - type O isolate O/Sharquia/EGY/2014 structural protein VP1 gene**.