جامعة الدول العربية
المنظمة العربية للتنمية الزراعية
League of Arab States
Arab Organization For Agricultural Development

# دراسة التقانات الحديثة المستخدمة على المستوى العالمي فى مجال إنتاج اللقاحات البيطرية وإمكانات إستخدامها فى الدول العربية

الخرطوم

أغسطس ( آب) 1997

جمهورية السودان - الخرطوم -العمارات شارع 7 Sudan - Khartoum - Al - Amarat St. No. 7 الرمز البريدي : Postal Code: 11111 ص.ب : 474 P.O.Box: 474
تلكس : Telex: 22554 AOAD SD برقياً : اواد الخرطوم Cable: AOAD Khartoum - فاكس : Fax: (249-11-) 471402 تلفونات : Telephones: (249-11-) 472176 - 472183

# تقديم

# تقديم

من المنظور العددى ، يتميز الوطن العربى بثروة حيوانية لا بأس بها ، تقدر فى عام 1995 بنحو 52 مليون رأس من الأبقار والجاموس ، ونحو 220 مليون رأس من الاغنام والماعز ، ونحو 12 مليون رأس من الجمال ، كما أن هذه الاعداد تتزايد بمعدلات للنمو تقترب فى حوالى 3.5٪ سنوياً ، وذلك خلال الفترة 1990-1995 وهو ما يتجاوز بقليل معدلات النمو السكانى فى الوطن العربى ، ومع ذلك لايزال يعانى هذا الوطن من فجوة غذائية فى اللحوم الحمراء تأخذ فى التزايد عاماً بعد آخر خلال الحقبة الأخيرة ، حيث ارتفعت هذه الفجوة من حوالى 388 ألف طن عام 1990 إلى حوالى 566 ألف طن عام 1995 ، وذلك بمعدل للنمو السنوى يقدر بنحو 7.8٪ . ومن ثم فقد لوحظ خلال تلك الفترة التراجع النسبى لمعدل الاكتفاء الذاتى العربي من اللحوم الحمراء من حوالى 85.5٪ إلى حوالى 84.9٪ .

أمام هذا التناقض بين معدلات نمو اعداد الثروة الحيوانيه ومعدلات التزايد فى الفجوة العربية من اللحوم الحمراء ، تظهر خطورة الوضع المتدنى لمعدلات الكفاءة ومستويات الانتاجية الحيوانية للقطيع العربى بالمقارنة بالمعدلات النمطية والمستويات العالمية . ويبرز من بين الأسباب والعوامل التى يرجع إليها ذلك التدنى ما يتعلق بالقصور الملحوظ فى مجالات الرعاية البيطرية والصحة الحيوانية ، ومايتربط بها من اجراءات الوقاية والتحصين والعلاج ، إضافة إلى ضعف التراكيب الوراثية لسلالات الثروة الحيوانية المحلية . إن مجرد تحسن متوسط انتاجية الرأس من الابقار والجاموس والضأن فى الوطن العربى ، وبخاصة فى الدول التى تتركز بها الثروة الحيوانية ، لتصل إلى المتوسط العام العالمى ، يمكن أن يحقق أو يتجاوز مستوى الاكتفاء الذاتى الكامل من اللحوم الحمراء على المستوى العربى العام .

وفى هذا الاطار يتبلور اهتمام المنظمة العربية للتنمية الزراعية بالعمل على تطوير الانتاج العربى من اللحوم الحمراء ، وذلك من خلال العديد من المداخل والمعالجات ، التى يأتى فى مقدمتها الاهتمام بالرعاية البيطرية الوقائية والعلاجية للقطيع الحيوانى العربى

للقضاء على العديد من المشاكل الوبائية والمرضية التى يعانى منها ، سعياً نحو تحقيق أنسب الظروف التى يتحقق فى ظلها أفضل مستويات الانتاجية للرأس من هذا القطيع .

ويتركز هذا الاهتمام على محاور ثلاثه ، تتمثل فى توسيع نطاق وطاقة الانتاج من اللقاحات البيطرية لتوفيرها بالقدر الكافى لمختلف الأقطار العربية ، وتطبيق أحدث وأنسب التقانات المستخدمة على المستوى العالمى فى مجال انتاج اللقاحات البيطرية فى الوطن العربى ، وتعزيز مجالات التعاون والتنسيق بين الأقطار العربية لقيام صناعة حديثة ومتطوره لانتاج اللقاحات البيطرية ، تعتمد على الاستفادة من الخبرات والممارسات الرائدة عربياً فى هذا المجال ، وتتمتع بمزايا وفورات السعه والانتاج والتسويق على نطاق كبير دونما ازدواجية أو تضارب فيما بين الأقطار المختلفه .

ومن هذه المنطلقات يأتى هذا العمل الخاص بدراسة التقانات الحديثة المستخدمة على المستوى العالمى فى مجال انتاج اللقاحات البيطرية وامكانات استخدامها فى الدول العربية ، مؤكداً لاهتمامات المنظمة ومرتكزاتها التنموية القائمة على التحديث التقنى ، والتنسيق والتكامل العربى ، لتحقيق الاستغلال الأمثل للموارد والثروات العربية التى تأتى فى مقدمتها موارد الثروة الحيوانية . والمنظمة إذ تأمل أن تلقى هذه الدراسة من الاهتمام ما يتناسب مع أهمية موضوعها وتوصياتها ، فإنه لايسعها إلا أن تتقدم بالشكر والتقدير لمن عكفوا على إعدادها من خبراء المنظمة ، أو من الخبراء المحليين فى الاقطار العربية ، لما بذلوه من جهد ، وما انجزوه من عمل مقدر يمثل خطوة متقدمه على طريق التنمية والرخاء والازدهار .

والله ولى التوفيق .

**المدير العام**

**الدكتور يحيى بكور**

# المحتويات

# المحتويات


| | رقم الصفحة |
|---|---|
| تقديم | أ |
| المحتويات | ج |
| موجز الدراسة | 1 |
| مقدمة | 5 |
| الباب الأول : التقانات الشائعة الاستخدام فى إنتاج اللقاحات البيطرية على المستوى العالمى | |
| 1-1 بذور اللقاحات البكتيرية | 7 |
| 1-1-1 تعريف | 7 |
| 1-1-2 أنواع بذور اللقاحات البكتيرية | 7 |
| 1-1-3 تقانات إنتاج بذور اللقاحات البكتيرية | 8 |
| 1-1-4 إختبارات ضبط الجودة على بذور اللقاحات البكتيرية | 9 |
| 1-2 بذور اللقاحات الفيروسية | 9 |
| 1-2-1 الخصائص الحيوية لبذور اللقاحات الفيروسية | 9 |
| 1-2-2 حفظ بذور اللقاحات الفيروسية | 10 |
| 1-2-3 تقانات إنتاج وزرع بذور اللقاحات الفيروسية | 10 |
| 1-2-4 الفحوصات النوعية على بذور اللقاحات الفيروسية | 11 |
| 1-3 تقانات انتاج اللقاحات البكتيرية | 13 |
| 1-3-1 طريقة التوزيع فى الدوارق الزجاجية | 14 |
| 1-3-2 تقنية المخمرات (المفاعلات الحيوية) | 15 |
| 1-3-3 نظم التشغيل فى المخمرات | 16 |
| 1-3-4 المعاملات التى تلى زراعة اللقاحات البكتيرية | 18 |
| 1-4 تقانات إنتاج اللقاحات الفيروسية | 22 |

1-4-1 الوسط المزرعى 22
1-4-2 الخطوات العملية لانتاج اللقاحات الفيروسية 25
1-5 لقاحات الاوليات الطفيلية والريكتسيه 29
1-5-1 لقاحات حمى القراد 30
1-5-2 لقاحات داء الثيليريا 31
1-6 الطرق المتبعة فى انتاج لقاحات التحصين ضد الطفيليات متعددة الخلايا 32
1-6-1 التحصين باسلوب الاصابة المتحكم فيها 33
1-6-2 التحصين بواسطة الطفيليات الميتة ومستخلصات الطفيليات 33
1-6-3 التحصين بواسطة الطفيليات الحية الموهنة 34

الباب الثانى : الاتجاهات العالمية لاستخدام التقانات الحديثة والحيوية فى إنتاج اللقاحات البيطرية
2-1 تمهيد 36
2-2 أسباب ومبررات إنتاج لقاحات جديدة باستخدام التقانات الحديثة والحيوية 37
2-3 اللقاحات الجزيئية البكتيرية (مادون الخلية) المنتجة بالطرق الفيزيائية والكيميائية 38
2-3-1 تقنيات تكسير الخلايا البكتيرية 38
2-3-2 تقنيات فصل وعزل جزيئيات البكتيريا المختلفة 40
2-3-3 تحديد درجة نقاء جزيئيات الخلية البكتيرية المستخلصة 42
2-4 اللقاحات الجزيئية البكتيرية المنتجة بالتقانات الحيوية 42
2-5 لقاحات الطفرات البكتيرية محذوفة الجينات 43
2-6 اللقاحات البكتيرية المحمولة 44

2-7 إستخدام علوم الوراثة والهندسة الوراثية فى الكشف عن الفيروسات 44
2-8 اللقاحات الفيروسية الجزيئية المنتجة بالطرق الكيميائية والفيزيائية 45
2-9 اللقاحات الفيروسية الجزيئية المنتجة بالتقانات الحيوية 46
2-10 لقاحات البيتيدات المصنعة 47
2-11 اللقاحات الفيروسية ذات الصفات الوراثية المحذوفة 48
2-12 اللقاحات المحمولة 49
2-12-1 الاسس العامة لاختيار الحوامل 49
2-12-2 أنواع الحوامل 49
2-12-3 طريقة أنشاء الحامل 52
2-13 إنتاج اللقاحات المحمولة بإستخدام حوامل غير قادرة على التناسخ 53
2-14 لقاحات دن ( أ ) عديد النوويدات 54
2-15 لقاحات الاضداد المولدة لاضداد أخرى 54
2-16 إنتاج اللقاحات الجزيئية ضد الطفيليات متعددة الخلايا 55
2-17 انتاج اللقاحات المحمولة ضد الطفيليات متعددة الخلايا 56
2-18 إستخدام التقانات الحديثة والحيوية فى إنتاج لقاحات الاوليات الطفيلية والريكتسيا 56

الباب الثالث : الطرق الحديثة المستخدمة عالمياً فى تعبئة وتجفيد وحفظ وضبط جودة اللقاحات البيطرية :
3-1 تعبئة وتجفيد وحفظ اللقاحات البيطرية 58
3-1-1 التعبئة 59
3-1-2 التجفيد 59
3-2 ضبط جودة اللقاحات البيطرية 62
3-2-1 ضوابط مواد التصنيع 63

3-2-2 اختبارات الفعالية 63
3-2-3 اختبار التداخل أو التضاد 63
3-2-4 إختبارات استعادة الضراوة 63
3-2-5 تقييم الخطورة على البيئة المحيطة 64
3-2-6 اختبارات ثبات اللقاح 64
3-2-7 اختبارات السلامة 64
3-2-8 اختبارات النقاوة 64
3-2-9 اختبارات أخرى 65
3-2-10 ضوابط حفظ نماذج اللقاح 65
3-2-11 ضوابط وضع الديباجات 65
3-2-12 الاختبارات المصلية 65
3-3 المراجع العالمية لاختبارات ضبط الجودة للقاحات البيطرية 66
3-4 اختبارات ضبط الجودة الخاصة باللقاحات البكتيرية 67
3-4-1 الاختبارات فى مرحلة إنتاج بذور اللقاحات 67
3-4-2 الاختبارات فى مرحلة الانتاج الرئيسية 68
3-4-3 الاختبارات فى مرحلة الناتج النهائى 69
3-5 اختبارات ضبط الجودة الخاصة باللقاحات الفيروسية 71
3-5-1 اختبارات ضبط الجودة على بذور اللقاحات الفيروسية 71
3-5-2 الإختبارات فى مرحلة الانتاج الرئيسية والناتج النهائى 73
3-6 إختبارات ضبط الجودة على لقاحات الاوليات والريكتسية 77
3-6-1 لقاحات حمى القراد 78
3-6-2 لقاحات داء الريكتسيا 81
3-6-3 لقاحات داء الثيريا 81
3-7 المعايير والمقاييس العالمية لضبط جودة اللقاحات البيطرية المنتجة بالتقانات الحيوية الحديثة 83

3-8 التقانات الحديثة المستخدمة لضبط جودة اللقاحات المنتجة بتقانات الاحياء الجزيئية والحيوية 85
3-9 الترخيص بانتاج واستخدام وتداول اللقاحات البيطرية المنتجة بالتقانات الحيوية الحديثة 86

الباب الرابع : عرض لواقع إنتاج اللقاحات البيطرية فى الوطن العربى
4-1 تمهيد 88
4-2 أنواع اللقاحات البيطرية المنتجه فى أقطار الوطن العربى 88
4-2-1 جمهورية مصر العربية 88
4-2-2 جمهورية السودان 89
4-2-3 الجمهورية العربية السورية 95
4-2-4 المملكة الاردنية الهاشمية 95
4-2-5 المملكة المغربية 102
4-2-6 الجمهورية العراقية 102
4-2-7 الجماهيرية العربية الليبية الشعبية الاشتراكية العظمى 102
4-2-8 جمهورية الصومال 107
4-2-9 الجمهورية اللبنانية 107
4-3 الطرق التقنية المستخدمة لانتاج اللقاحات البيطرية فى الوطن العربى 108
4-4 اختبارات ضبط الجودة المطبقة على انتاج اللقاحات البيطرية في اقطار الوطن العربى 110
4-4-1 جمهورية مصر العربية 110
4-4-2 جمهورية السودان 111
4-4-3 الجمهورية العربية السورية 112
4-4-4 المملكة الاردنية الهاشمية 112
4-4-5 المملكة المغربية 113

4-4-6 جمهورية الصومال 114

الباب الخامس : الاعتبارات الفنية والبيئية لتحديد أنسب التقانات الحديثة لانتاج اللقاحات البيطرية فى أقطار الوطن العربى

5-1 تمهيد 115
5-2 واقع انتاج اللقاحات البيطرية والتقانات المستخدمة فى الوطن العربى 117
5-3 واقع استخدام التقانات الحيوية والحديثة فى بحوث تطوير وانتاج اللقاحات البيطرية فى الوطن العربى 119
5-4 الاعتبارات الفنية والبيئية 120
5-5 نظم التعبئة والتجفيد والحفظ للقاحات البيطرية المنتجة فى الوطن العربى 121
5-6 نظم ضبط الجودة للقاحات البيطرية المطبقة فى أقطار الوطن العربى 121
5-7 مقترحات الدراسة وتوصياتها 122
5-7-1 على المستوى القطرى 122
5-7-2 على المستوى التنسيقى بين الأقطار العربية 123
5-7-3 على مستوى الوطن العربى 124

الملاحق 126
المراجع العربية 128
المراجع الانجليزية 129
فريق الدراسة 136
الملخص الانجليزى 137

# موجز الدراسة

# موجز الدراسة

يشهد العالم حالياً طفرة علمية كبيرة فى مجال استخدام تقانات الهندسة الوراثية والاحياء الجزيئية وتطبيقاتها فى مجال انتاج اللقاحات للانسان والحيوان. وفى ضوء المعلومات المتوفرة حاليا فى هذا المجال فإن المنظمة العربية للتنمية الزراعية فى اطار جهودها المبذولة فى تتبع ورصد التطورات العلمية الحديثة فى كافة فروع المعرفة الزراعية، من اجل الاخذ بالامثل منها لظروف التنمية الزراعية فى المنطقة العربية ، رأت القيام باعداد هذه الدراسة ، للوقوف على إمكانية إستخدام أحدث وأنسب التقانات فى أنتاج اللقاحات البيطرية فى الاقطار العربية . وشملت الدراسة خمسة أبواب تناولت بالتفصيل التقانات شائعة الاستخدام فى الوطن العربى فى هذا المجال والتقانات الحديثة والحيوية، والطرق العالمية المستخدمة حديثا فى مجالات تعبئة وتجفيد وضبط الجودة للقاحات البيطرية، اضافة الى عرض واقع انتاج اللقاحات البيطرية فى الدول العربية ، وتحديد الاعتبارات الفنية والبيئية لاختيار أنسب التقانات العالمية الحديثة لانتاج اللقاحات البيطرية فى الوطن العربى .

وقد تناولت الدراسة فى الباب الاول عرضاً مفصلاً للتقانات شائعة الاستخدام حاليا على مستوى الاقطار العربية المنتجة للقاحات البيطرية وعلى مستوى العالم. كما اشتمل هذا الباب على وصف تفصيلي لتقانات انتاج بذور اللقاحات البكتيرية والفيروسية والطفيلية، كما اشتمل ايضا على وصف تفصيلي للتقانات المستخدمة فى زرع وإكثار وحفظ بذور اللقاحات البكتيرية والفيروسية والطفيلية والفحوصات النوعية عليها .

وفيما يختص باللقاحات البكتيرية فقد اتضح من الدراسة أن تقانات الانتاج المتمثلة فى طريقة الدوارق الزجاجية، وتقنية المخمرات الحديثة نسبياً، لازالت هى التقانات الاكثر شيوعاً واستعمالاً فى انتاج اللقاحات البكتيرية فى المنطقة العربية .

وقد عرضت الدراسة ايضا تقانات انتاج اللقاحات الفيروسية شائعة الاستخدام

حالياً. المتمثلة فى تقانات الزرع النسيجي أو الخلوي والزرع فى البيض المخصب. هذا الى جانب تناول الدراسة لتقانات انتاج اللقاحات البكتيرية والفيروسية المثبطة أو الميته، والمواد المستخدمة فى تعطيل نشاط اللقاحات البكتيرية والفيروسية والمواد المساعدة المضافة للقاحات وذلك بالاضافة الى تقانات انتاج لقاحات الاوالى الطفيلية وطرق التحصين باسلوب الاصابة المتحكم فيها.

ولقد اتضح من الدراسة ، انه لاتوجد فجوة تقنية كبيرة بين الاقطار العربية المنتجة للقاحات البيطرية ودول العالم المتطور، فيما يختص بالتقانات الشائعة الاستخدام حالياً. إذ أن معظم المختبرات العاملة فى انتاج اللقاحات البيطرية فى أقطار الوطن العربي تستخدم تقنية المخمرات فى إنتاج اللقاحات البكتيرية ، وتقنية الزرع النسيجي أو الخلوى والزرع فى البيض المخصب لانتاج اللقاحات الفيروسية، على الرغم من الاختلاف فى بعض التفاصيل .

وأما فى الباب الثانى من الدراسة فقد تم عرض الاساليب والوسائل التقنية الحيوية والحديثة واستخداماتها فى مجال إنتاج اللقاحات البيطرية، كما تم التعرض وبشيء من التفصيل للقاحات المنتجة باستخدام تقانات الهندسة الوراثية والاحياء الجزيئية، بالاضافة الى وصف للقاحات الجزيئية البكتيرية والفيروسية المنتجة بالطرق الفيزيائية والكيميائية، واللقاحات الجزيئية المنتجة باستخدام التقانات الحيوية. كما جرى استعراض تطبيقات واستخدامات علوم الوراثة والهندسة الوراثية فى مجال دراسة الفيروسات ، بالاضافة الى عرض لتقانات انتاج اللقاحات المحمولة وعرض انواع الحوامل المستخدمة.

وأوردت الدراسة أمثلة للقاحات الفيروسية ذات الصفات الوراثية المحذوفة المنتجة باستخدام التقانات الحيوية، كما شملت وصفاً للمحاولات التى تمت لانتاج لقاحات جزيئية ضد الطفيليات المتعددة الخلايا والاوالى الطفيلية.

ولقد أتضح من الدراسة غياب المعلومات الكافية أو وصف لجوانب إستخدام التقانات الحيوية والحديثة فى انتاج اللقاحات الفيروسية والبكتيرية فى أقطار الوطن العربي . كما لم تتوافر أيضاً معلومات عن انتاج لقاحات فيروسية جزيئية . وفيما عدا التوكسيدات ، فلا توجد لقاحات بكتيرية أخرى منتجه بإستخدام هذه التقانات .

وقد تناولت الدراسة فى الباب الثالث، الطرق المتبعة والمستخدمة عالميا فى تعبئة

وتجفيد وحفظ وضبط جودة اللقاحات البيطرية. كما تعرضت للتقانات المستخدمة فى مختبرات الاقطار العربية المنتجة للقاحات البيطرية، خاصة تلك المتعلقة بتعبئة وتجفيد وحفظ اللقاحات البيطرية، كما حددت متطلبات عمليات التعبئة والتجفيد من المعدات والأجهزة ووسائل حفظ الناتج النهائى .

وتناولت الدراسة بالتفصيل ، الضوابط العامة لجودة اللقاحات، ونظم ضبط الجودة المأمونة، وتطبيق الاختبارات المعتمدة للقاحات المنتجة، مع عرض الاسس والقواعد العالمية التى تعنى بهذا الامر، خاصة مايتعلق بالاختبارات المعتمدة لضبط جودة اللقاحات البكتيرية والفيروسية الحية والميته خلال مرحلة انتاج بذور اللقاحات ، ومرحلة الانتاج الرئيسية ، ومرحلة الانتاج النهائي. كما تم ايضاً وصف اختبارات ضبط الجودة على لقاحات الأوالى فى المرحلة قبل وبعد الانتاج . وقد اتضح من الدراسة عدم وجود اختلاف يذكر فيما يختص بالتقانات المستخدمة فى عمليات التعبئة والتجفيد بين الاقطار العربية المنتجة للقاحات البيطرية نسبة لمحدودية الانتاج.

فيما يختص باختبارات ضبط الجودة المطبقة فى الدول العربية فلقد اتضح من الدراسة أن الاقطار العربية المنتجة للقاحات البيطرية لاتملك معاييرها الوطنية الخاصة، بها ، بل تتبع النظم العالمية لضبط الجودة ، مما يؤكد الحاجة الماسة لتطبيق نظم ضبط الجودة المأمونة، التى تحكم تصميم مبانى مختبرات إنتاج اللقاحات، ونظم السلامة الداخلية فى هذه المختبرات، والكادر الفنى العامل بها، من حيث التأهيل والتدريب وبروتوكولات الانتاج، كما أن هناك حاجة ماسة لتحديد مقاييس ومعايير موحدة لكافة نظم ضبط الجودة للقاحات البيطرية المنتجة فى أقطار الوطن العربى .

أما الباب الرابع من الدراسة فقد تضمن استعراضاً لواقع انتاج اللقاحات البيطرية فى أقطار الوطن العربي ، إذ اتضح وجود تعدد فى التقانات المستخدمة فى الانتاج، مع عدم التوافق فى المعايير والمقاييس المستخدمة فى ضبط جودة هذه اللقاحات. وعلى الرغم من ذلك برز اتجاه قوى لتطوير وادخال التقانات الحديثة الى طرق ووسائل انتاج اللقاحات وضبط جودتها.

وتناولت الدراسة فى الباب الخامس ، الوضع الراهن لتعداد الثروة الحيوانية فى الوطن العربي،حيث تبين أن هناك إزدياداً فى اعداد الثروة الحيوانية، مما ينعكس إيجابا

على استهلاك اللقاحات البيطرية وبالتالى ازدياد الطلب. وفى الباب الخامس أيضاً تناولت الدراسة واقع انتاج اللقاحات البيطرية فى أقطار الوطن العربى المنتجة أصلاً للقاحات البيطرية، وبالتركيز على التقانات الحالية المستخدمة فى الانتاج ، وواقع استخدام التقانات الحيوية والحديثة فى بحوث تطوير وانتاج اللقاحات البيطرية فى الوطن العربي.

هذا وقد إستعرضت الدراسة الاعتبارات الفنية والبيئية اللازمة لتحديد أنسب التقانات لانتاج اللقاحات البيطرية فى الاقطار العربية، ، من اجل مواكبة التطورات التقنية فى هذا المجال . وقد اقترح فى هذا الشأن العمل على مستويين : أولاً : رفع مستوى المختبرات العاملة فى مجال إنتاج اللقاحات البيطرية ورفع مستوى أدائها ليتوافق مع متطلبات التصنيع الجيد والممارسات المختبرية الجيدة ، مما يستلزم رفع مستوى نظم ضبط الجودة المأمونة. وثانياً العمل على إنشاء المختبر العربى المرجعي لانتاج اللقاحات البيطرية ، الذى سوف يعنى ببحوث تطوير انتاج اللقاحات البيطرية باستخدام التقانات الحيوية، من خلال نقل انسب التقانات التى تتواءم وظروف الاقطار العربية فى مجال انتاج اللقاحات البيطرية من المؤسسات العلمية العالمية فى الدول المتقدمة . ومن مهام المختبر العربي المرجعي أيضاً مراقبة ضبط الجودة للقاحات ، والتفتيش الدوري للمنشآت، للتأكد من تطبيقها للمواصفات العالمية المطلوبة ، واصدار شهادات الصلاحية باستخدام المنتوجات البيولوجية الناتجة من المختبرات البيطرية القطرية . كما سيكون من مهام المختبر العربي المرجعي كذلك تدريب وتأهيل الكوادر العربية وانتاج اللقاحات المختلفة ، ومدخلات انتاج اللقاحات لسد العجز الكمي والنوعي من تلك المنتجات فى الاقطار العربية المختلفة .

# مقدمة

# مقدمة

تشير البيانات الاحصائية الى الازدياد الملحوظ فى أعداد الثروة الحيوانية فى الوطن العربي، وذلك نسبة للاهتمام المتزايد فى هذه الاقطار بالثروة الحيوانية إدراكاً لاهميتها كقطاع رائد له اسهاماته فى الاقتصاد الوطني للعديد من الدول العربية ، ولدورها بوجه عام فى توفير الامن الغذائي العربي.

وبازدياد أعداد الثروة الحيوانية فى الاقطار العربية زادت الحاجة الى العناية البيطرية لتحسين الانتاج وللسيطرة على والوقاية من الامراض السارية والمعدية . وبما أن خيار مكافحة الامراض الحيوانية عن طريق التحصين باستخدام اللقاحات والامصال يمثل أفضل وسائل مكافحة الامراض ، لسهولة الاداء وقلة التكلفة الاقتصادية وفعالية التحصين، مقارنة مع وسائل واستراتيجيات مكافحة الامراض الاخرى ، فإنه كان الخيار المفضل فى العديد من أقطار الوطن العربي . ولسد الحاجة من اللقاحات البيطرية فى العديد من الاقطار العربية، عمدت بعض الدول الى توفير هذه اللقاحات عن طريق الاستيراد أو الانتاج المحلي أو الاثنين معاً . ولتحقيق أهداف التصنيع الوطني للقاحات البيطرية، أنشئت لهذا الغرض العديد من المختبرات البيطرية على امتداد الوطن العربى .

ونسبة لعدم توفر معلومات كافية عن واقع انتاج اللقاحات البيطرية فى الوطن العربي، خاصة فيما يتعلق بالتقانات المستخدمة فى الانتاج، وكميات الانتاج ، بالاضافة الى عدم وضوح المعايير والمقاييس التى تحكم ضبط جودة اللقاحات المنتجة ، قامت المنظمة العربية للتنمية الزراعية وإستكمالاً للنشاطات العديدة التى انجزتها فى هذا المجال ، بإعداد دراسة حول التقانات الحديثة المستخدمة على المستوى العالمي فى مجال انتاج اللقاحات ومايرافق ذلك من شروط ضبط الجودة الشاملة ، اضافة الى التعرف على واقع انتاج اللقاحات البيطرية فى أقطار الوطن العربي من اجل الوقوف على امكانية تطبيق الأنسب من تلك التقانات لانتاج اللقاحات البيطرية فى المنطقة العربية .

هذا وتحتوى الدراسة على خمسة أبواب ، تطرق الباب الاول منها للتقانات الشائعة الاستخدام على المستوى العالمي فى انتاج اللقاحات البكتيرية والفيروسية والطفيلية ، اضافة الى احتوائه على معلومات عن بذور اللقاحات ، وانواعها وخصائصها ، وتقانات إنتاجها وما يصاحب ذلك من شروط ضبط جودتها وحفظها لفترات طويلة . كما يشمل هذا الباب معلومات عن طرق إنتاج اللقاحات بأنواعها المختلفة .

أما الباب الثانى فقد استعرض الاتجاهات العالمية الحديثة لاستخدام التقانات الحديثة والحيوية فى مجالى إنتاج اللقاحات المختلفة وبحوث تطوير إنتاج تلك اللقاحات ، ويشمل ذلك اللقاحات الفيروسية والبكتيرية الجزيئية المحضرة بالطرق الفيزيائية والكيميائية وتلك المحضرة باستخدام تقنية الاحياء الجزيئية والهندسة الوراثية ، أما الباب الثالث فلقد استعرض الطرق الحديثة المستخدمة عالميا فى تعبئة وتجفيد وحفظ وخزن اللقاحات البيطرية . كما استعرضت الدراسة أيضا فى هذا الباب المعايير والمقاييس والتقانات العالمية الخاصة بضبط جودة اللقاحات المنتجة ، واصدار تراخيص الصلاحية، وإنتاج واستخدام وتداول اللقاحات والمنتجات البيطرية .

أما الباب الرابع، فقد تم فيه استعراض واقع انتاج اللقاحات البيطرية فى أقطار الوطن العربي ، من حيث انواع اللقاحات المنتجة وطبيعة العترات المستخدمه ، وطرق ضبط جودتها وتحديد تقنيات انتاجها والكميات المنتجة سنوياً بكل قطر .

هذا وقد احتوى الباب الخامس والاخير من الدراسة على تحليل لواقع إنتاج اللقاحات البيطرية فى دول الوطن العربى ، كما ناقش الاعتبارات الفنية والبيئية لتحديد أنسب التقانات العالمية التى يمكن استخدامها فى الوطن العربى .

وفى نهاية الباب الخامس تم وضع مقترحات وتوصيات على المستوى القطري والاقليمي وفى مجال التنسيق بين الأقطار ، للارتقاء بمستوى الاداء وتحسين جودة المنتجات البيولوجية فى الوطن العربى ، حتى تكون فى مصاف مثيلاتها المنتجة فى دول العالم المتقدم .

# الباب الاول
# التقانات الشائعة الاستخدام
# فى إنتاج اللقاحات البيطرية
# على المستوى العالمي

# الباب الاول

# التقانات الشائعة الاستخدام في إنتاج اللقاحات البيطرية على المستوى العالمي

## 1-1 بذور اللقاحات البكتيرية :

### 1-1-1 تعريف :

تعرف بذور اللقاحات البكتيرية بأنها بكتيريا محددة المواصفات ومعتمدة فى إنتاج اللقاحات البكتيرية، وترتبط فعالية وسلامة اللقاح إرتباطاً وثيقاً بنوع وصفات البذور المستخدمة فى أنتاجها. ولهذا السبب فانه يجب التأكد بشكل قاطع عبر سلسلة من الاجراءات والاختبارات، من صفات ودرجة ثبات وسلامة، وقدرة بذور اللقاحات على أحداث الاثر المطلوب فى الحيوان المحصن قبل أعتمادها كبذور للقاح.

### 1-1-2 أنواع بذور اللقاحات البكتيرية :

هناك نوعان رئيسيان من بذور اللقاحات البكتيرية، هما البذور الضارية والبذور المضّعفة (الموهنة). فالبذور البكتيرية الضارية هى عبارة عن بكتيريا لها القدرة على إحداث المرض فى الكائن الحي الذى يتعرض لها، ولايمكن إستخدام هذه البذور لعمل اللقاحات الحية ولكن يمكن استخدامها فى تحضير اللقاحات الميتة (المثبطة/المعطلة). أما النوع الثاني فهو البذور البكتيرية المضعفة، وهي بكتيريا تمت معالجتها بإحدى الطرق الفيزيائية أو الكيميائية أو الحيوية (البيولوجية) كالهندسة الوراثية مثلا لافقادها القدرة على احداث المرض، الا أنها تحتفظ بخواصها المناعية والشكلية كاملة. ويمكن استخدام هذا النوع من البذور لانتاج اللقاحات البكتيرية الحية.

من ناحية أخرى يمكن تقسيم بذور اللقاحات البكتيرية من الناحية الوظيفية الى ثلاثة أقسام هي :

- البذور المرجعية الاصلية (Original Seeds) ، وهي بذور ذات صفات مرجعية محددة معروفة، ويمكن الحصول عليها من المختبرات المرجعية العالمية (Reference Laboratories).
- البذور الرئيسية (أو البذور الام) (Master or Mother Seeds) ، ويمكن الحصول عليها بإكثار البذور المرجعية الاصلية لعدد محدود جدا من التمريرات فى الاوساط المغذية، ولايسمح باستعمال البذور الرئيسية (الام) لتحضير اللقاحات مباشرة، الا انه يمكن استخدامها لتحضير بذور التشغيل.
- بذور التشغيل (Working Seed lot) :

يمكن الحصول عليها من خلال إكثار وجبة بذور رئيسية، وهي البذور التى تستخدم مباشرة لتحضير اللقاحات والمستضدات، (Qntigens).

### 3-1-1 تقانات إنتاج بذور اللقاحات البكتيرية :

يتم إكثار بذور اللقاحات بالطرق المعروفة، إما عن طريق زرع الاوساط المغذية فى الدوارق الزجاجية أو المخمرات البكتيرية المطلوبة، وفى ظروف مثالية للنمو، وتحت مراقبة دقيقة لصفات الهوية، والخلو من التلوث، والسلامة والفعالية . كما يجب أن تكون مكونات المزرعة البكتيرية متجانسة (homogenous) ، ومن ثم تضاف المادة الحافظة وتوزع المزرعة البكترية على عبوات متساوية ليتم تجفيدها .

وبعد اجراء عملية التجفيد، تجرى الاختبارات اللازمة لضبط جودة البذور المنتجة، ومن ثم تحفظ فى درجة حرارة مناسبة فى المبردات العادية 4 درجة مئوية أو فى المبردات العميقة على درجة 20 الى 70 درجة مئوية تحت الصفر حسب متطلبات كل لقاح. وفى كل الاحوال يجب حفظ سجل يتم فيه تدوين كل المعلومات الاساسية الخاصة ببذور اللقاح من حيث المصدر، ومتطلبات النمو وعدد التمريرات فى الاوساط الغذائية، وأنواع المنابت التى استخدمت، وكميات الانتاج من بذور اللقاحات المختلفة. كما يجب إتباع معايير وقواعد التشغيل القياسية (SOP) Standard Operating Procedures ، ونظم ضبط الجودة المضمونة Quality Assurance Systems ، المتعارف عليها عالميا فى انتاج البذور واللقاحات .

### 4-1-1 إختبارات ضبط الجودة على بذور اللقاحات البكتيرية :

بالنسبة لبذور اللقاحات البكتيرية، تجرى عدة اختبارات لضبط الجودة، للتأكد من مطابقتها للصفات المطلوبة فى البذور المرجعية الاصلية، وتشمل هذه الاختبارات :

- إختبار تأكيد الهوية (Identity Test).
- إختبار الخلو من التلوث Purity Test .
- إختبار السلامة Safety Test .
- إختبار الاسقامية(الامراضية) للبذور الضارية (Pathogenicity Test).
- إختبار الفعالية الحقيقية (Efficacy Test).

وتستخدم فى إختبارات تأكيد الهوية وإختبارات الفعالية، الاختبارات المصلية (السيرولوجية) المناسبة لبذور كل لقاح .

## 2-1 بذور اللقاحات الفيروسية :

### 1-2-1 الخصائص الحيوية لبذور اللقاحات الفيروسية :

أظهرت الابحاث العلمية أن العديد من الفيروسات يمكن تطويعها وترويضها وأقلمتها على النمو على العديد من أنواع الزرع النسيجي والخلوى والبيض المخصب. وتوجد فى الطبيعة بعض الفيروسات ذات القدرة الامراضية الضعيفة والتى تولد مناعة لابأس بها، لذلك يمكن استخدام هذه الفيروسات لتصنيع اللقاحات الفيروسية. وباستخدام تقنية الزرع النسيجي أو الخلوي أو الزرع فى البيض المخصب يمكن استنساخ وإكثار بذور اللقاحات.

ومن أهم العوامل التى تؤثر على الخصائص الحيوية لبذور اللقاحات مايلى :

- درجة حرارة حفظ بذور اللقاحات .
- نوعية السائل أو المحلول الدارىء المعلق .
- درجة الحموضة PH .

كما أن هناك عوامل أخرى تؤثر على عملية إكثار بذور اللقاحات الفيروسية ومنها مايلى :

- نوع القنينات أو الاوعية الزجاجية الحاوية للفيروسات .
- طريقة إعادة تسييل العترات الفيروسية المجفدة .
- طريقة حقن الوسط الزرعى .

### 2-2-1 حفظ بذور اللقاحات الفيروسية :

إن أفضل الطرق لحفظ بذور اللقاحات الفيروسية، هي حفظها فى حالة مجفدة وفى درجة حرارة منخفضة (- 70 درجة مئوية) أو على النتروجين السائل (-196 درجة مئوية)، ويفضل أن يتم التجميد سريعا، مع عدم تكرار اذابة وتجميد الفيروسات التى تحفظ فى حالة سائلة.

وتشمل عملية التجميد خفض درجة حرارة معلق الفيروس الذى يحتوى على أملاح منظمة. وقد تظهر أثناء هذه العملية بعض بللورات من الاملاح فى السائل المعلق. بعض هذه الاملاح المنظمة قد تكون ضارة جدا لبعض الفيروسات، وذلك بسبب التغير المفاجيء لدرجة التأين الهيدروجيني ولذا فان التجميد السريع يعد عاملا إيجابياً.

### 3-2-1 تقانات إنتاج وزرع بذور اللقاحات الفيروسية :

قبل البدء فى إنتاج اللقاح، يجب التأكد من أن العترة التى سوف تستخدم فى الانتاج ذات خصائص حيوية تتطابق مع المواصفات الاساسية لبذور اللقاح المعني، بالاضافة الى التأكد من مصدر بذور اللقاحات، والتى يجب الحصول عليها من مختبر مرجعي. كما يجب حفظ سجل لتدوين كل المعلومات المتعلقة ببذور اللقاحات، مثل مصدر بذور اللقاح الاصلية وعدد التمريرات فى الزرع النسيجي أو الخلوي أو البيض المفرخ الخالي من أمراض معينة، والخصائص الحيوية لفيروس اللقاح، مثل أن تكون عترة اللقاح ذات تركيب موحد للمستضدات المراد إنتاجها أو وجود علامات فارقة للعترة والوسط الزرعي المطلوب. ويتم زرع بذور اللقاحات فى أماكن ذات تصميم خاص وباستخدام مواد ومحاليل متطابقة مع المتطلبات الاساسية للايفاء بالغرض المطلوب. كما يجب أن تجرى الاختبارات المحددة لفحص التلوث على بذور اللقاحات، للتأكد من خلوها من الملوثات البكتيرية والفيروسية والفطرية أو أي شوائب خارجية.

هذا ويتبع نظام الدفعات (Seed lot System) فى معاملة بذور اللقاحات، وفى

هذا النظام يتم تجهيز عبوات من بذور اللقاحات بعد استنساخها واكثارها باستخدام تقنية الزرع النسيجي أو الزرع فى البيض المخصب الخالي من أمراض معينة (SPF) فى عملية واحدة، وتوزيعها بكميات محددة فى قنينات، ثم يتم تجفيدها وحفظها فى درجة حرارة منخفضة لضمان احتفاظها بخصائصها الحيوية وثباتها . ويمكن تقسيم بذور اللقاحات الفيروسية من الناحية الوظيفية إلى المجموعات التالية :

- بذور اللقاحات الاصلية (Original seed virus) : ويتحصل عليها من مختبر مرجعي وتستخدم فى إنتاج بذور العترة الرئيسية التشغيلية.
- بذور العترة الفيروسية الرئيسية (Master seed virus) : ويتحصل عليها عن طريق تمرير بذور اللقاحات الاصلية على الزرع النسيجي أو الخلوي أو البيض المخصب الخالي من أمراض معينة (SPF)، وذلك بهدف الحصول على كمية كافية ذات معياريه عالية (Titre)، وتحفظ على شكل سائل أو مجفد عند درجة حرارة منخفضة (- 70 درجة مئوية) أو (- 196 النتروجين السائل).
- بذور عترة الفيروس التشغيلية (Working seed virus) : ويتحصل على بذور عترة الفيروس التشغيلية بتمرير العترة الرئيسية بهدف استخدامها فى انتاج دفعات اللقاح.
- الخلايا الام (Master cell stocks) : ويتحصل عليها من مصدر معروف . وتجرى الاختبارات عليها عند استخدامها الزرع الخلوي فى انتاج اللقاح، يجب إنتاج دفعة من الخلايا الام لكل نوع من أنواع الخلايا المراد استعمالها، كما يجب معرفة أعلى وأقل عدد تمريرات يمكن إجراؤها لكل نوع من أنواع الخلايا. ويجب اجراء تعريف كامل لكل نوع من أنواع الخلايا، من حيث مطابقتها للمواصفات القياسية العالمية، سواء من ناحية الشكل الظاهرى والصفات الحيوية أو ثبات التركيب الوراثي والخلو من التلوث البكتيري والفطري والفيروسي والشوائب الخارجية والميكوبلازما .

### 4-2-1 الفحوصات النوعية على بذور اللقاحات الفيروسية :

تجرى الفحوصات التالية على بذور اللقاحات الرئيسية والتشغيلية للتأكد من أنها

مطابقة للعترات القياسية العالمية فى خصائصها :

- **اختبارات التأكد من الهوية** : (Identity Tests) :

تجرى هذه الاختبارات للتأكد من هوية مولد الضد المستهدف، وعادة تجرى الاختبارات المصليه مثل اختبار التعادل المصلي Serum neutralisation test، واختبار منع التلازن الدموي Haemagglutination inhibition test بالنسبة لعترات فيروس النيوكاسل .

- **إختبارات المعايرة** (Titration) :

تجرى اختبارات تحديد معيار بذور اللقاحات الفيروسية باستخدام طرق مختلفة، حسب نوع الفيرس. مثلا للطاعون البقرى يتم اختبار المعايرة على الزرع النسيجي أو الخلوي، مثل خلايا فيرو Vero cells أو خلايا كلي العجول BKC. وبالنسبة لفيروس النيوكاسل، يتم اختبار المعايرة على البيض المخصب الخالي من أمراض معينة (SPF).

- **إختبارات الخلو من التلوث** (Sterility Tests) :

تجرى اختبارات الخلو من التلوث، للتأكد من أن بذور اللقاحات خالية تماماً من جميع الملوثات البكتيرية والفطرية والفيروسية والميكوبلازما والشوائب الخارجية.

- **إختبارات السلامة** (Safety Tests) :

تجهز دفعة من اللقاح باستخدام بذرة اللقاح المراد إنتاجه، وتحتوى على جرعات ليست أقل من 10 أضعاف الجرعة الحقلية، ثم تحقن فى حيوانات التجارب السليمة الخالية من الاضداد النوعية، وتراقب الحيوانات لمدة محددة حسب نوع اللقاح. ويجب مراعاة عدم ظهور أعراض مرضية مرئية أو آفات مرضية عند تشريح الحيوان المحقون.

- **إختبارات الخلو من الشوائب** (Absence of Extraneous Agents) :

تتم فى هذه الاختبارات معادلة بذور اللقاح باستخدام مصل يحتوى على اضداد نوعية عالية العيارية، ثم يحقن المخلوط على الزرع النسيجي أو الخلوي أو البيض المخصب الخالي من أمراض معينة للكشف عن وجود ملوثات. ومثال ذلك الفحص الذى يجرى على لقاح المارك للكشف عن وجود فيروسات (الليوكوزس) .

- **اختبارات الفعالية** :Potency Tests :

يتم تجهيز دفعة تجريبية من اللقاح لتحقن بها حيوانات التجارب أو الدواجن المهيئة لهذا الغرض، وبعد إنقضاء عدة إيام تحقن الحيوانات المحصنة بعترة ممرضة وتراقب الحيوانات المحقونة لعدة أيام، ثم يتم رصد وتدوين الاعراض المرضية المرئية فى حيوانات التحكم والسيطرة . ومن أهم الملاحظات التى يجب تدوينها مايلي :

- الاعراض المرضية المرئية .
- نفوق الحيوانات .
- الاعراض التشريحية التى تظهر فى الحيوانات النافقة .

كما يتم ايضا أخذ أمصال من الحيوانات المحصنة، ويجرى الفحص للتأكد من وجود الاضداد النوعية للفيروس المستخدم.

## 3-1 تقانات انتاج اللقاحات البكتيرية :

بدأت صناعة اللقاحات البكتيرية على المستوى العالمي فى أواخر القرن التاسع عشر، وأستخدمت لذلك طرق تقليدية تتمثل فى زراعة الاوساط المغذية المحفوظة فى دوارق وآنية زجاجية ومعدنية ببذور اللقاح ولقد تطورت صناعة اللقاحات البكتيرية تطورا كبيرا فى العقود القليلة الماضية من القرن الحالي، خاصة بعد إدخال تقنية المخمرات (Fermentors)، وبعد ثورة التقنيات الحيوية المتمثلة فى تقنية الهندسة الوراثية والاحياء الجزيئية . وبالرغم من التقدم الكبير فى العلوم البيولوجية، الا أن تقنيات الانتاج المتمثلة فى طريقة الدوارق الزجاجية وتقنية المخمرات الحديثة نسبيا لازالت هي التقنيات الاكثر شيوعا وإستعمالا فى العالم فى الوقت الحاضر.

وفى كل الاحوال فإن صناعة اللقاحات البكتيرية تتطلب الانتاج على مرحلتين :

**المرحلة الاولى :** وتشمل زرع بذور اللقاح بغية الحصول على الانتجين (المستضد)، الذى يتسبب بدوره عقب تفاعله مع الجهاز المناعي فى جسم الكائن الحي فى تكوين الحالة المناعية. بالنسبة للقاحات البكتيرية فإن الانتيجينات الهامة تشمل الخلية البكتيرية وإفرازاتها وأحد أو عدد من مكوناتها الجزيئية.

**المرحلة الثانية** : تشمل جني الخلايا البكتيرية وسائل المزرعة البكتيرية (Broth culture) ، المحتوى على مكونات وإفرازات البكتريا ومكونات الوسط المغذي، ثم يتم تنقية وتركيز هذه المنتجات وتصنيع الانتيجينات فى الشكل النهائي للقاح. هذا ويمكن تحضير اللقاحات البكتيرية بعدة طرق باستخدام تقنيات متفاوته من حيث التعقيد، والكفاءة والحداثة، الا انه على وجه العموم يمكن تقسيم تقنيات انتاج اللقاحات البكتيرية الشائعة الاستخدام الى مجموعتين.

### 1-3-1 طريقة التوزيع فى الدوارق الزجاجية : (Flask system)

تتمثل هذه الطريقة فى زراعة بذور اللقاح البكتيري فى دوارق أو أوعية زجاجية تحتوى على أوساط مغذية سائلة (Liquid media)، أو منابت صلبة (Solid me-dia). وتنمو البكتيريا فى هذه الدوارق والاوعية الزجاجية فى مزارع ساكنة (Static culture) ، حيث لايمكن التحكم فى كثير من العوامل التى تؤثر على نمو وتكاثر البكتيريا وإفراز منتوجاتها. وتعتبر هذه التقنية سهلة، وغير معقدة وقليلة التكاليف، الا أن لها مثالبها من حيث محدودية الانتاج والجودة النوعية للقاح المنتج، مقارنة بطرق الانتاج الاكثر تطوراً. هذا وينتشر استخدام هذه التقنية فى كثير من دول العالم، وعلى الاخص فى دول العالم الثالث.

على سبيل المثال لا الحصر يمكن إنتاج لقاح كل من مرض التسمم الدموي، ومرض التفحم العضلي ذات الرئة السارى ، بهذه الطريقة بعد حقن بذور اللقاح المناسبة لكل حالة لقاح فى دوارق زجاجية كبيرة الحجم (سعة عدة لترات)، والتى تحتوى على الوسط المغذي المناسب، وذلك بعد التأكد من خلو الوسط المغذي من التلوث.

تترك الدوارق الزجاجية بعد حقن بذور اللقاح فى درجة حرارة مناسبة لنمو البكتيريا. وبعد إنقضاء فترة الحضانة تفحص المزارع البكتيرية مجهرياً عن طريق التزريع فى منابت مغذية صلبة، للتأكد من كثافة النمو وخلو المزارع البكتيرية من التلوث. تضاف بعض المحاليل الكيميائية (كالفورمالين مثلا) لقتل المزارع البكتيرية كما فى حالة اللقاحات الميتة، أما اللقاحات الحية فتترك كماهي. بعد التأكد من قتل المزارع البكتيرية (مرحلة تثبيط الضراوة أو الاخماد)، تضاف بعض المواد الكيميائية كعوامل مساعدة قبل

تعبئتها فى الاوعية الزجاجية. أما بالنسبة للقاحي الحمي الفحمية ولقاح البروسيلا على سبيل المثال، فيمكن أنتاجهما عن طريق زرع الاوساط المغذية الصلبة المصبوبة فى زجاجات رو (Roux bottles) ببذور اللقاح. وتحصد المزارع البكتيرية بعد فترة الحضانة المناسبة لكل لقاح، بعد التأكد من تطابق المواصفات المطلوبة فى بروتوكول ضبط الجودة . وتضاف المـــواد المســـاعدة اللازمة لكل لقاح (Adjuvants) قبل التعبئة فى الاوعية الزجاجية.

### 2-3-1 تقنية المخمرات (المفاعلات الحيوية (Fermentors/Bioreactors):

تعد هذه التقنية أفضل من تقنية التزريع فى الدوارق الزجاجية التقليدية ، حيث أنه يمكن التحكم فيها فى كثير من العوامل التى تؤثر على نمو وتكاثر البكتيريا وانتاج المواد والافرازات البكتيرية الاخرى. وتعطى هذه التقنية إنتاجا أكثر كماً وأجود نوعاً مقارنة بتقنية التزريع فى الدوارق الزجاجية، وتعتبر من التقنيات الحديثة نسبياً، حيث تستخدم فى العديد من دول العالم ومن بينها عدد من الاقطار العربية. فى السنوات الاخيرة صممت أجيال جديدة من المخمرات على درجة عالية من الكفاءة والتقنية، إذ زودت بأجهزة حديثة يمكن التحكم فيها عن طريق الحاسوب ويمكن برمجة أوامر التشغيل لدورة إنتاجية كاملة، مما يحد كثيرا من التدخل البشري.

ولقد أمكن نتيجة لاستخدام المخمرات فى صناعة اللقاحات والمنتوجات البيولوجية الاخرى تحقيق الفوائد التالية :

- الحصول على إنتاجية عالية من اللقاحات والمنتوجات البيولوجية نتيجة للتحكم الكامل فى العوامل الخارجية والبيئية التى تؤثر على تكاثر ونشاط الميكروبات، مما نتج عنه توفير ظروف مثلي لنمو المزارع البكتيرية (على سبيل المثال)، وبذلك أمكن الحصول على لقاحات عالية الجودة النوعية وبكميات كبيرة تعتبر أضعاف الكميات التى يمكن الحصول عليها بطريقة التزريع الدوارق الزجاجية .
- الحصول على لقاحات بكميات كبيرة متجانسة نوعياً (homogenous) وبمواصفات واحدة نظرا للتطابق التام فى ظروف النمو، على عكس الحال فى الطريقة التقليدية التى تستعمل فيها الدوارق الزجاجية .

- تقليل نسبة التلوث وبالتالي الفاقد الى حدهما الادنى .
- توفير درجة عالية من السلامة للعاملين والبيئة، نتيجة تقليل فرص التلوث، بتقليل إحتكاك وتعامل الفنيين والعمال بالمواد الكيميائية (كالفورمالين مثلا) ووسائل التسخين والتعقيم كالافران والغلايات وأجهزة التعقيم البخارية .
- تقليل العمالة .
- تقصير دورة الانتاج (تقليل فترة الانتاج) .
- تقليل تكلفة الانتاج الاقتصادية .

هذا وتختلف المخمرات (المفاعلات الحيوية) فى أحجامها، إذ تتراوح سعتها مابين بضعة لترات الى عدة الاف من اللترات من الاوساط الغذائية السائلة. كما تختلف فى أشكالها وتصاميمها والمواد المصنعة منها، الا أنها تتفق فى صفة واحدة، وهي إمكانية التحكم من خلالها فى العديد من العوامل التى تؤثر على نمو البكتيريا وتكاثرها وانتاج إفرازاتها ومكوناتها الجزيئية داخل وعاء المخمر، فعلى سبيل المثال يمكن من خلال جهاز المخمر التحكم فى درجة الحرارة ، و درجة تركيز أيون الايدروجين (pH) ، ومعدل الخلط (Stirring)، ومعدل التخفيف (Dilution rate) ، و التهوية (Aeration) و الامداد بالمحاليل المغذية (Nutrient medium) والمحاليل الكيميائية والغازات المختلفة وهو مالايمكن تحقيقه فى طرق التزريع التقليدية.

ويمكن أيضاً استخدام المخمرات لانتاج اللقاحات البكتيرية الهوائية كلقاحات الحمي الفحمية، ولقاح التسمم الدموي ولقاح التسمم المعوى ، كما يمكن استخدامها لانتاج اللقاحات البكتيرية اللاهوائية مثل لقاحات التفحم العضلي والكلوستريديا والذوفانات (التوكسيدات)، كما يمكن انتاج انتيجينات (مستضدات) البروسيلا والسالمونيلا باستخدام المخمرات.

### 3-3-1 نظم التشغيل فى المخمرات :

يمكن استخدام المخمرات للعمل بأنظمة تشغيل مختلفة، كما يمكن التحكم فى اختيار نظام التشغيل والمنتج النهائي الذى يراد الحصول عليه. ويوضح العرض التالي

نظم التشغيل المختلفة لانتاج اللقاحات البكتيرية.

### 1-3-3-1 التشغيل بنظام المزارع الساكنة (Static cultures) :

يماثل هذا النظام طريقة الزرع بنظام الدوارق الزجاجية التقليدية، من حيث عدم إمكانية التحكم فى بيئة نمو المزرعة البكتيرية، وبالتالى فان البكتيريا تنمو فى ظروف غير مثالية ويستحسن إستخدام هذا النظام التشغيلي للمخمر اذا تعلق الامر بالحصول على منتج خالي من السموم البكتيرية الداخلية (الذيفانات الداخلية - Endotoxins) أو البروتينات الغشائية البكتيرية (Outer membrane proteins) . وفى هذه الحالة يعقب النمو الاقصي للبكتريا فى المزرعة الساكنة المعمرة (Old static culture) التحلل والتفسخ البكتيري (Bacterial degeneration and autolysis) ، نتيجة لعمل الانزيمات الذاتية الهاضمة للبروتين (Proteases). وتستخدم هذه الطريقة لعدد كبير من البكتيريا السالبه لصبغة جرام، كالسالمونيلا مثلا كما يمكن استخدام هذه الطريقة لتحفيز التحوصل البكتيري للحصول على الابواغ البكتيرية (Spores)، كما فى حالة لقاح الحمي الفحمية (الجمرة الخبيثة).

### 2-3-3-1 التشغيل بنظام الدفعات المتحكم فيها :

(Controlled batch cultures)

وفيها يتم التحكم فى أحد العوامل التى تؤثر تأثيراً مباشراً على نمو الخلايا البكتيرية الخضرية (Vegetative cells) ، مثال ذلك التحكم فى الرقم الهايدروجينى (pH) ، أو الامداد بالهواء (الاكسجين) أو التحريك (Stirring) وتعتبر هذه الطريقة أفضل من سابقتها من حيث إمكانية الحصول على خلايا بكتيرية سوية (Proper vegetative cells) ، أو كمية أكبر من السموم الخارجية (Exotoxins) حين يتم التحكم فى الرقم الهايدروجينى كما فى حالات لقاحات الكلوستيريديا (Clostridial vaccines) المختلفة.

أما حين يتم التحكم فى امداد المزارع البكتيرية بالهواء (الاكسجين)، فيمكن الحصول على إنتاجية أفضل من أبواغ التحوصل البكتيرى (Bacterial spores)، كما فى حالة لقاح الحمي الفحمية .

### 1-3-3-3 التشغيل بنظام المزارع شبه المستمرة :

(Semicontinuous cultures) :

يستخدم نظام التشغيل هذا بكثرة فى الصناعات الكبيرة والمخمرات الضخمة لانتاج المضادات الحيوية من البكتيريا، والفطور والكائنات الدقيقة الاخرى مثل الخمائر (yeasts). كما يستخدم هذا النظام فى صناعة المنتوجات البيولوجية مثل الانزيمات، السموم (الذيفانات) ، الكحول ونواتج الايض البكتيري ، ويعتبر هذا النظام أكثر أمناً من نظام التشغيل للمزارع المستمرة، حيث تقل احتمالات حدوث تحول أو تغيير فى التركيب الوراثي للكائنات الدقيقة (Micorbial mutations).

### 1-3-3-4 : التشغيل بنظام المزارع المستمرة (Continuous cultures):

يتم فى هذا النظام التحكم فى كافة العوامل التى تؤثر على النمو المثالى للبكتيريا فى المزرعة. مثال لهذه العوامل الرقم الهايدروجيني (pH) ، التهوية (Aeration) ، التحريك (Stirring)، معدل إحلال الوسط المغذي، معدل التخفيف (Dilution rate)، ومعدل سحب الناتج من وعاء المخمر. وفى معظم الاحوال يتم تزويد وعاء المخمر بالاوساط المغذية والمحاليل الكيميائية بنفس معدل سحب اللقاح الناتج. ويمكن فى هذا النظام الحصول على معدلات عالية جدا من انتاج الخلايا البكتيرية والسموم والنواتج الاخرى، بعد تثبيت مستويات ودرجات العوامل المثلي للانتاج. يصلح هذا النظام لانتاج المستضدات التشخيصية (أنتيجينات) وعدد كبير من اللقاحات التى تعتمد على وجود الخلايا البكتيرية السوية غير المتحللة والذيفانات (السموم)، كمكونات رئيسية للقاح ، خاصة لقاحات الكلوستيريديا، الاشريكيه القولونية، الباستيرلا، المايكوبكتيريا، والبروسيلا.

### 1-3-4 المعاملات التى تلى زراعة اللقاحات البكتيرية :

#### 1-3-4-1 إخماد الضراوة (التثبيط أو قتل اللقاح) (Inactivation) :

بغض النظر عن طريقة الانتاج، يتم إخماد ضراوة العترات البكتيرية فى اللقاحات الخامدة باستعمال الطرق الفيزيائية، مثل التسخين (الحرارة) أو الطرق الكيميائية باضافة بعض المحاليل الكيميائية. ويعتبر الفورمالين من أكثر المواد المستعملة فى قتل اللقاحات،

وحيث يستخدم بتركيز نهائي يتراوح بين 0.4 الى 0.8 فى المائة، تحت درجة حرارة 37 درجة مئوية مع التحريك المستمر للخليط.

تستمر عملية التثبيط لعدة أيام على حسب نوع اللقاح، ويجب ضبط درجة حموضة المزيج خلال هذه الفترة. ويمكن إختبار كفاءة الإخماد بواسطة الزرع البكتيري لعينات اللقاح المخمد فى الاوساط المغذية الصلبة والسائلة، وذلك بحقن حيوانات التجارب الصغيرة.

### 2-4-3-1 التنقية والتركيز : (Purification and concentration):

يلى عملية حصاد اللقاح استخدام أحد أو عدة تقنيات لتنقيته وتركيزه. ومن بين هذه التقانات، طريقة الترسيب بواسطة الطرد المركزى المستمر Continuous flow centrifugation، كما يمكن استخدام تقنية الترسيب بواسطة سلفات الامونيوم Ammonium sulphate لتنقية وتركيز الذيفانات (السموم البكتيرية) (التوكسيدات)، وكما يمكن أيضا استخدام تقنية الترشيح لتنقية وتركيز اللقاحات.

ويعتبر الترشيح من أفضل الوسائل لتنقية وتركيز اللقاحات البكتيرية والمواد البيولوجية الاخرى، وهو من أكثر الوسائل أماناً وكفاءة وهناك العديد من وسائل الترشيح (الفلترة) التى يمكن استخدامها ، الا أن من أفضل المرشحات التى ظهرت فى السنوات الاخيرة وبرهنت على كفاءتها العاليه المرشحات المعروفة باسم مرشحات الانابيب المجوفة (Hollow fibre filters) ، وهي عبارة عن مجموعة من الانابيب الدقيقة الرفيعة المجوفة، المصنوعة من لدائن صناعية خاصة ومضغوطة مع بعضها البعض فى إطار جامع، بحيث تسمح هذه المرشحات بمرور السوائل خلال الانابيب المجوفة. ويتم ترشيح السوائل والاجسام الدقيقة عبر جدران الانابيب الجانبية على حسب الاوزان الجزيئية للاجسام الدقيقة (البروتينات) الموجود فى السائل الذى يراد تصفيته . ويتم فى مرحلة اولي فصل البكتيريا عن الجزء السائل، بينما يتم فى مراحل تالية فصل مكونات الجزء السائل حسب الاوزان الجزيئية للمكونات، وذلك باستخدام مجموعات مختلفة من هذه المرشحات. وهناك أجيال جديدة من هذه المرشحات يمكن عن طريقها اختصار عدد من الخطوات فى مرحلة واحدة.

هذه المرشحات يمكن تنظيفها وأعادة استعمالها أكثر من مرة، كما يمكن تعقيمها

باستخدام المعقم البخاري (الاتوكلاف) . هذا وتستخدم مضخات خاصة لدفع السوائل داخل المرشحات أثناء عملية التصفية بعد عمل التوصيلات الانبوبية اللازمة. وبالنسبة للقاحات الحية يجب اجراء عملية التصفية مباشرة بعد حصاد الناتج، أما بالنسبة للقاحات الميتة، فيتم تصفيتها بعد التأكد من قتل المزارع البكتيرية الحية. ويمكن بواسطة استخدام هذه التقنية الحديثة تنقية وتركيز السوائل والمزارع البكتيرية الى (10) فى المائة من حجمها الاصلي . هذا وترجع أهمية عملية الترشيح وتصفية المزارع البكتيرية للاسباب التالية :

- خفض كميات الماء، والمحاليل الكيميائية، ومكونات الاوساط المغذية غير المستهلكة ونواتج الايض البكتيري غير المرغوب فيها مثال لذلك البروتينات ذات الاوزان الجزيئية القليلة، والتى لا أهمية لها كمكون للقاح من الناحية المناعية .
- التخلص من المواد الضارة فى اللقاح، والتى قد تسبب حساسية أو التهابات موضعية فى الجلد بعد الحقن.
- فصل وتركيز مكونات اللقاح المختلفة (خلايا، توكسيد، انتجين) الى الحجم والتركيز المطلوبين.

### 3-4-3-1 إضافة المواد المساعدة للقاحات البكتيرية: (Adjuvants) :

المواد المساعدة (Adjuvants) عبارة عن مواد كيميائية أو مركبات عضوية تضاف للقاحات البكتيرية بمعدلات محسوبة بهدف زيادة فعالية اللقاحات. وتعمل المواد المساعدة على إحداث ردود فعل مناعية أفضل، وتستمر لفترة أطول فى الكائن الحي الذى يعطى لقاحاً يحتوى على المادة المساعدة، مقارنة مع لقاح آخر لايحتوى على مادة مساعدة .

هذا وتعمل المواد المساعدة بأحد أو عدد من الاليات التالية :

- تكوين التهاب أو تورم مزمن (Chronic inflamation) فى منطقة حقن اللقاح، ممايؤدى الى تكوين حاجز نسيجي من الخلايا والمواد المتجمعة، ونتيجة لذلك يحدث أمتصاص بطيء للمستضد البكتيري (اللقاح) بواسطة جسم الكائن الحي، كما فى حالات مركبات فرويند (Freund adjuvants) .

- تكوين مخزون بطيء الذوبان من المستضد البكتيري والمادة المساعدة، كما فى معظم حالات مركبات الالمنيوم (Aluminum compounds) .
- الإثارة المباشرة للخلايا المناعية والخلايا البلعمية (Phagocytes) على وجه الخصوص التى تتلقى وتجهز المستضد البكتيري .

وفى جميع هذه الحالات يؤدى الامتصاص البطيء للمستضد البكتيري الموجود فى اللقاح الى سلسلة متواصلة من الاشارات والتنبيهات لجهاز المناعة، مما يؤدى بالتالى الى تحسين وإطالة زمن وحجم رد الفعل المناعي (Immune response).

ومن أهم المواد المستخدمة كمواد مساعدة فى اللقاحات البيطرية، المواد التالية :

- مساعدات أملاح العناصر المعدنية Mineral salt adjuvants
- مساعدات زيتية Oil adjuvants .
- مواد بيولوجية Biological substances .
- بكتيريا السل الرئوي Mycobacteria .
- البكتيريا الوتدية النوع بارفم Corynebacterium parvum .
- بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية Staphylococcus aureus .
- فيروس الجدري Pox virus .
- السابونين Saponin .
- المساعدات الكربونية المهدرجة Hydrocarbon adjuvants .

### 4-4-3-1 الانتاج النهائي للقاح البكتيرى :

تخزن مادة اللقاح الفعالة المركزة فى درجة حرارة مناسبة فى انتظار نتائج ضبط الجودة المرحلية. و فى حالة استيفاء مادة اللقاح لمواصفات وأختبارات ضبط الجودة، يخفف اللقاح للتركيز المطلوب، ويتم مزجه بالمادة المساعدة المناسبة حتى يصبح الخليط متجانسا، وأخيرا يعبأ فى قنينات اللقاح، ومن ثم تقفل القنينات وتوسم بالديباجة التى توضح البيانات اللازمة الخاصة بكل لقاح .

ويجب التركيز على تطبيق كل قواعد ومتطلبات الصناعة الجيدة Good (GMP) Manufacturing Practices ومتطلبات الممارسة الجيدة Good Laboratory (SOP) Standard Operating Proce- Practice وطرق التشغيل القياسية dures هذا الى جانب استيفاء جميع متطلبات ضبط الجودة المأمونة Quali- (QAS) ty Assurance System في جميع مراحل الانتاج لضمان الحصول على لقاحات مأمونة وفعالة.

## 4-1 تقانات إنتاج اللقاحات الفيروسية :

### 1-4-1 الوسط المزرعى :

تستخدم عدة تقانات فى انتاج اللقاحات الفيروسية ، الا أن أهم الطرق الشائعة الاستخدام، تشمل تقانات الزرع النسيجي أو الخلوي، والزرع فى البيض المخصب، وتقانات أخرى مازالت فى طور التطوير والتنمية مثل تقانات إنتاج اللقاحات الجزيئية واللقاحات المنتجة باستخدام تقنية الهندسة الوراثية وغيرها. وتختلف نوعية التقنية المستخدمة فى إنتاج اللقاحات الفيروسية باختلاف نوعية وكميات اللقاحات الفيروسية المنتجة، ونوعية الوسط المناسب لنمو الفيروسات، ومدى أهلية المختبرات من ناحية الاجهزة والمعدات والكادر الفني المؤهل للقيام بمثل هذا الانتاج.

#### 1-1-4-1 الزرع النسيجي والخلوى :

تحدد نوعية الخلايا التى تستخدم فى انتاج اللقاحات الفيروسية قابلية واستعداد الخلايا لفيروس اللقاح المنتج. وتستخدم عدة أنواع من الخلايا فى انتاج اللقاحات الفيروسية :

- الخلايا الاولية Primary Cell Culture، وهذا النوع من الزرع الخلوي يمكن الحصول عليه من الكائن الحي مباشرة، ويمكن استخدامها لانتاج كميات كبيرة من الفيروسات، ولكن من عيوبها أنها ربما تكون ملوثة بالفيروسات، وبالتالى احتمال انتقال هذه الملوثات الفيروسية للحيوانات المحصنة.
- الخلايا الثنائية الصبغات Diploid cell strains، وهذا النوع من الخلايا يمكن تمريره من 3 الى 5 مرات دون تغير فى اعداد الصبغات. وتستخدم هذه

الخلايا فى انتاج اللقاحات الخاصة بالانسان.

- الخلايا المستمـــرة المتعـــددة الصـبغات (Heteroploid cells)، هذا النوع من الخلايـــا يمكن أن يتـوالد وينمـــي مـــن دون ضوابـط مثـــل خـــلايا فيرو (Vero Cells) وخلايا بي إتش كيه BHK21 .

وتستنبت خلايا الزرع النسيجي أو الخلوي باستخدام عدة طرق هى :

- الزرع الثابت ، حيث تتكون طبقة أحادية (Monolayer) من الخلايا على سطح زجاج الزرع النسيجي مغطاة بالوسط الغذائي الحيوي للخلايا باستمرار.
- الزرع الدائري (Roller)، وتمكن هذه الطريقة من الحصول على مساحة أكبر من الزرع النسيجي فى كمية أقل من الوسط الغذائي.
- الزرع المعلق الخلوي (Cell suspension)، وتستخدم عادة خلايا بي أتش كيه BHK21 21 لما لها من ميزة أن تكون معلقة من دون الحاجة الى سند. ولهذا اكتسبت هذه الخلايا أهمية بالغة فى انتاج اللقاحات باستخدام المخمرات.
- الزرع فى المخمـــر باستعمـــال الـــزرع المعلق الخلوي، والاستعانة بالحاملات الدقيقة (Microcarriers) لاسناد الخلايا التى لايمكن أن تتوالد معلقة.

### 2-1-4-1 الزرع فى البيض المخصب :

يستـخدم البيض المخصب من قطعان دجاج خالية من أمراض معينة (Specific pathogen-free)، فى انتاج عدة لقاحات وخاصة لقاحات الدواجن. ويستلزم الحصول على البيض المخصب توافر نظم عمل معروفة علميا على المستوى العالمي لانتاجه، كما تستوجب نظم رعاية غاية فى الاحكام والرقابة. أما المواصفات المطلوبة فى البيض الخالي من أمراض معينة وتشمل الاتي :

- أن تكون القشرة بيضاء لتسهيل عملية فحص الاجنة قبل وبعد الحقن بفيروس اللقاح.
- أن تكون نسبة الخصوبة بين 80٪ الى 90٪ .

- أن يكون العلف خالي من الملوثات البكترية والفطرية والطفيلية والفيروسية والمضادات الحيوية.
- أن يكون البيض خالي من الملوثات والاضداد لمسببات الامراض التالية :
  - * أنيميا الدجاج (Chicken anaemia agent) .
  - * الاصابة بالفيروسات الغدية (Adenoviruses infection) .
  - * الاصابة بالفيروسات الرويه (Reoviruses infection) .
  - * ظاهرة انخفاض البيض 76 ( Egg Drop syndrome 76).
  - * التهاب القصبة الهوائية والرغامي (Infectious laryngotrachietis).
  - * جدري الطيور (Fowlpox).
  - * الجمبورو (Gumboro disease).
  - * التهاب الشعب الهوائية (Infectious Bronchitis).
  - * انفلونزا الطيور صنف أ (Avian influenza Type A).
  - * الليوكوزس (Leucosis).
  - * مرض المارك (Mareks disease).
  - * الاصابة بالمفطورات (Mycoplasmas).
  - * النيوكاسل (Newcastle disease).
  - * المتفطرة الطيريه (Mycobacterium avium).
  - * الارتعاش الوبائي (Avian encephalomyelitis).
  - * الشباك البطاني (Reticuloendotheliosis).
  - * الاصابة بالسالمونيلا (Salmonella infection).

### 2-4-1 الخطوات العملية لانتاج اللقاحات الفيروسية :

تعتمد الخطوات العملية لانتاج اللقاحات الفيروسية على عدة عوامل أهمها :

- نوع اللقاح المراد انتاجه، حي أم ميت .
- الوسط الزرعي، من حيث استخدام تقنية الزرع النسيجي أو الخلوي أو الزرع فى البيض المخصب .

وتستخدم مزارع الانسجة الحية المجهزة من أعضاء الحيوانات الصغيرة السن السليمة أو الخطوط الخلوية الدولية، مثل خلايا فيرو (Vero cells) و خلايا كلية الهامستر (BHK21)، وغيرها من الخطوط الخلوية، وذلك بغرض زرع وإكثار الفيروسات عليها باعتبارها الوسط الزرعي المناسب.

### 1-2-4-1 إنتاج اللقاحات الفيروسية الحية الموهنة :

تستخدم فى انتاج هذه اللقاحات (مثل لقاح الطاعون البقرى وطاعون الخيل) بذور لقاحات حية موهنة، حيث تستنبت على مزارع الانسجة الحية أو الخطوط الخلوية، وتمر عملية إنتاج هذه اللقاحات بعدة مراحل :

- تجهيز مستلزمات الانتاج والاوعية الزجاجية للزرع النسيجي.
- تجهيز الوسط الزرعي .
- تجهيز الوسط الغذائى .
- حقن الوسط الزرعي وحصد اللقاح .
- اجراء اختبارات ضبط الجودة أثناء الانتاج .
- تجفيد اللقاح .
- اجراء اختبارات ضبط الجودة على الناتج النهائى .

* **الوسط الزرعي :** يتم حقن المزارع الخلوية ببذور اللقاح المطلوب انتاجه وتحضن عند درجة حرارة محددة .

* **الوسط الغذائي** : تستخدم عدة تركيبات من الاوساط الغذائية لمد الوسط الزرعي بجميع المواد المغذية اللازمة للنمو وحيوية الخلايا، إضافة الى أخذ فضلات التحول الغذائي للخلايا . ومن أشهر الاوساط الغذائية المستخدمة لهذا الغرض بيئة MEM مضاف اليها من 2 الى 5٪ مصل عجول وبعض المواد الاخرى مثل مستخلص الخميرة (Yeast extract) ولاكت البيومين هايدرولازيت (Lactalbumin hydrolysate) ومرق فوسفات التربتوز (Tryptose phosphate broth)، إضافة الى المضادات الحيوية بنسب محددة.

هذا ويتم فحص الزرع النسيجي المحقون يوميا ومراقبة الاثر الاستسلامى مع (Cytopathic effect CPE) تحديد النسبة المئوية للخلايا المتأثرة بالفيروس. يتم حصد اللقاح فى وعاء واحد (Bulk suspension)، ويثفل الحصاد باستخدام المثفلة، من اجل استبعاد الخلايا الكاملة وبقايا الخلايا، ويحفظ اللقاح عند درجة حرارة منخفضة، وتؤخذ نماذج من الحصاد وتخضع لاختبارات ضبط الجودة المعتمدة حسب المعايير والمقاييس العالمية. وبعد اجتياز اللقاح لاختبارات الجودة والمعايرة (Titration)، تضاف اليه المواد الواقية مثل اللاكت البيومين هيدرولازيت (Lactalbumin hydrolysate) وسكروز (Sucrose) أو الحليب المنزوع الدسم (Skimmed milk)، ويعبأ فى قناني لتجفيده .

بعد اتمام عملية التجفيد، ترسل عينات عشوائية من اللقاح المجفد لمختبر ضبط الجودة للقيام باعمال الفحص للخلو من التلوث (Sterility)، والعياريه (Titre)، والسلامة (Safety) والخلو من الشوائب الخارجية (Extraneous agents)، والفعالية (Potency)وثبات اللقاح (Stability). ويترك نحو 5٪ من الزرع النسيجي دون حقن بالفيروس، لمراقبة عدم وجود الاثر الاستسلامي (CPE) أو تلوث بالبكتريا أو الفطريات أو الميكوبلازما .

هذا وقد تم حديثاً تطوير طريقة الزرع الخلوي بغرض توفير اعداد كثيرة من الخلايا تلائم احتياجات اللقاح المطلوب انتاجه، وذلك باستخدام طريقة الزرع فى المخمر، والتى

تشبه الى حد كبير طريقة التخمير المستعملة لانتاج اللقاحات البكتيرية وتتيح هذه الطريقة زرع الخلايا فى بيئة تؤمن الوسط الغذائي اللازم للخلايا بكميات ثابتة ومستمرة، واجلاء نواتج التحول الغذائي، والمحافظة على درجة حرارة، وضغط مناسب من الاوكسجين، بالاضافة الى تعديل درجة الحموضة بصفة مستمرة.

### 1-4-2-2 إنتاج اللقاحات الفيروسية الميته :

يمر إنتاج اللقاحات الفيروسية الميتة بنفس مراحل انتاج اللقاحات الحية الموهنة ولكن يتم تعطيل أو قتل الفيروس باستخدام مواد كيماوية (مثل الفورمالين، BE1 أو بيتا بروبيولاكتون) أو الحرارة أو أشعة جاما أو الاشعة فوق البنفسجية . بعد التأكد من التعطيل التام للفيروس يتم ادمصاص الفيروسات على الالمونيوم هيدروكسيد فى شكل سائل أو على مخلول زيتي مائي. يتم اخذ نماذج من اللقاح قبل التعطيل وأخري بعد التعطيل. وتخضع هذه النماذج الى كافة اختبارات الجودة المقررة.

### 1-4-2-3 اللقاحات الفيروسية على البيض المخصب :

يستخدم البيض المخصب الخالي من امراض معينة (SPF) فى انتاج العديد من اللقاحات الفيروسية، خاصة لقاحات الدواجن الفيروسية، وبعد الحصول على البيض المخصب يتم تطهير القشرة الخارجية باستعمال مواد كيماوية مطهرة مثل الكحول أو الفورمالين ، ويحضن فى الحاضنات مع ضبط كافة الشروط اللازمة لنمو الجنين، مثل الرطوبة ودرجة الحرارة والتقليب.

هذا ويختلف العمر المناسب لاستخدام البيض المخصب فى إنتاج اللقاح باختلاف نوع الفيروس المراد اكثاره. وبعد حقن الفيروس فى البيض المخصب يعاد الى الحاضنة مرة أخرى.

يجرى فحص يومي للبيض المحقون لمعرفة تطور الجنين وتأثير الفيروس عليه. وبعد فترة حضانة قد تطول أو تقصر حسب نوع العترة الفيروسية المستخدمة وموضع الحقن، تتم عملية حصاد اللقاح مع أخذ الحيطة والحذر لمنع حدوث تلوث للحصاد. وعند اتمام عملية الحصاد يخضع اللقاح لعمليات التنقية والتثفيل والتركيز للحصول على السوائل التى تحتوى على الفيروس. وتؤخذ نماذج من السوائل لاختبارها حسب معايير ومقاييس

ضبط الجودة المعتمدة فى انتاج اللقاح، ويحفظ الحصاد فى درجة حرارة منخفضة (تجميد) . بعد اجتياز اللقاح لاختبارات ضبط الجودة تتم عملية التعبئة والتجفيد . وتؤخذ عينات عشوائية من اللقاح المجفد بغرض اجراء فحوصات ضبط الجودة المعتمدة على الناتج النهائي من اللقاح.

### 1-4-2-4 تعطيل نشاط اللقاحات الفيروسية :

تستخدم عدة مواد كيماوية فى تعطيل اللقاحات الفيروسية، ومن أهم المواد المستخدمة مواد الفورمالين والبيتابربيولاكتون ومجموعة الازيريدين .

**- الفورمالين :** Formalin :

تستخدم مادة الفورمالين لتعطيل نشاط اللقاحات الفيروسية، ويجب أن تكون عالية الجودة لاتحتوى على رواسب من مادة البارافورمالدهيد Paraformaldehyde . وتستخدم مادة الفورمالين على سبيل المثال للقاح النيوكاسل ولقاح طاعون الخيل ولقاح حمي الوادي المتصدع المعطلة.

**- بيتابروبيولاكتون** Beta-Propiolactone :

تستخدم هذه المادة كثيرا فى تعطيل اللقاحات الفيروسية. ولهذه المادة عدة مزايا أهمها سرعة التعطيل لنشاط الفيروسات ، كما أنها فعالة فى قتل البكتريا الملوثه، ولكن من عيوبها أنها مادة مسرطنه وغير ثابتة. وتستخدم هذه المادة على سبيل المثال لتعطيل لقاحات السعر ولقاحات النيوكاسل.

**- مجموعة الازيريدين** Aziridine Compound :

تشمل المركبات الشائعة الاستخدام من مجموعة الازيريدين، أثيلين أمين Ethyleneimine (EI)، وباينري اثيلين أمين Binary Ethyleneimine (BEI)، واستيايل اثيلين أمين Acetylethyleneimine (AEI). والمادة الشائعة الاستخدام وأقل خطورة هي مادة باينري اثيلين أمين Binary ethyleneimine (BEI) والتى يجب تحضيرها مباشرة قبل الاستخدام . الفائض من المادة يجب أن يعادل باضافة مادة صوديوم ثايوسلفيت Sodium thiosulphate .

### 1-4-2-5 : المواد المساعدة Adjuvants للقاحات الفيروسية المعطلة :

تضاف أنواع عديدة من المواد المساعدة للمناعة للقاحات المعطلة النشاط، ومن أهم

المواد المستخدمـــة، مادة هيدروكسيد الالومينيوم Aluminium hydroxide gel ومادة الافريدين (Aviridine) والزيت المعدنى .

- **هيدروكسيد الالومينيوم :**

تستخدم هذه المادة فى العديد من اللقاحات الفيروسية، مثل لقاح النيوكاسل ولقاح الحمي القلاعية.

- **الافريدين** Avridine :

تضاف هذه المادة الكيماوية المصنعة للعديد من اللقاحات المعطلة النشاط، مثل لقاحات النيوكاسل.

- **مستحلب الزيت المعدنى :**

يستخدم مستحلب الزيت كمادة مساعدة للمناعة مع العديد من اللقاحات الفيروسية المعطلة النشاط (الميته)، وغالبا مايستخدم المستحلب الذى يحتوى على الماء فى الزيت. فالزيوت المعدنية المستخدمة لتحضير هذا النوع من المستحلب تشمل ماركول 52 (Marcol 52)، وداركيل Darkeol وبياول ف Bayol F . وأما المواد المذيبة التى تستخدم فى عملية تحضير المستحـلب ، فتشـمل مادة ارلاسيل أ (Arlacel A)، ومنتانيد 80 (Montanide 80) ومنتانيد 888 ( Montanide 888) .

**5-1 : لقاحات الاوليات الطفيلية** (Protozoal parasites) **والريكتسيه** (Riekettsia):

توجد أربعة أمراض طفيلية رئيسية تصيب العديد من أنواع الحيوانات فى المنطقة المدارية وتحت المدارية، تسببها الاوالى الطفيلية والريكتسيه، وتنتقل هذه الامراض من الحيوانات المصابة بواسطة القراد Tick-borne diseases (TBDs) وهـذه الامراض الاربعة هي :

- داء البابيزيا Babesiosis .
- داء الانابلازما Anaplasmosis .
- داء الريكتسيا Rickettsiosis .
- داء الثيليريا Theileriosis .

### 1-5-1 لقاحات حمي القراد (Tick fever vaccines) :

يطلق لفظ حمي القراد على إصابة الابقار بواحدة أو أكثر من الطفيليات التالية :

- انابلازما مارجينيل Anaplasma marginale .
- بابيزيا بوفس Babesia bovis .
- بابيزيا بايجمينا Babesia bigemina .

والمقصود بلقاحات حمي القراد، هي اللقاحات التى تستعمل لتحصين الابقار ضد الامراض التى تسببها هذه الطفيليات . ولانتاج لقاح ضد هذه الامراض، يتم أولا ترويض الطفيل وتحضير بذور اللقاح لاستخدامها فى الانتاج. وتجدر الاشارة الى أن المكونات الرئيسية للقاحات حمي القراد هي الدم المحتوى على الطفيل.

#### 1-1-5-1 لقاحات داء البابيزيا : Babesia vaccines :

لترويض طفيل البابيزيا بوفس B.bovis، يجب تمريره 11 مرة على الاقل، وعموماً يتم تمريره 20 تمريره متتالية فى عجول مستأصل منها الطحال، وذلك بغرض التخلص من الملوثات لمادة بذور اللقاحات. أما بالنسبة للطفيل بابيزيا بايجمينا B.bigemina فيمرر الطفيل كل 3 شهور فى العجول، ثم يتم بعد ذلك إستئصال الطحال، وبهذه الطريقة يمكن التقليل من ضراوته. ايضا استخدمت المزارع المستمرة Continuous Cultures لزراعة الطفيل بابيزيا بوفس (B.bovis) وبابيزيا بايجمينا (B.bigemina) فى المختبرات بغرض إنتاج اللقاح. واستخدمت من أجل ذلك الدوارق المقفولة. وقد اثبتت الابحاث أن نسبة من التغيير الجيني الوراثي تحدث لطفيل البابيزيا بوفس (B.bovis). هذا وقد أجريت عدة محاولات لاستخدام مستخلصات من الطفيل أو الدم الذى يحتوى على الطفيل لانتاج لقاح ضد البابيزيا. كما جربت أيضا الزرع الخلوي لانتاج لقاحات تحتوى على المستضدات الخارجية لطفيل البابيزيا بوفس (B.bovis) والبابيزيا بايجمينا (B.bigemina) بغرض استخدام هذه اللقاحات فى الدول النامية. الا أن مستوى الحصانة الناتجة من استخدام هذه اللقاحات أقل من الحصانة الناتجة من استخدام اللقاحات الحية.

#### 2-1-5-1 لقاحات داء الانابلازما Anaplasmosis :

أما بالنسبة لطفيل الانابلازما Anaplasma ، فيستخدم الطفيل انابلازما سنترال

(A.Centrale) لانتاج اللقاح، نسبة لامراضيته الضعيفة. ويجمع الدم لانتاج اللقاح من العجول المستأصل منها الطحالات والمصابة إصابة حادة بالطفيل، حيث يتم انتاج اللقاح ويحفظ مجمدا أو مبردا. أما اللقاحات الميتة، فتتكون من مستحضر لقاح من الطفيل مضافاً اليه مادة مساعدة للمناعة (adjuvant) . تعطي هذه اللقاحات حصانة جزئية ضد الانواع الضارية من الطفيل، وقد لوحظ أن مستوى الحصانة أقل من مستوى الحصانة عند استخدام اللقاح الحي. كما تم ايضا انتاج لقاح يحتوى على ذريرات الطفيل فى شكل نقي، وقد اثبت هذا اللقاح فعاليته عند الاستخدام.

### 3-1-5-1 لقاحات داء الريكتسيا Heartwater vaccines

إن داء الريكتسيات فى الابقار يسببه الطفيل كاوديريه رومينتم (Cowdria ruminantium) . ويتكون اللقاح من الدم المصاب بالطفيل. ويتم انتاجه بحقن ضأن ثم تجمع دمائه عندما تصل الطفيليمه (Parasitaemia) أقصى حد لها (9–10 أيام)، أو يتم إنتاجه بسحن القراد المصاب بالطفيل وترشيحه وجمع السوائل المرشحة وحفظها عند درجة حرارة 70 الى 196 درجة مئوية تحت الصفر لحين استخدامها لتحصين الضأن والابقار ضد المرض. واستخدم مستحلب من حوريات القراد (nymphs) من نوع أمبليوما هيبرديوم Ambylomma hebraeum لتحصين الحيوانات ضد الاصابة بالطفيل. وقد اتضح أن المناعة المتولدة من استخدام هذا اللقاح شبيهة بالمناعة المكتسبة عند استخدام اللقاح الذى يتكون من الدم المحتوى على الطفيل. وحديثا تم استخدام الزرع النسيجي للخلايا البطانية (Endothelial cells) المأخوذة من الابقار أو الضأن لزراعة الطفيل. وثبت أنه باستخدام الزرع النسيجي يمكن ترويض الطفيل دون فقدانه لقدرته المناعية.

### 2-5-1 لقاحات داء الثيليريا Theileria vaccines :

يتم ترويض الطفيل ثيليريا انيولاتا (Theileria annulata) بتمريره على الزرع النسيجي للخلايا اللمفاوية Lymphoblastoid cells المستنبته على بيئة ايجل Ea-gle) (MEM، أو على بيئة (RPMI 1640) . أما بالنسبة للقاح الطفيل ثيليريا بارفا Theileria parva، فيتم أولا إنتاج الحيوانات البوغية (Sporozoites) باصابة حوريات (nymphs) القراد من نوع ريبسفلس ابندكيولاتس (Rhipicephalus ap-

pendiculatus)، ثم تتم تغذية الطور النهائي فى أرانب لمدة 4 أيام، يجمع بعدها القراد ويسحن فى بيئة MEM تحتوى على نسبة 3.5٪ من مادة البومين البلازما من الابقار (الجزء الخامس) Bovine plasma albumin (Fraction V)، وذلك لتعليق الحيوانات البوغيه، واضافة المواد الواقية وحفظها عند درجة حرارة (-196 درجة مئوية) ، ليستخدم اللقاح مع المضاد الحيوي التتراسايكلين لتحصين الابقار وتسمي طريقة التحصين هذه بطريقة الاصابة والمعالجة Infection and Treatment method كما تم أيضا انتاج لقاح ضد الطفيل ثيليريا انيولاتا (Theileria annulata) يتكون من الحيوانات البوغيه (Sporozoites) ولكن لم يتم تقويمه فى الحقل .

هذا وقد يتم عزل وتعريف وحفظ بذور لقاح الثيليريا، وفقاً للطرق المتبعة لعزل وتعريف وحفظ بذور لقاحات الثيليريا، التى تم نشرها وتوثيقها فى منشورات منظمة الاغذية والزراعة FAO . ويتم تعريف الطفيل وفقاً للأسس التالية :

- التوزيع الجغرافي Geographical distribution .
- نوعية الحامل Vector specificity .
- الشكل الظاهري Morphology .
- الامراضية Pathogenicity .
- الاختبارات المصلية Serological tests .
- المناعة المتصالبه Cross immunity .
- مسابير (كواشف) الحامض النووي (DNA Probes) .

### 6-1 الطرق المتبعة فى انتاج لقاحات التحصين ضد الطفيليات متعددة الخلايا:

إن المحاولات التى جرت لتطوير إنتاج لقاحات ضد الطفيليات، لم تكن ناجحة بقدر النجاح الذى أمكن تحقيقه بالنسبة للكائنات الدقيقة من الفيروسات والبكتيريا . فبالرغم من البحث الطويل المضني لعشرات السنين، الا أن هناك فقط لقاحين أنتجا على المستوى التجاري ويتوفران حاليا فى السوق العالمي :

- لقاح طفيل الابقار Dictyocalus viviparus
- لقاح طفيل الضأن Dictyocalus filaria

ويوضح العرض التالي الاستراتيجيات الرئيسية، التى أتبعت لانتاج لقاحات ضد الطفيليات متعددة الخلايا، وأغلب هذه المحاولات تم على مستوى الابحاث.

### 1-6-1 التحصين باسلوب الاصابة المتحكم فيها (Controlled infection) :

تاريخيا بدأت محاولات السيطرة على الامراض الطفيلية، بمحاولة تعمد احداث إصابة طفيفة بالطفيل حتى تصير هناك مناعة طبيعية تقي فى حالات الاصابة الشديدة بنفس الطفيل وقد اتبع أسلوب الاصابة بالطفيل ثم المعالجة بالعقاقير والادوية، بحيث تبقي أعداد بسيطة من الطفيليات فى جسم الحيوان لتسبب فى اكسابه المناعة. ولقد استخدمت هذه الطريقة فى حالات الاصابة بطفيل الكوكسيديا فى الدواجن وفى الارانب، كما استخدمت فى حالات تجريبية كثيرة أخرى، منها حالات الاصابة بطفيل Echino-coccus granulosus فى الكلاب. وفى أغلب هذه المحاولات كان النجاح الذى تحقق نجاحا جزئيا، إذ أن عنصر المخاطرة يظل واردا نتيجة عدم إمكانية التحكم فى المرض، كما أن من مساوىء هذه الطريقة أنها تلوث البيئة ببيض الطفيليات، مما لايساعد على إستئصال الامراض الطفيلية، وايضا ظهور حالات من مقاومة الطفيليات للادوية والعقاقير المستعملة فى علاجها.

### 2-6-1 التحصين بواسطة الطفيليات الميتة ومستخلصات الطفيليات :

أغلب الدراسات التى جربت للتحصين بطفيليات ميتة، كانت نتائجها مخيبة للآمال وكان معدل الحماية فى هذه الدراسات متدنيا جدا إن لم يكن معدوما . كما كانت فى بعض الحالات تنشأ مناعة ولكن سرعان ماتختفي . وقد اثبتت الدراسات اللاحقة أن استخدام افرازات الطفيليات من نواتج الايض الطفيلي وبعض مستخلصات الاطوار المختلفة للطفيليات كلقاحات، قد تكون أفضل من سابقتها فى تكوين المناعة، لان هذه المنتوجات البيولوجية لها القدرة على تكوين اضداد لها قدرة على التفاعل والتداخل فى عمل بعض الوظائف الحيوية للخلية الطفيلي وعلى سبيل المثال أدى التحصين بمستخلص الطور الكامل لطفيل H.Contortus الى تقليل كميات الديدان فى الضأن الذى تلقي

اللقاح مقارنة مع الضأن الذى لم يتلق هذا اللقاح، كما أعطى التحصين بمستخلصات من طفيليات الديدان الشريطية. Echinococcus sp. - Taniea sp نتائج لابأس بها من مستوى الحماية فى الحيوانات المحصنة. وعموما فان التحصين بواسطة المستخلصات غير النقية (Crude extract) من يرقات الديدان الشريطية Cestodes أو الحيوانات الاوالى (Protozoa) (البروتوزوا)، كانت أكثر نجاحا من لقاحات باقي الانواع الاخرى من الطفيليات.

### 3-6-1 التحصين بواسطة الطفيليات الحية الموهنة :

نسبة للصعوبات التقنية فى التعرف على وعزل وتصنيع الانتيجينات النقية، اتجه التفكير الى استخدام طفيليات موهنة على غرار ماهو الحال بالنسبة للفيروسات والبكتيريا المستخدمة كلقاحات حية موهنة .

ولقد وقع الاختيار على بعض أنواع الطفيليات غير الممرضة طبيعيا، والتى لها قدرة تحصينية مقبولة. ومثال لهذه الطفيليات ذات الامراضية الطبيعية الضعيفة مايلى :

- طفيل التوكسوبلازما Toxoplasma gondi .
- طفيل التريبانوسوما (المثقبات) Trypanosoma cruzi .

ولقد أستخدمت هذه الطفيليات لعمل لقاح للحيوانات على مستوى تجريبي وأعطت نتائج مشجعة، أما عملية التوهين بالنسبة للطفيليات الضارية فلقد استخدمت عدة طرق لتحقيقها تشمل:

- الزراعة الصناعية فى المعمل (In vitro culture) .
- المعاملة بالعقاقير والادوية .
- الزرع المستمر فى حيوانات عائل غريبة .
- التوهين بواسطة الاشعة .

إن إعطاء الجرعات المناسبة من الاشعاع، تعمل على منع تكاثر الطفيل طبيعيا لكنها لاتؤثر على النشاط الايضي، بحيث يستطيع الطفيل أن يستمر ويفرز بعض الانتيجنات المهمة التى تعمل على تكوين اضداد مناعية .

وقد يتبين أن اللقاحات الموهنة بفعل الاشعاع (Irradiated vaccines)، قد لاتصل فى عملها الى الحماية الكاملة، ولكنها تعمل على تحفيز المناعة التى تقلل من الاثار الإمراضية السالبة فى جسم الحيوان المحصن، وخير مثال لذلك لقاح الديدان الرئوية فى الابقار (D. viviparus)، الذى ظل يستعمل فى المملكة المتحدة وأوروبا على نطاق واسع منذ نهاية الخمسينيات .

وقد فتح هذا النجاح الباب أمام محاولات أخرى لاستخدام طفيليات مضعفة بالاشعاع. ففى الهند مثلا نجحت الجهود لانتاج لقاح فعال بنفس التقنية المستخدمة لانتاج لقاح ضد الديدان الرئوية فى الضأن (D. filoria) . كما جرت محاولات لانتاج لقاح ضد نيماتودا الامعاء الصغيرة فى الكلاب (Ancylostoma caninum)، وبالرغم من نجاح هذا اللقاح الاخير معمليا، الا أن إنتاجه تجاريا قد فشل نسبة لبعض الاثار الجانبية، ولقصر فترة ثباته والتى تعتبر من مساويء اللقاحات الموهنة بالاشعاع .

# الباب الثاني
# الاتجاهات العالمية
# لاستخدام التقانات الحديثة والحيوية
# في إنتاج اللقاحات البيطرية

# الباب الثاني

# الاتجاهات العالمية
# لاستخدام التقانات الحديثة والحيوية
# في إنتاج اللقاحات البيطرية

## 2-1 : تمهيد :

تشمل التقانات الحيوية عدة أساليب ووسائل تقنية ذات أبعاد واستخدامات كثيرة في العديد من الصناعات، مثل الصناعات الدوائية والزراعية والانتاج الحيواني والطاقة والتعدين والصناعات الكيميائية والغذائية ومعالجة القمامة والصرف الصحي والغابات وغيرها. وتختلف سرعة استخدام هذه التقانات وتطبيقاتها في المجالات سابقة الذكر، حيث أنها أكثر استخداما في مجال التصنيع الدوائي منه في القطاعات الاخرى، ويرجع ذلك لعدة اسباب أهمها الاختلاف في تحديد الاولويات عند متخذي القرار في المجال المعني والاختلاف في تطور المعرفة في ذات المجال والقدرة التنافسية للسلع المنتجة باستخدام التقنية الحيوية وغيرها من الاسباب. وعموما فان التطبيقات المتنوعة للتقانات الحيوية قد أتسعت لتشمل عدة مجالات تهدف في النهاية الى تحسين صحة الانسان والحيوان والبيئة.

إن التقدم العلمي في مجال علوم الوراثة والهندسة الوراثية والمناعة، قد واكبه تقدم كبير في انتاج مواد بيولوجية لها استخدامات في مجال تشخيص الامراض وفي مجال أنتاج اللقاحات. ومن اللقاحات المنتجة باستخدام التقانات الحديثة في مجالي الاحياء الجزيئية والهندسة الوراثية مايلي :

- اللقاحات الجزيئية (مادون الخلية) Subunit vaccines .
- لقاحات الببتيدات المصنعة Synthetic peptides .
- اللقاحات ذات الصفات الوراثية المحذوفة Deletion mutants vaccines.

- اللقاحات المحمولة Recombinant vaccines.
- لقاحات الاضداد المولدة لاضداد أخرى Anti-idiotype vaccines.

## 2-2 أسباب ومبررات إنتاج لقاحات جديدة باستخدام التقانات الحديثة والحيوية :

إن من الدواعي التى أدت الى الاهتمام بالعمل على تصنيع لقاحات جديدة عن طريق استخدام التقانات الحديثة والحيوية مايلى :

- الكائنات الدقيقة المضعفة والموهنة المستعملة حاليا فى العديد من اللقاحات الحية، غير ثابتة وقابلة للتحول الى ميكروبات ضارية مرة أخرى نتيجة للتغيير فى التركيب الوراثي للميكروب (Mutation).
- العديد من الميكروبات غير قابلة للتكاثر صناعيا فى المختبر.
- العديد من الميكروبات تحتوى على العديد من الجزيئيات والمكونات الخطرة التى لايمكن التخلص منها صناعيا.
- بعض الميكروبات لها القدرة على التغيير الدائم والمتواصل فى تركيبها الوراثي، وبالتالى فى مكوناتها الانتيجينية (Antigenic variation).
- بعض الميكروبات ليس لها القدرة على إثارة الجهاز المناعي فى الكائن الحي للدرجة الكافية لاحداث حالة مناعية مقبولة.
- وجود عدد من المكونات الانتيجينية غير المسئولة عن تسبيب الحماية فى اللقاح، يضعف من فعالية اللقاح، ولذلك يستحسن أن يحتوى اللقاح فقط على الانتيجينات المسؤولة عن تسبيب ردود الفعل المناعية المطلوبة فى الحيوان المتلقي للقاح.
- بعض اللقاحات الجزيئية المحتوية على أحد مكونات الكائنات الحية المستخلصة بالطرق الفيزيائية أو الكيميائية ليس لها الفعالية المطلوبة.
- وجود بعض المشاكل الفنية المتعلقة بانتاج لقاحات بالطرق التقليدية ، مع ارتفاع تكلفة إنتاجها .

### 2- 3 اللقاحات الجزيئية البكتيرية (مادون الخلية) (Subunit vaccines) المنتجة بالطرق الفيزيائية والكيميائية :

تشمل مكونات الخلية البكتيرية التى أستخدمت كلقاحات جزيئية المحفظة (Capsule)، وبروتينات الاغشية الخارجية (Outer membrane proteins)، ومركبات عديدات السكريات الدهنية (Lipopolysaccharides)، والسموم (الذيفانات) المقاومة للحرارة (Heat stable toxins ) ، والريبوزومات والبروتينات الداخلية (Ribosomes and internal proteins) وأهداب الحركة (Flagella).

هذا وقد اعطت دراسات الفعالية لهذه اللقاحات نتائج متفاوته، ويرجع ذلك للاسباب التالية :

- اختلاف طرق إستخلاص المكونات البكتيرية .
- تباين درجة النقاء للمستخلص ولمكونات الخلية البكتيرية .
- نوع الحيوان الذى جربت فيه هذه اللقاحات .

ويتطلب تحضير اللقاحات الجزيئية بالطرق الفيزيائية والكيميائية ، استخدام أحد أو عدد من التقانات المعقدة، ويتوقف الامر على طبيعة الجزيء المراد تحضيره وعزله ودرجة نقاءه، ففى أغلب الاحوال يبدأ الامر بتكسير الخلايا البكتيرية، ومن ثم عزل وفصل الجزء المطلوب من الخلية البكتيرية.

### 2-3-1 تقنيات تكسير الخلايا البكتيرية :

يمكن استخدام أحد أو عدد من الطرق الفيزيائية أو الكيميائية لتكسير الخلايا البكتيرية وفيمايلى إستعراض لبعض منها :

#### 2-1-3-1 التكسير بواسطة قوة الضغط (Pressure shearing) :

وتعد هذه الطريقة من أكثر الطرق استخداما، وفيها تتعرض الخلايا البكتيرية الى قوة ضغط هائلة قد تصل الى عشرة اطنان، مما يؤدى الى تكسير الخلايا البكتيرية، ومثال لذلك إستخدام خلية الضغط الفرنسية (French pressure cell) .

### 2-1-3-2 التكسير بواسطة قوة الذبذبات فوق الصوتية (Ultrasonic disintegration) :

تعتبر هذه الطريقة من أسهل الطرق لتكسير الخلايا، ويستخدم فيها جهاز الذبذبات فوق الصوتية (Sonicator) لتكسير الخلايا البكتيرية، ومن مساوىء هذه الطريقة أنها قد تؤدى الى تكسير الجزيئيات الداخلية للخلية البكتيرية بعد تكسير جدران الخلية، ولهذا السبب تستخدم هذه التقنية بحذر شديد ولفترة قصيرة من الوقت.

### 2-1-3-3 التكسير بواسطة قوة الضغط الازموزي (Osmotic lysis) :

تستخدم هذه الطريقة باضافة محاليل ملحية مخففة أو الماء المقطر الى الخلايا البكتيرية ممايؤدى الى تكسير تلك الخلايا والحصول على البروتوبلاست (Protoplast) أو السفاروبلاست (Spharoplast) .

### 2-1-3-4 الهضم الانزيمي (Enzymatic digestion) :

يمكن استخدام أنزيمات اللايسوزيم (Lysozyme) لتحضير البروتوبلاست من الخلية البكتيرية الموجبة لصبغة جرام. ومن الانزيمات الاخرى الشائعة الاستعمال مجموعة الميراميدايز (Muramidases) المتوفرة تجاريا مثل انزيم اللايسوستافين (Lysostaphin) المستخلص من البكتيريا العنقودية الذهبية. أما بالنسبة لخلايا البكتيريا السالبة لصبغة جرام، فيجب ازالة الغلاف الخارجي أولاً قبل أن يتمكن إنزيم اللايسوزيم من اكمال عمله. ويتم ذلك بالتسخين والتبريد أو باضافة بعض المواد الكيميائية مثل مادة (EDTA) أو المضادات الحيوية (Polymyxin B) التى تؤثر على الغلاف الخارجي لهذه الخلايا.

### 2-1-3-5 : التكسير بواسطة قوة الطحن (Grinding) :

يمكن تكسير الخلايا البكتيرية باستخدام أجهزة طحن خاصة بعد اضافة بدرة الالمنيوم لخلايا البكتيريا الجافة أو المحضرة فى شكل عجينة.

### 2-1-3-6 التكسير بواسطة التبريد والتسخين (Freezing & thawing) :

تستخدم هذه الطريقة للحصول على كميات كبيرة من أغلفة (Membranes) أو جزيئيات البكتيريا الداخلية (Cell organells) وتعمل هذه الطريقة على خلخلة الجدار

البكتيري الخارجي، مما يسهل وصول أنزيم اللايسوزيم للاجزاء الداخلية للبكتيريا.

### 2-3-2 تقنيات فصل وعزل جزيئيات البكتيريا المختلفة :

هناك العديد من الطرق الفيزيائية والكيميائية التى تستخدم لفصل وعزل جزيئيات الخلية البكتيرية المختلفة. بعد تكسيرها يتوقف إختيار الطريقة التى ستتبع على نوع الجزيئى الذى يراد عزله وفصله وفى أغلب الاحوال تستخدم هذه الطرق مع بعضها البعض حسب ترتيب محدد وعلى أهم الطرق والتقنيات الشائعة الاستعمال لهذا الغرض :

#### 2-3-2-1 التشفيل بأنواعه المختلفة :

باستخدام أجهزة الطرد المركزية (Centrifuges) وعلى سرعات متفاوته مثال لذلك :

- Differential centrifugation.
- Rate zonal centrifugation.
- Equilibrium density gradient.

وتستخدم هذه الطرق لتشفيل الخلايا البكتيرية الكاملة أو أحد مكوناتها، مثل غلاف الخلية الداخلي أو الخارجي، والرايبوزمات (Ribosomes)، والبوليسومات (Polysomes) والاغشية الخلوية (Cell membranes).

#### 2-3-2-2 أستخدام المنظفات الشواردية (الايونية) (Ionic detergents):

أن لهذه المركبات قوة شديدة للاتحاد مع بروتينات الخلية، وتعمل بالتالى على تغيير تركيب وشكل البروتينات الخلوية مثل مركب (Sodium dodecyl sulphate) ومركب Sarkosyl. (Sodium N- Lauryl Sarcosinate).

#### 2-3-2-3 تقنية الرحلان الكهربائي لفصل البروتينات فى هلامة البولي اكريل اميد (Polyacrylamide Gel Electrophoresis/PAGE) :

وباستخدام هذه التقنية يمكن عزل جزيئيات المادة الوراثية (DNA/RNA) فى جل الآجاروز (Agarose Gel) بأستخدام نفس التقنية ومن ثم نقلها كهربائيا Electrotransfer من الهلامة الى أغشية أخرى، ومن ثم عزلها وجمعها فى صورة نقية .

### 4-2-3-2 إستخلاص محفظة الخلية البكتيرية Extraction of Bacterial Capsules :

تستخلص محفظة عدد كبير من أنواع البكتيريا بواسطة استعمال المحاليل الملحية، مع التسخين على درجة 65 مئوية، ثم الترسيب واستخلاص غلاف المحفظة النقي المحتوي على مركبات عديدات السكريات (Polysaccharides) من السائل الفوقي (Supernatant)، وذلك بعد معاملته كيميائياً بمادة كلوريد الستيلبريدنسيم (Cetylpridinisum)، وبكلوريد الصوديوم وكحول الميثانول .

### 5-2-3-2 إستخلاص مركبات عديدات السكريات الدهنية Lipopolysaccharides :

هي فى أغلب الاحوال عبارة عن أنزيمات ، كانزيم الفوسفاتيز (Phosphatase enzyme) أو أنزيم البروتياز (Protease enzyme) أو مركب الميورين البروتيني الدهني (Murine Lipoprotein) . كما تشمل هذه المجموعة قنوات البورين التى توجد على جدار الخلايا البكتيرية وتعمل على نقل السوائل والمركبات الجزيئية (Molecules) من والى داخل وخارج الخلية البكتيرية. ومن بروتينات الخلايا البكتيرية الخارجية ايضا مجموعة المستضدات البروتينية (Protein receptors) التى توجد على سطح الخلايا .

### 6-2-3-2 استخلاص البروتينات الخارجية :

تستخلص مجموعة البروتينات الخارجية بطرق متعددة، ويعتمد ذلك على نوع البروتين الذى يراد استخلاصه وعزله. ولقد أستخدمت مجموعة البروتينات الخارجية كلقاحات للاسباب الاتية :

- عدم فعالية المركبات عديدة السكريات التى تشكل دعامة المحفظة البكتيرية (Capsule) لعدد من البكتيريا السالبة لصبغة جرام كلقاحات.
- التأثير السمي الضار لعدد من لقاحات البكتيريا السالبة لصبغة جرام نتيجة لوجود مادة الـ LPS بها .
- الخطورة المترتبة على أستعمال اللقاحات الحية فى بعض الاحيان، وذلك لاحتمال التغير الوراثي، الذى قد يؤدى التى تحول البكتيريا المروضة المضعفة الى بكتيريا ممرضة.

- إمكانية تطوير صناعة وإستخدام اللقاحات المركبة باستخدام تقنية الهندسة الوراثية .
- للدلائل التى تشير الى فعاليتها كلقاحات.

### 2-3-3 تحديد درجة نقاء جزيئيات الخلية البكتيرية المستخلصة :

تستعمل اختبارات الكيمياء الحيوية (Biochemical assays)، لتحديد درجة نقاء جزيئيات البكتيريا المستخلصة بالطرق السالف ذكرها، وذلك لتحديد كمية المواد السكرية (Carbohydrates). ويمكن استخدام طريقة الفينول وحامض الكبريتيك، وأستخدام سكر الجلكوز كمادة مرجعية لتحديد كميات المواد السكرية المختلفة.

أما لتحديد كمية البروتين النقي، فتستخدم إما طريقة لاوري (Lowry) أو طريقة برادفورد (Bradford) مع استعمال مادة الالبيومين المحضر من مصل الابقار كمادة مرجعية لتحديد كمية البروتينات.

لتحديد كميات المركبات عديدة السكريات الدهنية (LPS)، يمكن استخدام طريقة (Amoebocyte Limulus assay) المشتقة عن طريقة بانق ولفين (Bang and levin) .

### 2-4 اللقاحات الجزيئية البكتيرية المنتجة بالتقانات الحيوية :

يمكن استخدام التقنيات الحيوية كتقنيات الاحياء الجزيئية (Moleculer bi-ology) وتقنيات الهندسة الوراثية (Genetic engineering)، لانتاج لقاحات جزيئية (subunit vaccines) لعدد من الكائنات الدقيقة والطفيليات .

عادة يتم ذلك بعزل المادة الوراثية التى تتكون من الاحماض النووية (DNA/ RNA) الموجودة فى الخلية. ومن ثم فك الارتباط بين الضفائر المزدوجة من الحامض النووي (C-DNA)، ونسخ الشرائط الاحادية المفككة (Single strands of DNA) . بعد ذلك يتم التعرف على ترتيب النيكوليتدات (Nucleotides)، وتحدد مكونات ومواقع وعمل المورثات (Genes) الموجودة على شريط الحامض النووي. ليتم تحديد الجينات المرغوب فيها والتى قد تكون مسئولة عن تكوين الانتيجينات الحامية (Protective antigens) والمواد الهامة التى يجب توفرها فى اللقاح لتكوين المناعة

في الحيوان المحصن . وتربط هذه الجينات المرغوبة الى حوامل وراثية تعرف بالبلازميدات (Plasmids) والتى تغرس فى الحامض النووي لعائل آخر، قد يكون خلية بكتيرية أو فيروس أو خلية فطر أو خميرة أو خلية حيوان ثديى أو خلية نباتية.هذا و تسمح الجينات المحمولة على الحامض النووي المعاد تشكيله (Recombinant DNA) بأضافة صفة مهمة أو وظيفة جديدة لم تكن موجودة فى الخلية العائل من قبل. كما يمكن أن تسمح بانتاج البروتينات أو الانتيجينات المرغوبة بعد اكثار أو تناسخ الخلايا العائل فى المنابت الطبيعية، ومن ثَم يمكن فصل واستخلاص المواد المرغوبة فى صورة نقية واستخدامها كلقاح .

بالنسبة لهذا النوع من التقانات، فلقد أمكن استخدامه لانتاج لقاح فعال ضد جزيىء بيتا (E.coli B toxin) من سم البكتيريا الاشريكية القولونية غير الممرضة. كما وأمكن أنتاج البروتينات السطحية للاغشية الخارجية لبكتيريا البروسيلا فى بكتيريا الاشريكية القولونية. وأمكن أيضا بهذه الطريقة إنتاج لقاحات فعالة ضد الاهداب الصغيرة المسئولة عن التصاق البكتيريا الاشريكية القولونية بجسم العائل (E. coli attach-ment pili)، وهكذا أمكن الحماية من هذه البكتيريا الممرضة بانتاج لقاح يعمل على إنتاج أضداد (Antibodies) تتحد مع أهداب الالتصاق فى البكتيريا وتمنع التصاق البكتيريا بجسم العائل (فى الامعاء الدقيقة) وتقى بالتالى من المرض.

### 5-2 لقاحات الطفرات البكتيرية محذوفة الجينات (Deletion mutants):

يمكن باستخدام تقنية الهندسة الوراثية التعرف على وفصل وحذف المورثات (الجينات) المسئولة عن بعض الصفات والنشاطات غير المرغوب فيها .

مثل الجينات المسؤولة عن الخاصية الامراضية (Pathogenicity) أو الضراوة (Virulence) أو أنتاج السموم (Toxin production)، بحيث يصبح الميكروب الجديد بعد الحذف طفرة بكتيرية فاقدة لصفة محددة، أو غير قادرة على تسبيب المرض فى الحيوان بعد حقنها فيه. وقد أستخدمت هذه التقنية بنجاح لانتاج لقاحات على درجة عالية من الامان ضد بكتيريا السالمونيلا فى الانسان (Salmonella typhi) ، السالمونيلا فى الفئران والضأن والابقار (Salmonella typhimurium)، بكتيريا

الشيقلا فى القرود (Shigella flexneri) ، كما أنتجت لقاحات آمنة عن طريق حذف جينات الضراوة من الحامض النووي لبكتيريا البروسيلا الممرضة للابقار (Brucella abortus) .

### 6-2 اللقاحات البكتيرية المحمولة (Bacterial Recombinant Vaccines)،

إن المورثات (الجينات) المسئولة عن أنتاج بروتينات خاصة أو أنتيجينات مرغوبة فى اللقاحات يمكن تركيبها عن طريق الهندسة الوراثية وغرسها فى الحامض النووي الوراثي لميكروبات أخرى غير ضارة، تعمل كحاملات لهذه الجينات الجديدة فى مادتها الوراثية، وبهذه الطريقة يمكن الحصول على ناتج متعدد الفعاليات ، كما أن العترة الميكروبية غير الممرضة المستعملة كحامل (Carrier) يمكن إكثارها صناعيا، مما يمكن معه الحصول على لقاح عالي التركيز وإنتاج وفير من المكون المطلوب. ومن أكثر الميكروبات التى استعملت كحوامل هى فيروس الفاكسينيا و فيروسات الجدري (Poxviruses) . وبالنسبة للبكتيريا الاشريكية القولونية (E. coli) وبكتيريا السالمونيلا المروضة غير الممرضة، فلقد تم إستخدامهما لحمل العديد من الجينات الوراثية الغريبة المسئولة عن تكوين بعض الانتيجينات فى الغلاف الخارجي لبكتيريا البروسيلا (B. abortus)، كما أستخدمت بكتيريا السالمونيلا غير الممرضة (Apathogenic salmonella) كحوامل لجينات البكتيريا العقدية السبحية (Streptococcus mutans)، و للمادة النووية والجينات المسئولة عن انتاج سموم الاشريكية القولونية (E. coli) .

### 7-2 إستخدام علوم الوراثة والهندسة الوراثية فى الكشف عن الفيروسات :

تهتم تطبيقات وأستخدام علوم الوراثة والهندسة الوراثية فى الكشف عن الفيروسات بالاطر التالية :

- دراسة تتابع وتسلسل قواعد الاحماض النووية (Nucleic Acid Bases) بغرض تحديد مواضع الجينات .
- أنتاج مسابير (كواشف) Probes للاحماض النووية (DNA or RNA) لاستخدامها فى تحديد تتابع وتسلسل قواعد الاحماض النووية .

تحميل الجينات (Genes) على الحوامل (Vectors) لاستخدامها في انتاج مواد بروتينية مستهدفة لاستعمالها كلقاحات أو مستحضرات تشخيصية في الاختبارات المصلية (Serological tests) .

- تحديد وظائف الجينات ومنتجاتها في حالات الايض الخلوي واثناء الاستنساخ الفيروسي (Replication) وبالتالي دراسة أمراضية الفيروس.

## 8-2 اللقاحات الفيروسية الجزيئية المنتجة بالطرق الكيميائية والفيزيائية :

لقد أثبتت التجارب العلمية أن جزء أو أجزاء معينة من الفيروس (المستضدات الفيروسية)، تعتبر مسؤولة عن تحفيز الجهاز المناعي، وبالتالي فان هذه الاجزاء تلعب دورا هاما في الحصانة المناعية (Immunoprotection) . وأدى ذلك للتفكير في إنتاج اللقاحات الجزيئية، ودراسة الكيفية التي يمكن بها اعطاء اللقاح للحيوان. وكيفية زيادة القدرات المناعية لهذه اللقاحات .

ولانتاج مثل هذه اللقاحات، يتم أولا عزل وتحضير وتنقية المستضدات الفيروسية المراد إستخدامها، وذلك باستخدام الطرق الكيميائية والفيزيائية، مثل المعالجة بالمحاليل القلوية أو الاحماض أو المذيبات الكيميائية أو الحرارة ومن ثم إستخدامها كلقاحات جزيئية . ومن أشهر الامثلة لمثل هذه اللقاحات اللقاح الجزيئي للانفلونزا، والذى يحتوى على مستضدين هما الهيما جلوتين (Haemagglutinin) والنيورأمنيديز (Neuraminidase)، واللقاح الجزيئي لفيروس ليكوزس الابقار (Bovine leuko-sis، والذى يحتوى على البروتين gp51 . ويمكن حمل هذه اللقاحات على مواد مساعدة مثل الحبيبات الدهنية (Liposomes) لزيادة قدراتها المناعية. وتستخدم ايضا الطرق الكيميائية في تنويب البروتينات السكرية (glycoproteins) على سطح الفيروسات وتجميعها مع مواد مساعدة، لتكوين مركبات مستمنعة (Immunogenic) بين البروتينات والجلوكوزايد (glycoside)، ويطلق عليها اختصاراً اسكوم (Iscoms) (Immunostimulatory Complexes). ويتكون لب هذه المركبات من جلوكوزايد كويل إيه (QuilA). ومن أشهر الامثلة : اسكوم فيروس سرطان القطط (Feline leukaemia virus) والذى يحتوى على البروتينات السكرية 85/70 ،

والذى تم استخلاصه من خطوط الخلايا السرطانية FL 74 . عندما حقن هذا الاسكوم على قطط خالية من أمراض معينة أحدث أنتاج أضداد نوعية، تمت معايرتها باستخدام اختبار الروز المناعي المرتبط بالخمائر (ELISA) . واختبار التعـــادل الفيروســـي. كما تم ايضا انتاج اسكوم يتكون من البروتين بي 17 (P17) لفيروس فقدان المناعة المكتسبة (HTVL III) .

## 9-2 اللقاحات الفيروسية الجزيئية المنتجة بالتقانات الحيوية :

لانتاج اللقاحات الفيروسية الجزيئية باستخدام التقانات الحيوية ، فإنه لابد أولا من تحديد الجينات الخاصة بانتاج الاجزاء من المستضدات الفيروسية المسؤولة عن المناعة ثم تحميلها على حوامل (Vectors) لانتاج أكبر كمية منها وتنقيتها وتركيزها. هذا ويتم يتم غرس هذه الجينات فى الحوامل مثل البكتريا والخميرة وخلايا بعض الحيوانات الثديية. وكمثال لذلك استخدمت بكتريا الاشريكية القولونية (E. coli) فى انتـاج المستضدات السطحية لفيرس التهاب الكبد الفيرسي بي (Hepatitis B surface antigen)، والتى عندما حقنت على الشمبانزي اعطت قدر من المناعة. واستخدمت ايضا خلايا الحيوانات الثديية وخلايا مبايض الهامستر الصيني (Chinese hamster ovary cells) لانتاج المستضدات السطحية لفيرس التهاب الكبد الفيروسي . وباستخدام نفس التقانة تم انتاج لقاح جزيئي يتكون من البروتينات السكرية لغلاف فيروس سرطان القطط الصنف أ (Subgroup A Feline leukaemia virus) ، وذلك باستخدام خلايا الخميرة (Yeast). وعندما تمت تجربته على القطط فى إختبارات التحدى اعطى قدر من الحصانة. ايضا استخدم لقاح جزيئي منتج على بكتريا الاشريكية القولونية (E.coli) باستخدام جينات البروتين الغلافي (gp120) لفيروس فقدان المناعة المكتسب (HIV).

أستخدمت التقانات الحيوية لانتاج العديد من مكونات بعض الفيروسات التى لاتنمو بسهولة بطرق الزرع الفيروسي العادية، مثل فيروس حمي الخنازير (Swine fever virus)، وفيروس انيميا الخيول (Equine anaemia virus)، وفيروسات سرطان الجلد فى الابقار (Papilloma viruses) . وتهدف الابحاث العلمية الان لانتاج مستضدات لاجزاء من الفيروسات لاستخدامها فى الاختبارات المصلية (Serological

(tests) . وقد استخدمت ايضا فيروسات الحشرات مثل فيروس نيوكلر بولي هايدروزس (Nuclear polyhedrosis virus) لحشرة كتربلر (Caterpillar) Autographica californica ، لانتاج البروتينات السكرية ج1 وج2 لفيرس حمي الوادي المتصدع (Rift valley fever) . وقد وضح أن البروتينات المنتجة عندما حقنت على الفئران أحدثت أنتاج أضداد تعادليه .

## 10-2 لقاحات الببتيدات المصنعة (Synthetic peptides) :

إن اللقاحات الببتيدية المصنعة لابد أن تتوفر فيها الشروط التالية :

- لابد من تطابق الاجزاء الهامة من الفيروس المسؤولة عن احداث المناعة والببتيدات المصنعة . بمعنى أن تتم أولا معرفة الاحماض الامينية (Amino acids) وتسلسلها وهيئتها فى المحددات المستمنعة (Immunogenic determinants)، ومعرفة وعزل الجين المسؤول عن انتاج هذه المحددات المستمنعة .
- أن تعطي حصانة فعالة .
- تحتوى على سلسلة من الاحماض الامينية تعمل كمساعد للمناعة (Adjuvant).
- يجب أن تكون لقاحات الببتيدات المصنعة، خاصة بمرض معين (Specific) وأن لاتحدث مناعة ذاتية .
- تعطى للحيوان بطريقة سهلة .
- تحدث حصانة تبقي لفترة طويلة من غير الحاجة لاعطاء جرعات منشطة من اللقاح .

ومن أشهر الامثلة للقاحات الببتيدات المصنعة، لقاح يحتوى على الأحماض الأمينية من البروتين VPI لفيروس الحمي القلاعية (Foot and mouth virus) فى المنطقة 130-160، والذى عندما تمت تجربته على خنازير غينيا أحدث أنتاج اضداد تعادلية . ومن الملاحظات الجديرة بالذكر أنه عند إستخدام هذا اللقاح اعطى مناعة ضد أكثر من نمط مصلي. مثلا عندما استخدمت جرعة واحدة من ببتيدات النمط المصلي O أعطت

حصانة ضد المرض وضد الانماط المصلية C,A للفيروس .

تم ايضا انتاج لقاحات ببتيدات مصنعة للهيماجلوتنين ($H_3$) لفيروس الانفلونزا والمستضدات السطحية لفيروس التهاب الكبد الفيروسي (HBsAg)، مربوط على حامل بروتيني فى مساعد مناعي، وأثبت بالتجربة أن الببتيدات المصنعة للمستضدات السطحية لفيروس فقدان المناعة المكتسب (HIV)، يتفاعل مع الاضداد النوعية فى أمصال المصابين بمرض الايدز (AIDS). ولابد من الاشارة الى أن لقاحات الببتيدات المصنعة سهلة الانتاج فى شكل نقي على الرغم من ارتفاع تكلفة انتاجها.

### 11-2 اللقاحات الفيروسية ذات الصفات الوراثية المحذوفة : (Deletion mutants vaccines)

تم استخدام التقانات الحيوية فى انتاج لقاحات فيروسية تحتوى على فيروسات معدلة، إما باضافة أو ازالة واحد أو أكثر من الجينات. ومن أشهر الامثلة لمثل هذه اللقاحات لقاح مرض السعر الكاذب (Aujeszky's disease or pseudorabies) . وتحتوى لقاحات السعر الكاذب على فيروسات معدلة تم فيها، ازالة الجينات الخاصة بمركب الثيمدين كاينيز (Thymidine kinase) والبروتينات السكرية (glycoproteins) . ويمنع هذا التعديل أو يحد من تناسخ الفيروسات فى الخلايا العصبية، وبالتالي يقلل من خطورة الكمون (Latency). ويمكن ايضا من التفريق بين الاستجابة المناعية للقاح والاستجابة المناعية نتيجة الاصابة بالعترات الحقلية لفيروس السعر الكاذب (Pseudorabies virus PRV). ويطلق على اللقاحات المنتجة باستخدام هذه الفيروسات المعدلة احيانا اللقاحات الموسمة (Marker vaccines)، نسبة لازالة نوع معين من الجينات المسؤولة عن انتاج البروتين السكري ج (glycoprotein G) أو البروتين السكري سي (glycoprotein C)، أو البروتين السكري إي (glycoprotein E) . ولهذه اللقاحات المعدلة مزايا على اللقاحات التقليدية التى تستخدم فيها العترات الفيروسية غير المعدلة. لانه باستخدام اللقاحات التى تحتوى على العترات المعدلة يمكن التفريق بين الحيوانات الملقحة والحيوانات التى تعرضت للاصابة، وذلك باجراء فحوصات للاضداد النوعية باستخدام اختبارات الروز المناعي المرتبطة بالخمائر (ELISA). ولذا يحبذ استخدام مثل هذه اللقاحات فى

المناطق التى يخطط فيها لاستئصال مرض السعر الكاذب.

### 12-2 اللقاحات المحمولة (Recombinant vaccines) :

إن تقنية الهندسة الوراثية، قد فتحت الباب واسعاً لاستخدامها فى عدة مجالات، ومن بينها أنتاج اللقاحات الفيروسية باستخدام العديد من الحوامل (Vectors) الفيروسية والبكتيرية والفطرية والخلوية، حيث يتم استخدام خمائر (انزيمات) لقطع سلسلة الحامض النووي دن أ (DNA) فى أماكن محددة وبطول محدد لادخالها فى الحوامل أو أستنساخها وتقسم الحوامل الى مجموعتين :

- الحوامل التى تغرس فيها اجزاء من الحامض النووي DNA، وتشمل البلازميد (Plasmid) وعاثيات الجراثيم (Phages) والفيروسات (Viruses) وخلايا الحيوانات الثديية (Mammalian cells).
- الحوامل التى تغرس فيها اجزاء من الحامض النووي بغرض استنساخه، وتشمل بكتريا الاشريكية القولونية (E. coli) وخلايا فطر الخميرة (Yeast) وخلايا الحيوانات الثديية (Mammalian Cells) .

#### 1-12-2 الاسس العامة لاختيار الحوامل :

- يجب أن يحتوي الحامض النووي (DNA) للحامل، على أجزاء غير فعالة يمكن ازالتها وغرس قطعة بديله من DNA، من غير أن يؤثر ذلك على تناسخ الحامل.
- يجب معرفة تتابع وتسلسل قواعد الحامض النووي ومواضع القطع للانزيمات.
- يجب أن يحتوى الحامل على نظام تفريقي، يمكن به التعرف على المحمولات فى العائل المنتج مثل عدم وجود نشاط للثايمدين كاينيز (Thymidine kinase) .
- ثبات المحمولات (Recombinants) وانتاجها باعداد كافية، مع عدم استطاعتها التناسخ فى الحيوانات الفقارية (Vertebrate host) .

#### 2-12-2 أنواع الحوامل :

- **البلازميد** (Plasmid) :

يتناسخ لوحده داخل الخلية البكترية ولاينتشر من خلية الى أخرى .

- **عاثيات الجراثيم** (Phages) :

تشمل أعداد كثيرة ومن أهمها مجموعة الكولي فاجس (Coliphages) والتى تتكاثر فى بكتريا الاشريكية القولونية (E. coli).

- **الخميرة** (Yeast) :

تستخدم خلايا فطر الخميرة فى استنساخ كثير من الجينات، وبالتالى انتاج كثير من المواد المفيدة وكمثال لذلك مادة الفا انترفيرون (Alpha Interferon) والمستضدات السطحية لفيروس التهاب الكبد الفيروسي ب (Hepatitis B surface antigens).

- **الفيروسات** (Viruses) :

تستخدم كثير من الفيروسات كحوامل نذكر منها :

- **بابوبافيروس** (SV40) :

ويستخدم لانتاج العديد من المواد مثل الهيماجلوتنين (Haemagglutinin) لفيروس الانفلونزا والمستضدات السطحية لفيروس التهاب الكبد الفيروسى .

- **الفيروسات الغدية** (Adenoviruses) :

وتوجد هذه الفيروسات فى أغلب الحيوانات الثديية وبها متسع لغرس الحامض النووى .

- **فيروسات الحلأ** (Herpesviruses) :

وهذه الفيروسات بها متسع لغرس الحامض النووي، وتحتوي على الثيمدين كاينيز Thymidine kinase.

- **الفيروسات الرتروويه** (Retroviruses) :

من خواص هذه الفيروسات اندماج الحامض النووي للفيروس مع الحامض النووي للعائل.

- **الفيروسات الجدرية** Poxviruses :

من أهم الفيروسات التى تنتمي الى هذه المجموعة ، الفاكسينيا (Vaccinia virus) ومن خواصه :

- أن الحامض النووي به متسع للغرس، ويمكن استيعاب أكثر من جين، لذا يمكن أن يستخدم في إنتاج أكثر من لقاح وايضا يحتوى على الثيمدين كاينيز (TK). ومن خواصه ايضا تحفيز المناعة الخلوية (Cell mediated immunity)، والمناعة الخلطية (Humoral immunity) وقدرته على الاستنساخ من غير احداث مرض.
- اثبتت الابحاث العلمية أن اللقاحات المحمولة على فيروس الفاكسينيا (Vaccinia virus)، سهلة التجريب على الحيوانات المختبرية التى تستخدم كطراز لمرض التهاب الكبد الفيروسي ب ، والبروتينات السكرية لفيروس السعر (Rabies virus) ، وفيروس الانفلونزا (Influenza virus) والبروتينات السكرية لفيروس الحلأ البسيط (Herpes simplex virus glycoprotein D) والبروتين ج لفيروس التهاب الفم الحويصلي (Vesicular stomatitis G protein)، والمستضد سي إس للمتصورة نوليزي (P. knowlesi) وللقاح الطاعون البقري (Rinderpest) وللقاح حمى الوادي المتصدع (Rift Valley fever) ولقاح سرطان الابقار (Bovine leukosis).
- إن فيروس الفاكسينيار المحمول (Recombinant)، له خاصية تحفيز إنتاج الخلايا النوعية للمفاوية التائية السامة للخلايا (Cytotoxic T lymphocytes).

اللقاحات المنتجة باستخدام هذه التقانة رخيصة الثمن، وسهلة الانتاج وسهلة الحقن فى الحيوانات المستهدفة، ولها درجة ثبات عالية، وربما تعطي مناعة لفترة أطول باستخدام جرعة واحدة. ولكن توجد بعض التحفظات والاعتبارات على استخدام فيروس الفاكسينيا فى انتاج اللقاحات المحمولة ويذكر منها :

- الخطورة الكامنة على صحة الانسان .
- حدوث التفاعل الادكاري (Anamenestic response)، بسبب وجود مناعة لفيروس الفاكسينيا ، والتى ربما تؤدى الى تثبيط استنساخ فيروسات الفاكسينيا المحمولة فى العائل .

- فيروس جدري الطيور (Fowlpox virus) .

استخدم فيروس جدري الطيور لانتاج مستضدات لفيروسات أنفلونزا الطيور (Avian influenza)، والبروتينات السكرية لفيروس السعر ولفيروس النيوكاسل (Newcastle virus) .

- خطوط الخلايا Cell lines .

يمكن تحميل خطوط الخلايا التى البروتينات الفيروسية بالجينات المستهدفة باستخدام الفيروسات الرتروية (Retroviruses)، مع وجود محضض فيروسي لانتاج بروتينات فيروسية نوعية بصفة مستمرة .

وعلى الرغم من انتاج العديد من اللقاحات المحمولة باستخدام حوامل فيروسية أو بكتيرية، الا أن هناك بعض الاعتبارات والملاحظات التى يجب أن تؤخذ فى الحسبان. نذكر منها الاتي :

- يجب التأكد من سلامة الحامل للحيوانات المستهدفة وخطورة إستعادته لضراوته.
- ربما يؤثر الحامل على الحيوانات المصابة بأمراض مؤثرة علي صحتها ومدى استجابتها المناعية.
- اعطاء اللقاح للحيوانات التى لديها حصانة ضد الحامل، ربما يؤدى الى خفض مستوى الاستجابة المناعية المرغوبة .
- يتم تحريض للجهاز المناعي للحيوانات المحقونة ضد الحامل قبل أن يتكاثر .

هذا ويستخدم فيرس الفاكسينيا (Vaccinia virus) كحامل لانتاج الكثير من المواد البروتينيه .

### 3-12-2 طريقة أنشاء الحامل :

يتم تخريط (mapping) للحامض النووي للفيروس (مثلا فيروس التهاب الفم الحويصلي (Vesicular stomatitis virus) ، ويتم عزل للرنا المرسال (m-RNA)، الذى يترجم البروتينات السكرية ج (Glycoprotein G)، ثم تعمل نسخة مكملة له من الحامض النووي سي د ن أ cDNA ، ويغرس فى بلازميد

Plasmid، وذلك على النحو التالى :

- يغرس الجزء الذى يحتوى الثميدين كاينيز TK من فيروس جدري الابقار فى بلازميد آخر.
- يتم دمج البلازميدين لانتاج بلازميد يحتوى على الجين المسؤول من أنتاج البروتينات السكرية فى داخل المنطقة التى تحتوى على الثيمدين كاينيز TK .
- يتم حقن الزرع النسيجي من خلايا كلي العجول بالبلازميد، والصنف الضاري من فيروس الفاكسينيا الذى يحتوى على الثيمدين كاينيز الموجب +TK، وباتباع طريقة الزرع الانتقائي يمكن السماح للفيروس الذى يحتوى TK بالتكاثر، وبالتالى أنتاج البروتينات السكرية ج لفيرس التهاب الفم الحويصلي (VSV).

وبالجدير بالذكر هنا، أنه أتبعت نفس الطريقة لانتاج البروتينات السكرية ج (Glycopnotein G) لفيروس السعر (Rabies virus) ، الا أن قدرة هذه البروتينات السكرية للحصانة ضد مرض السعر لم تنشر، ولكن سبق أن استخدمت بكتريا الاشريكية القولونية E.coli لنفس الفرض، ولكن النتائج لم تكن مشجعة، ممايدل على أهمية إستخدام خلايا حقيقية النواة (Eukaryote) .

### 13-2 إنتاج اللقاحات المحمولة بإستخدام حوامل غير قادرة على التناسخ : (Non-replicating or defective vectors)

تعتبر الفيروسات الجدرية (Poxviruses) من أكثر الفيروسات إستخداماً كحوامل لانتاج اللقاحات المحمولة. وعلى الرغم من أن فيروسات جدري الطيور (Avian pox-viruses)، لاتستطيع التناسخ فى خلايا الحيوانات الثديية، لكن تم إستخدامها كحوامل لجينات مسؤولة عن إنتاج بعض اللقاحات المحمولة. ومن أشهر الامثلة لذلك إستخدام لقاح الجدري لطيور الكناري (ALVAC) لانتاج مستحضر لقاح فعال ضد مرض السعر، يحتوى على البروتينات السكرية (Rabies glycoprotein) لفيروس السعر يطلق عليه (ALVAC-RG). وقد تم تجريع هذا المستحضر على الانسان والكلاب وأعطى حصانة مناعية عالية. كما استخدم أيضا كحامل للجينات env و gag لفيروس سرطان القطط .

وتم ايضا استخدام فيروس الفاكسينيا المعدل (Modified vaccinia virus Ankara MVA) بعد تحمليه بالجينات الغريبة، ووجد أن الكميات المنتجة شبيهة بالكميات المنتجة عند استخدام العترة المتوحشة من الفيروس (Wild type).

### 14-2 لقاحات دن أ (DNA) عديد النوويدات (Polynucleotide):

تم نشر أبحاث تتعلق بحقن الحامض النووي دن أ DNA لبلازميد مباشرة الى خلايا عضلات الفئران، نتج عنه أنتاج بروتينات فى خلايا العضلات. تم أيضا نشر طريقة لادخال الحامض النووي DNA الى الخلايا الحية باستخدام مايسمي بالمسدس الجيني (gene gun). وفى هذه الطريقة تم حمل الحامض النووي DNA على ذريرات الذهب وحقنها داخل انسجة فئران حية، وتم نشر نتائج بحوث حول فعالية الحامض النووي العاري (naked DNA) لاحداث المناعة فى الفئران ضد مرض السعر وضد مرض الانفلونزا فى الطيور .

### 15-2 لقاحات الاضداد المولدة لاضداد أخرى Anti-idiotype vaccines:

يحتوى هذا النوع من اللقاحات على اضداد، تم إنتاجها للاجزاء من الاضداد النوعية التى تتفاعل مع المستضدات المولدة لها. وهذه اللقاحات لها عدة مزايا نذكر منها الاتى :

- أن اللقاحات لاتحتوى على ملوثات بكتيريه أو فيروسية أو شوائب خارجية.
- يمكن إنتاج اضداد لها قدرات مناوعه واسعة (Broad specificity).
- يمكن إستخدام مثل هذه اللقاحات فى الحيوانات الصغيرة فى العمر، والتى لاتستجيب للتلقيح بمستضدات معينة.
- يمكن استخدام مثل هذه اللقاحات فى الحالات التى لايمكن أو يستعصي معها إنتاج كميات كبيرة من مكونات المستضدات.
- يمكن استخدام مثل هذه اللقاحات كبدائل للمستضدات، التى لاتحتوى على مواد بروتينية، مثل المواد عديدة السكريات Polysaccharides أو المستضدات المكونه من السكريات على سطح الكائنات الممرضة.
- باستخدام مثل هذه اللقاحات، يمكن تفادى تأخير الاستجابة المناعية للمستضدات التى تحتوى على السكريات فى الاطوار الاولى لنمو الحيوان

وتفادى ضعف القدرة المناعية للسكريات عند إستخدامها فى الحيوانات كبيرة السن.

- يفضل إستخدام هذه اللقاحات فى الحالات التى يخشى فيها من أن مكون اللقاح الموهن، قد يستعيد ضراوته أو فى حالات استخدام لقاحات ميته، التى يخشى أن تحتوى على ملوثات تكون ضارة عند حقنها للعائل .

وعلى الرغم من كل هذه المزايا، فان هناك بعض العوامل التى تحد من إستخدام هذه اللقاحات، مثل استخدام لقاحات منتجة على حيوانات أخرى غير العائل، وربما يؤدى الى حدوث أعراض جانبية مثل افراط الحساسية أو تكوين مركبات مناعية (Immnune Complexes)، وخاصة اذا استخدم اللقاح لاكثر من مرة للحيوان.

## 16-2 إنتاج اللقاحات الجزيئية ضد الطفيليات متعددة الخلايا :

تحتوى الطفيليات على مستضدات (أنتيجنات) ظاهرة على السطح الخارجي للطفيل، وأخرى مخفية، وبالرغم من أن الانتيجنات الظاهرة قد تكون صالحة فى أغلب الاحوال لتكوين مناعة فى الحيوان، الا أن التغييرات والطفرات الوراثية التى تحدث كثيرا، قد تؤدى الى تغيير فى شكل هذه المستضدات، مما يؤدى الى تذبذب فى مستويات المناعة التى يمكن أن تنتج عن هذه المستضدات. كما أن تعدد الانتيجنات فى الطفيليات بوجه عام، يؤدى فى أغلب الاحوال الى تكوين مناعة غير نوعية، إذ تتوزع جهود الكائن الحي الذى تلقي اللقاح الى تكوين ردود الفعل المناعية تجاه أكثر من مستضد واحد فى نفس الوقت، لهذه الاسباب ولغيرها إتجهت البحوث الى إيجاد لقاحات جزيئية (Subunit vac-cines) تستخدم فيها اجزاء من الطفيل. ويشمل ذلك البروتينات والمستضدات الداخلية والخارجية بعد تفكيك وتجزئة الطفيل الى أجزاء عديدة أصغر. واستخدمت لذلك عدة تقنيات وطرق فيزيائية وكيميائية يذكر منها تقنية الترشيح (Filtration) وتقنية الاستشراب على العمود (Column chromatography) وتقنية الرحلان الكهربائي على هلامة البولي اكريل اميد. وقد طبقت هذه التقانات على العديد من الطفيليات يذكر منها على سبيل المثال H.contortus و T.colubriformis، كما استخدمت هذه التقانات، لعزل البروتينات الداخلية والخارجية من فصائل القراد المختلفة (M.microplus).

أما بالنسبة للمواد المفرزة والمخرجة، فلقد تم عزل العديد من الانزيمات كانزيم البروتيناز (Proteinase) وانزيم استيل كولينستراز (Acetylcholinesterase)، وانزيم (Superoxide dismutase) . وقد وجد أن لهذه المواد بعض الفعالية فى الحماية المباشرة كمواد انتيجينة أو بعض الاثر الفيزيولوجي غير المباشر، كأثر المواد التى تفرز أثناء فترة تحول الاطوار اليرقية للدودة (Ascaris summ)، أو كنواتج الايض الطفيلي بالنسبة لطفيل (H.contortus).

أما بالنسبة للطفيليات الخارجية، فلقد استخدمت الغدد اللعابية وبعض مستخلصات الجهاز الهضمي المذابة، وبعض أجزاء الاغشية الخارجية لمختلف أنواع القراد كلقاحات فى حيوانات التجارب الصغيرة والكبيرة .

## 17-2 أنتاج اللقاحات المحمولة ضد الطفيليات متعددة الخلايا :

أن عزل كميات كبيرة ونقية من البروتينات المناعية فى اللقاحات الجزيئية للطفيليات، كان من المشاكل الكبيرة التى أعاقت الانتاج التجاري لهذا النوع من اللقاحات، إذ أن التكلفة تظل عالية وطرق الانتاج تظل غير عملية لانتاج كميات ضخمة فى اللقاح، ولهذا السبب فلقد أتجه التفكير الى إستغلال التقنيات الحيوية الحديثة فى الهندسة الوراثية مثل تقنية الحامض النووي المحمول (Recombinant DNA). وذلك لانتاج العديد من المنتوجات البيولوجية المناعية على خلايا البكتيريا والخلايا الثديية (Mammalian cells). وقد كان لهذا الاتجاه الاثر الحسن فى تنشيط البحوث التى ترمي الى انتاج لقاحات طفيلية محمولة فى القريب العاجل. وفى الوقت الحاضر فان احد هذه اللقاحات المنتجة بتقنية الهندسة الوراثية وهو لقاح Taenia ovis 45 W قد سمح باستخدامه على نطاق واسع عام 1990. وهناك العديد من الدراسات التى تجرى منذ عدة سنوات لتطوير هذا النوع من اللقاحات .

## 18-2 إستخدام التقانات الحديثة والحيوية فى إنتاج لقاحات الاوليات الطفيلية (Protozoa) والريكتسيا (Rickettsia) :

إتجهت الابحاث العلمية منذ عهد قريب لبحث إمكانية استخدام طرق ووسائل التقانات الحيوية لانتاج لقاحات الاوليات الطفيلية والريكتسيا .

وهنالك محاولات مازالت فى طور البحث والتجريب لانتاج لقاحات محمولة ضد داء البابيزيا (Babesiosis) . كما تم نشر نتائج أبحاث تتعلق بانتاج لقاحات تحتوى على البروتينات السطحية لطفيل الانابلازما Anaplasma . إذ تم عزل البروتين 36 والبروتين 105 كيلو دالتون وتم تقويم قدرتها المناعية فى العجول، ونسبة للخطورة الكامنه لاستخدام لقاحات ضد الثيليريا تحتوى على الحيوانات البوغية (Sporozoites)، فقد إتجهت التجارب العلمية لعزل الجين المسؤول عن إنتاج المستضدات السطحية للحيوانات البوغية للطفيل T.parva التى تصلح لاستخدامها فى اللقاح. ودلت التجارب والابحاث العلمية أن استخدام لقاح يحتوى على هذه المستضدات يعطي مناعه جزئية فى الابقار عند استخدامه فى تجارب التحدي. وتم ايضا عزل اثنين من المستضدات للحيوانات البوغية للطفيل T.annulata، وتمت دراستها وإمكانية استخدامها كلقاحات محمولة بإستخدام بكتريا الاشريكية القولونية E.coli كحامل . وثبت عند استخدام هذا اللقاح إحداث إنتاج اضداد تعادلية فى الابقار المحقونة. ومازالت الابحاث العلمية جارية لاستخدام التقانات الحديثة والحيوية باستعمال حوامل فيروسية لانتاج لقاح ضد داء الريكتسيا Rickettsiosis .

# الباب الثالث
# الطرق الحديثة المستخدمة عالمياً فى تعبئة وتجفيد وحفظ وضبط جودة اللقاحات البيطرية

# الباب الثالث

# الطرق الحديثة المستخدمة عالمياً فى تعبئة وتجفيد وحفظ وضبط جودة اللقاحات البيطرية

## 1-3 تعبئة وتجفيد وحفظ اللقاحات البيطرية :

إن عمليات تعبئة وتجفيد اللقاحات هي المرحلة الاخيرة فى سلسلة عمليات انتاج اللقاحات، وتشمل عدة مراحل رئيسية تهدف فى نهاية الأمر الى انتاج لقاحات تتطابق مواصفاتها مع الاسس والمعايير العالمية.

وتتطلب عمليات تعبئة وتجفيد اللقاحات تطبيق كل متطلبات التصنيع الجيد (GMP)، لضمان عدم تلوث اللقاح المنتج بالبكتيريا والفيروسات والفطريات . تختلق الطرق المستخدمة عالميا فى تعبئة وتجفيد وحفظ اللقاحات البيطرية بإختلاف حجم الانتاج ونوعية اللقاح، وحسب العترات المستخدمة، وعموما يجب أن تتم كل عمليات التعبئة والتجفيد والحفظ للقاحات وفق أسس نظم ضبط الجودة المأمونة (Quality Assurance System) :

- يجب أن تتم عمليات التعبئة والتجفيد فى أماكن نظيفه جدا، وأن تكون المداخل والمعابر الى هذه الاماكن مزودة بنظم الاغلاق الهوائي (Airlocks) ويجب أن يكون الهواء الداخل الى هذه الاماكن قد مر عبر مرشحات (Filters) .
- يجب أن يلتزم العاملين داخل هذه الاماكن بارتداء الملابس الواقية، مثل أغطية الرأس والكمامات الواقية والقفازات، حماية للعاملين ولضمان عدم حدوث تلوث للقاح .

هذا ويمكن تقسيم اللقاحات المنتجة الى مجموعتين :

- **المجموعة الاولى :** وتشمل اللقاحات التى تستخدم فى شكل سائل .
- **المجموعة الثانية :** وتشمل اللقاحات المجفدة .

### 3-1-1 التعبئة :

قبل بدأ عملية تعبئة اللقاح المحصود، يجب التأكد من أن كل الأجهزة والمعدات التى تستخدم جاهزة مثل جهاز التعبئة وقناني التعبئة والسدادات المطاطية وغيرها .

### 3-1-1 -1 أجهزة التعبئة :

وتختلف أجهزة التعبئة المستخدمة فى تعبئة اللقاحات باختلاف حجم الانتاج. وتستخدم فى حالات الانتاج المحدود أجهزة تعبئة يدوية مثل الحقن اليدوية (Automatic Syringes) أما فى حالات الانتاج التجاري، فيتم تمرير اللقاح المحصود عبر مواسير مباشرة الى أجهزة التعبئة .

### 3-1-1-2 قناني التعبئة :

تتم تعبئة اللقاحات الميته فى قناني زجاجية أو بلاستيكية، أما اللقاحات الحية، فتتم تعبئتها فى قناني زجاجية (Vials) أو أمبولات (Ampoules). ويجب أن تكون قناني التعبئة للقاحات الحية مصنوعة من زجاج من النوع المتعادل (Neutral glass) والمعامل بالسليكون وسدادات القناني (Rubber stoppers) مصنوعة من البولي اثيلين المعامل بالسليكون. وتتم أولا عملية غسيل قناني التعبئة وتجفيفها ثم تعقيمها باستخدام أفران الهواء الساخن، على درجة حرارة 160-180 درجة مئوية لمدة لاتقل عن ساعة ونصف. أما السدادات المطاطية، يتم غسيلها وتجفيفها، ثم تعقيمها باستخدام المعقم البخارى، وعلى درجة حرارة 121 درجة مئوية لمدة 20 دقيقة. بعد تحديد عيارية اللقاح تتم تعبئة اللقاح باستخدام أجهزة التعبئة المعتمدة. ويجب توخي الدقة فى عملية التعبئة وضبط حجم العبوة فى القناني لان الاختلاف فى الكميات المعبأة فى كل قنينة يؤدى الى عدم تجانس اللقاح .

وعموما يتراوح حجم الكميات المعبأة فى كل مابين 0.3 مل الى 2.5 مل.

### 3-1-2 التجفيد :

يستخدم التجفيد لتثبيت وحفظ المواد سريعة التحلل. وللتجفيد عدة مزايا أهمها مايلى :

- المحافظة على الخواص الهامة للمادة الاصلية مثل المظهر والحجم والشكل والطعم واللون وغيرها .
- سهولة إعادة تعليق المادة المجفدة باضافة السوائل .
- سهولة خزن وتمديد مدة فعالية اللقاحات .

هذا وتشمل عملية التجفيد ثلاثة مراحل :

- مرحلة التبريد والتجميد .
- مرحلة التجفيد الرئيسية لازالة الماء المتجمد .
- مرحلة التجفيد النهائية لازالة الماء المرتبط بمكونات اللقاح .

وتعتبر عملية التجفيد تحت التبريد، هي أنسب الطرق المتبعة لحفظ اللقاحات الحية، وهي باختصار إزالة الماء من معلق مائي أو محلول بواسطة عملية التسامي (Sublimation)، وتتم هذه العملية بسرعة تحت ضغط منخفض، ومن الضروري تجميد اللقاح الى درجة حرارة أقل من -50 درجة مئوية، للتأكد من تجميده لدرجة أقل من الدرجة الثلاثية (Eutectic or Triple point) مع ضبط معدل سرعة التجميد.

### 3-1-2-1 مرحلة التبريد والتجميد :

قبل بدء عملية التبريد والتجميد، يجب التأكد من أن جهاز التجفيد جاهز للعمل. وبعد أن تتم تعبئة اللقاح في القناني وصفها داخل المكان المخصص لها داخل جهاز التجفيد تبدأ عملية تبريد الرفوف واللقاح. وتختلف درجة حرارة التبريد من لقاح الى آخر حسب نوعية اللقاح ونسبة ونوعية المواد الداخلة في تركيبه. وفي هذه المرحلة يجب ضبط معدل سرعة التجميد.

### 3-1-2-2 مرحلة التجفيد الرئيسية :

تبدأ عملية التجفيد الرئيسية بعد انتهاء مرحلة التبريد والتجميد مباشرة. وتتم عملية تجفيد اللقاح تحت ضغط منخفض، وذلك بتصاعد بخار الماء من اللقاح وتكثيفه على مكثف جهاز التجفيد والذي تتراوح درجة حرارته مابين -60 درجة مئوية الى -90 درجة مئوية. ولابد من توفر الشروط التالية لاتمام عملية التجفيد :

* **الضغط :**

يجب خفض الضغط داخل حجرة التجفيد، لمساعدة تصاعد البخار، ولكن يجب ضبط عملية خفض الضغط حتى لايؤثر ذلك على سرعة التجفيد. وعموما يجب أن يضبط الضغط بحيث يعادل نصف الضغط الجزئي لبخار الماء (Partial pressure)، فوق الثلج وعند درجة حرارة اللقاح وعمليا يكون مستوى الضغط فى حدود 100 الى 120 تور (torr) عند مستوى حرارة اللقاح والتى تكون حوالى -30 درجة مئوية.

* **زيادة درجة الحرارة :**

إن الطاقة الحرارية ضرورية فى المرحلة الاولى للتجفيد، ويجب ضبطها لتسريع عملية التجفيد ولكن ليس للدرجة التى تؤدى الى فساد اللقاح. هذا وتنتهي عملية التجفيد الرئيسية عندما يتحول السائل الحر المجمد مباشرة الى بخار وهي نسبة تبلغ حوالى 95٪.

كما أن مرحلة التجفيد الرئيسية هي أطول مرحلة، ويعتمد الزمن الذى تستغرقه هذه العملية على عدة عوامل، مثل سمك اللقاح المعبأ ومحتوى اللقاح ومستوى الضغط ودرجة حرارة اللقاح أثناء التجفيد.

وتستعمل عدة طرق ووسائل للتعرف على انتهاء مرحلة التجفيد الرئيسية وتشتمل الطرق المستعملة تشمل الاتى :

- ثبات الضغط، إذ أنه أثناء مرحلة التجفيد ينخفض الضغط ببطء حتى يصل الى أدنى مستوى له، ويظل الضغط عند هذا المستوى لمدة ساعة الى ساعتين .
- أرتفاع درجة حرارة اللقاح، حيث تزداد درجة حرارة اللقاح المجفد حتى تتساوي مع أو تقترب من درجة حرارة الارفف ويمكن التأكد من ذلك باستخدام كاشف حرارة اللقاح والمؤشر .
- اختبار رفع الضغط ، يتم ذلك باستخدام صمام عزل يوجد فى جهاز التجفيد يمكن استخدامه لعزل حجرة التجفيد على فترات. فاذا لم يتم تجفيد اللقاح، فسوف يرتفع الضغط بسرعة بسبب ضغط بخار الماء، واذا تم تجفيد اللقاح لن يرصد ارتفاع للضغط .

### 3-1-2-3 مرحلة التجفيد النهائية وحفظ اللقاحات :

يتم فى هذه المرحلة التخلص من أكبر قدر من الماء المرتبط بمكونات اللقاح (حوالى 2٪ الى 5٪) . وفى هذه المرحلة يجب خفض الضغط لادنى مستوى له من الانخفاض حتى يصل الى حوالى 0.001 مللي بار. بعد الانتهاء من هذه المرحلة والتى تستغرق فى العادة مابين ساعة الى ساعتين، يتم اغلاق القناني بالسدادات المطاطية داخل جهاز التجفيد وتحت ضغط منخفض، باستخدام جهاز الاغلاق فى المجفد. ويؤخذ اللقاح من جهاز التجفيد وتتم تغطية السدادات المطاطيه بأغطية الالمونيوم (Aluminium caps) باستخدام جهاز خاص لهذا الغرض. وتؤخذ نماذج عشوائية من اللقاح المجفد لاجراء الفحوصات التالية :

- التاكد من كفاءة التفريغ داخل قناني اللقاح المجفد باستخدام جهاز خاص .
- فحص نسبة الرطوبة المتبقية فى اللقاح المجفد، التى يجب أن لاتزيد عن 1٪ .
- يحفظ اللقاح المجفد على درجة حرارة +4 مئوية الى -20 درجة مئوية. وتحفظ اللقاحات الميته على درجة حرارة 4 درجة مئوية. أما اللقاحات التى تحتوى على الفيروسات الحية المرتبطة بالخلايا (Cell associated)، مثل لقاح المارك والذى تضاف إليه مواد حافظه من التلف مثل الداي ميثيل سلفوأوكسيد (Dimethyl Sulphoxide-DMSO) وتحفظ فى اسطوانات النتروجين السائل عند درجة حرارة -196 درجة مئوية .

## 2-3 ضبط جودة اللقاحات البيطرية :

إن إنتاج لقاحات مأمونة وذات فعالية وخالية من التلوث يقتضى الالتزام باتباع نظم الجودة المأمونة (Quality Assurance System) ، وذلك لضمان التاكد من أن صفات الانتاج تتطابق مع المتطلبات النوعية المرجوه التى يجب أن تستوفي. ونسبة لان عمليات الانتاج للقاحات قد تتيح فرص لانتاج متقلب فلابد من أخذ الحيطه والحذر والتحكم فى عمليات الانتاج لاقصى حد ممكن، بهدف حماية المنتج من التلوث، وذلك بمتابعة خطة الانتاج وتطبيق كامل قواعد التشغيل القياسية (Standard Operating Procedures SOP). ولذا لابد من اجراء اختبارات ضبط الجودة على المنتج أثناء التصنيع وبعد إنتهاء عملية التصنيع. وعموماً فإن إتباع نظام الجودة المأمونة لابد أن

يوازن بين الطرق التصنيعية للمنتج وإختبارات ضبط الجودة على المنتج النهائي، ويتم ذلك بانتقاء وسائل تحكم تضمن أقل قدر من الخطورة عند استعمال المنتج .

مختبرات إنتاج اللقاحات والكادر الفني الذى يقوم بعملية الانتاج، يدخلان ضمن إطار الظروف البيئية التصنيعية عليه لابد من الاهتمام بالمختبرات المنتجة من حيث التصميم والتأكد من أن الكادر الفني العامل يطبق القواعد والشروط الواجب اتباعها أثناء عمليات الانتاج .

عموما فان نظم الجودة المأمونة تهتم بضوابط عامة وخاصة يجب توفرها فى كل منتج وهي كما يلى :

### 3-2-1 ضوابط مواد التصنيع Ingredients :

لابد من تحديد مواصفات ومصادر المواد المستخدمة فى تصنيع اللقاح – كل المواد المستعملة من مصدر حيواني ، كما أنه لابد أن تخضع للفحص للتأكد من خلوها من البكتريا والفطريات والميكوبلازما والفيروسات .

### 3-2-2 اختبارات الفعالية Efficacy Tests :

إن قياس فعالية اللقاح، يجب أن يؤكد إحصائيا بإجراء إختبار التحدى فى الحيوانات المستعدة باستخدام الناتج النهائي الذى استخدم فى إنتاجه أعلى تمريره من بذور اللقاحات الام. ويجب استخدام أقل قدر من مستضدات اللقاح فى الجرعة التى يجب أن يحتوى عليها اللقاح. وعموما فان الطريقة المثلي لاجراء اختبار التحدى وطريقة قياس الحماية بعد استعمال اللقاح تختلف باختلاف اللقاح المستخدم.

### 3-2-3 اختبار التداخل أو التضاد Interference test :

يجرى هذا الاختبار للقاحات التى تحتوى على مكونين أو أكثر. ويجب التأكد من عدم حدوث تداخل أو تضاد بين الاثنين بمعنى أن أحد المكونات يسبب انخفاض فى رد الفعل المناعي للمكون الاخر. ايضا يجب الانتباه الى احتمال نشوء حالة تضاد بين لقاحين مختلفين يتم استعمالهما لنفس الحيوان خلال اسبوعين.

### 3-2-4 إختبارات استعادة الضراوة Reversion to virulence :

فى حالة اللقاحات التى تحتوى على عترات حية مروضة، ربما يحدث استعادة

للضراوة وانتقال الميكروب للحيوانات عن طريق التجاور محدثا حالة مرضية. ولذا يجب أن تخضع كل اللقاحات الحية المروضة للاختبار عن طريق تمريرها بحقن العائل بالعترة الرئيسية ثم عزل عترة اللقاح من الانسجة المستهدفة واستخدامها لحقن مجموعة حيوانات أخرى. بعد اجراء خمسة تمريرات يتم تعريف للعترة المعزولة باستخدام نفس طرق الفحص التي تستخدم لفحص العترة الرئيسية.

### 3-2-5 تقييم الخطورة على البيئة المحيطة

: Assessing Risk to the Environment

لابد من اجراء تقييم لمعرفة مدى خطورة اللقاح الحي للانتشار واحداث حالات مرضية في الحيوانات المستعدة وغير المستعدة عن طريق التجاور وقدرة عترة اللقاح للبقاء في البيئة المحيطة .

### 3-2-6 اختبارات ثبات اللقاح Stability Test :

إن اختبارات ثبات اللقاح، مؤسسة على نتائج اختبارات الفعالية، وتهدف الى تحديد مدة انتهاء استخدام اللقاح. وكمثال لذلك اخذ نماذج من اللقاح وحفظها عند درجة حرارة -20 درجة مئوية ودرجة حرارة 4 درجة مئوية، ثم اجراء معايرة للفيروس كل 3 شهور أو على لقاح البكتيريا الحية كل شهر أو أقل .

### 3-2-7 اختبارات السلامة Safety Tests :

تجرى اختبارات السلامة للقاحات باستخدام جرعات تمثل 10 أضعاف الجرعة المطلوبة بالنسبة للقاحات الحية، وضعف الجرعة للقاحات الميتة ولمواد التصنيع من مصدر حيواني اذا لم تعقم وكما تجرى هذه الاختبارات لكل منتج نهائي قبل تسويقه وتختلف الاختبارات باختلاف طبيعة المنتج.

### 3-2-8 اختبارات النقاوة Purity tests :

تحدد النقاوة باجراء الفحوصات لعدة أنواع من الملوثات. وتجرى إختبارات النقاوة على بذور اللقاحات الرئيسية والخلايا الاولية والخلايا الام ومواد التصنيع ذات الاصل الحيواني ولكل منتج نهائي، للتأكد من خلوها من الملوثات البكتيرية والفطريات والميكوبلازما والكلاميديا .

### 9-2-3 إختبارات أخرى :

تجرى اختبارات تتعلق بالخواص الفيزيائية والكيماوية، مثل مظهر اللقاح ودرجة الرطوبة المتبقية بعد التجفيد وبدرجة الفائض من مواد تعطيل نشاط الفيروس أو البكتيريا، وقياس اكتمال تعطيل النشاط الفيروسي أو البكتيرى وقياس درجة الحموضة pH ومستوى المواد الحافظة، ومستوى المضادات الحيوية المسموح بها وثبات المواد المساعدة، ووجود الفراغ فى اللقاحات المجفدة.

### 10-2-3 ضوابط حفظ نماذج من اللقاح Sampling :

تؤخذ نماذج من اللقاح المنتج وتحفظ عند درجة الحفظ المطلوبة لمدة 6 شهور بعد انقضاء تاريخ انتهاء استعمال اللقاح، للرجوع الى هذه النماذج فى حالة حدوث حالات مرضية فى الحقل بعد استعمال اللقاح.

### 11-2-3 ضوابط وضع الديباجات : Labelling :

يجب أن تتضمن الديباجة المرفقة مع اللقاح كل المعلومات المطلوبة، مثل أسم اللقاح والجهة المصنعة وعنوانها ودرجة حفظ اللقاح وتاريخ انتاج اللقاح وتاريخ انتهاء اللقاح، ورقم الدفعة وعدد الجرعات وطريقة الاستخدام والمحاذير اذا لزم ذلك .

### 12-2-3 الاختبارات المصلية : Serological tests :

هناك العديد من الاختبارات المصلية ذات الأهمية فى اختبارات ضبط جودة اللقاحات البيطرية فى مراحل انتاجها المختلفة، ومن أهم تلك الاختبارات مايلى :

- إختبار التعادل المصلي Serum neutralisation test (SN) .
- اختبار الترسيب فى أطباق الآجار Agar Immuno diffusion test (AGID) .
- اختبار الضد الوامض Fluorescent Antibody Test (FAT)
- إختبار منع التلازن الدموي Haemagglutination-inhibition test (HI) .
- اختبار الروز المناعي المرتبط بالخمائر Enzyme linked immunosorbent Assay (ELISA) .

- اختبار التثبيت المتمم Complement Fixation Test (CF)
- اختبار التراص Agglutination Test (Agg)

### 3-3 المراجع العالمية لاختبارات ضبط الجودة للقاحات البيطرية :

أن اجراء ضبط الجودة للمنتجات البيولوجية بصفة عامة يكتسب أهمية خاصة، حيث أنه يضمن فعالية وسلامة هذه المنتجات عند الاستعمال، كما أنه يحد من مخاطر التلوث فى المختبرات التى تحضر فيها هذه المنتجات وعلى البيئة. ويرجع فضل التطبيق الصارم لهذه المعايير، فى إرتفاع مستوى جودة اللقاحات البيطرية المنتجة حاليا، مقارنة مع اللقاحات التى كانت تنتج قبل سنين . وفى حالات عديدة أصبحت اللقاحات البيطرية تضاهي بل تتفوق على اللقاحات المستعملة للانسان فى سلامتها وفعاليتها.

ولقد عملت كثير من الدول المتقدمة على تحديد المعايير والمقاييس التى تضبط بها جودة الادوية واللقاحات والمنتجات البيولوجية الاخرى ، حيث قامت بوضع مايعرف بدساتير الصيدلة أو الادوية أو مايعرف بالفارماكوبيا (Pharmacopaeia) ، إذ تحدد فيها طريقة الانتاج، والاستعمال، والمكونات، وإختبارات ضبط الجودة وطريقة إجراءها ومعايير الحكم. وعلى الرغم من أن هذه الدول لها دساتيرها الخاصة، الا أنها تتشابه فى كثير الموجهات العامة بل وفى التفاصيل ايضا. ولقد أصبح تطبيق ومراعاة هذه المعايير من الضرورة بمكان، حيث أنه أصبح لازما للترخيص لاستعمال وتداول هذه المنتوجات على النطاق القطري أو العالمي. ومن أهم هذه القواعد والدساتير مايلى :

- المعايير الاتحادية الامريكية/ وزارة الزراعة الامريكية Code of Federal Regulations (U.S.D.A) .
- المعايير والقواعد البيطرية البريطانية British Vet. Codex .
- دستور الادوية البريطاني British Pharmacopoeia .
- دستور الأدوية الأوروبي European Pharmacopaeia .

كما أن هناك العديد من الدول الاوروبية الاخرى كالمانيا واليابان، تملك على سبيل المثال معاييرها الخاصة، هذا بالاضافة الى المعايير العالمية التى تصدر من المنظمات

العالمية، مثل منظمة الصحة العالمية WHO بجنيفا، ومنظمة الزراعة والاغذية التابعة للامم المتحدة بروما FAO ، ومعايير المكتب الدولي للاوبئة بباريس OIE .

وبالنظر الى الدول الاخرى فإن العديد منها لاتملك معايير خاصة بها، ومن ذلك كثير من دول الوطن العربي، هذا وقد أصبح الاهتمام متزايدا فى جميع أنحاء العالم بالاعتماد على المعايير الدولية وتطبيقها، مما كان له الاثر الايجابي فى محاولات توحيد المعايير العالمية بقصد إحكام السيطرة على ضبط جودة اللقاحات والمنتجات البيولوجية الاخرى على مستوى العالم .

### 3-4 إختبارات ضبط الجودة الخاصة باللقاحات البكتيرية :

يتم ضبط جودة اللقاحات البكتيرية خلال كل من المراحل التالية :

- مرحلة أنتاج بذور اللقاحات (Seed Bank Control)
- مرحلة الانتاج الرئيسية (In Process Control)
- مرحلة الناتج النهائي (Batch Control)

### 3-4-1 الاختبارات فى مرحلة إنتاج بذور اللقاحات (Seed Bank Control)

يتم التأكد خلال هذه المرحلة من مطابقة البذور المنتجة للمواصفات المطلوبة، وذلك باجراء كل من الاختبارات التالية :

#### 3-4-1-1 إختبار التأكد من الهوية (Identity test) :

يتم ذلك عن طريق الزرع فى المنابت الصلبة والسائلة والتأكد من صفات النمو ودرس الخواص الظاهرية للمستعمرات البكتيرية، واجراء الاختبارات البيوكيميائية وصبغ الشرائح للتأكد من الصفات المجهرية للباكتيريا، كما يجب إجراء الاختبارات المصلية المختلفة بإستخدام الاضداد النوعية. أما بالنسبة لبذور لقاح البروسيلا، فيتم التأكد بصفة خاصة من ظاهرة التفرق (Dissociation) فى المستعمرات البكتيرية. وبالنسبة لبذور لقاح بكتيريا البستوريلا، فيجب التأكد من وجود المحفظة (Capsule)

#### 3-4-1-2 أختبار الخلو من التلوث (Purity test) :

يجرى هذا الاختبار على بذور جميع اللقاحات، وذلك بمقارنة أشكال المستعمرات البكتيرية فى المنابت المزروعة والكشف المجهري للشرائح المصبوغة stained &

(Wet smears) وباجراء الاختبارات البيوكيميائية والاختبارات المصليه النوعية، كما يجب التأكد بصفة خاصة من الخلو من التلوث من المايكوبلازما والفطور والفيروسات بالزرع فى المنابت الخاصة التى تسمح بنمو هذه الميكروبات.

3-1-4-3 **أختبار السلامة** (Safety test) :

يجرى أختبار السلامة فى حيوانات التجارب المختلفة، وذلك بالنسبة لبذور اللقاحات الحية الموهنه ، مثل بذور لقاحات الحمي الفحمية (Anthrax)، والبروسيلا (Brucella) والالتهاب ذات الرئه السارى فى الابقار (CBPP) ، وفيه يتم التأكد من أن بذور اللقاح آمنه ولاتسبب أعراض مرضية أو نفوق فى حيوانات التجارب.

4-1-4-3 **أختبار الامراضية أو الامراضية للحيوانات** (Pathogenicity test):

يجرى ذلك الاختبار للبذور الضارية (Virulent) التى تستخدم لتحضير اللقاحات الميتة، مثل بذور لقاح التسمم الدموي (Haemorrhagic septicaemia) ، والتى تحقن فى العجول أو الارانب المهيئة لهذا الغرض، وبذور لقاحات الكلوستريديا التى تحقن فى الخنازير الغينية (Guinea pigs) أو الفئران البيضاء. وفيه يتم التأكد من أن بذور اللقاح الضاريه تسبب أعراضا مرضية أو نفوق للحيوانات .

2-4-3 **الاختبارات فى مرحلة الانتاج الرئيسية** (In Process control):

يجرى التأكد بصفة مستمرة من مواصفات جودة اللقاحات المنتجة خلال هذه المرحلة وذلك باجراء الاختبارات التالية :

أ- الخلو من التلوث (Purity test) .

ب- قياس كثافة النمو (Growth density) فى المليتر الواحد من سائل المزرعة البكتيرية، وذلك باجراء تحديد لعدد البكتريا الحية التى تنمو فى المنابت الصلبة (Viable count) ، أو بحساب العدد الاكثر إحتمالا للنمو فى الاوساط المغذية السائلة (Most Propable Number)، أو بحساب العدد الكلى للبكتيريا (Total Count) . ويمكن ايضا استخدام جهاز قياس التعكير أو جهاز الاطياف الضوئية (Spectrophotometer) ، لتحديد درجة إمتصاص الضوء (Absorbance) ، كمعيار لقياس كثافة النمو

(Growth density) لجميع أنواع البكتيريا .

ج- إختبار التأكد من الهوية (Identity test) .

د- إختبار التعطيل (Inactivation) .

ويجرى هذا الاختبار للقاحات البكتيرية الميته (المثبطة)، ويهدف الى التأكيد من أنه قد تم تعطيل كل البكتيريا والذيفانات (السموم) الموجودة فى المزرعة البكتيرية، وأن اللقاح خال من أي بكتيريا حية أو سم نشط .

ويجرى هذا الاختبار بزرع عينات من اللقاح المعطل فى وسط مغذى ويحضن الوسط فى درجة حرارة مناسبة هوائيا ولاهوائيا لمدة أسبوع، بعدها تفحص العينات المختبرة يوميا حتى أنتهاء فترة الحضانة. وفى حالة حدوث نمو للبكتيريا تحضر بعض اللطاخات (الشرائح)، وتصبغ وتفحص مجهريا، فاذا تم التأكد من وجود بكتيريا مطابقة لبكتيريا اللقاح يستمر التعطيل، ويعاد الاختبار مرة أخرى حتى يتم التأكد بصفة قاطعة من اتمام عملية التعطيل.

### 3-4-3 الاختبارات فى مرحلة الناتج النهائي (Batch control) :

تضبط جودة الناتج النهائي باجراء كافة الاختبارات المتعلقة بالخواص الفيزيائية والكيميائية والتى سبق ذكرها من ضمن الضوابط العامة. وبالاضافة الى ذلك تجرى كافة الاختبارات التالية :

1- إختبار الخلو من التلوث .

2- إختبار تأكيد الهوية للبكتيريا المستعملة فى اللقاح .

3- إختبار التعطيل للقاحات الميتة .

4- إختبار السلامة (Safety test) .

وتجرى الاختبارات على اللقاحات بأخذ عينات عشوائية من المنتج النهائي، وتحقن فى مجموعة من حيوانات التجارب بضعف الجرعة العادية الموصي بها، وتراقب الحيوانات المحقونة باللقاح لفترة أسبوعين بعد الحقن، وتسجل درجة حرارة الحيوان المحقون يوميا، كما تسجل جميع الاعراض المرضية المرئية أو الاثار الجانبية، وتستبعد اللقاحات

التى لاتتفق مع المواصفات المطلوبة، والتى تسبب أعراضا مرضية جانبية (Side re-actions) فى موضع الحقن أو أعراضا رئيسية فى أجهزة الجسم الداخلية (Systemic reactions).

5- إختبار الفعالية (Potency test) :

يجرى اختبار الفعالية على كل أنواع اللقاحات، والهدف من اجراء هذا الاختبار هو التأكد من أن اللقاح المنتج قادراً على حماية الحيوان الذى تلقي هذا اللقاح من المرض الذى يسببه ميكروب اللقاح. يجرى هذا الاختبار بتحصين الحيوانات القابلة للاصابة بالمرض (susceptible animals) بجرعات من اللقاح على فترات زمنية متفاوته، تختلف حسب نوع كل لقاح، وتترك مجموعة مماثلة من الحيوانات المتشابهة فى الصفات للحيوانات المحصنة، بدون تحصين (مجموعة السيطرة Control group) . وبعد فترة زمنية محددة حسب نوع كل لقاح، يجرى اختبار التحدى المباشر، وذلك بحقن جميع مجموعات الحيوانات المحصنة وغير المحصنة (مجموعة السيطرة) بجرعات محسوبة من البكتيريا الضارية من نفس نوع لبكتيريا المستعملة فى اللقاح. كما يمكن أن يجرى اختبار التحدى غير المباشر، وذلك بتعريض الحيوانات المحصنة باللقاح الى حيوانات مريضة معدية بدلاً عن حقن البكتيريا الضارية. وتوضع جميع الحيوانات تحت المراقبة الدقيقة، وتسجل جميع الملاحظات والتطورات فى المظاهر الحيوية للحيوانات. ويتوقع فى أغلب الاحوال أن لاتظهر أعراض مرضية أو نفوق فى الحيوانات التى تلقت اللقاح، بينما يجب أن تموت مجموعة حيوانات السيطرة. وفى هذه الحالة يعتبر اللقاح فعالاً ويسمح باجازته وأستعماله. أما فى حالة ظهور أعراض مرضية أو نفوق حيوانات فى مجموعة الحيوانات المحصنة أو عدم نفوق لمجموعة حيوانات السيطرة، فيعتبر اللقاح غير فعال ويسمح باعادة الاختبار فى بعض الحالات.

هذا ويختلف التقييم النهائي للقاح، من حيث القبول أو الرفض بإختلاف المعايير العالمية ودساتير الادوية والمنتجات البيولوجية المختلفة، بالرغم من أن هذه المعايير والنظم الدولية تتفق الى حد كبير بشكل عام فى كثير من الاحكام. وهناك بعض اللقاحات مثل لقاح البروسيلا، يعتمد فى التقييم النهائي لصلاحيتها على حساب معدل الحماية (Protection Index).

6- الاختبارات المصلية (السيرولوجية) المستخدمة فى اختبار جودة اللقاحات البكتيرية (Serological Tests) :

تجرى العديد من الاختبارات المصلية بغرض التأكد من مطابقة النوع، وذلك باستخدام الامصال عالية المناعة، والتى تحتوى على أضداد نوعية (أجسام مضادة) (Antibodies) موجهة ضد البكتيريا المعينة. كما يمكن استخدام الاختبارات المصلية لقياس مستوى الاضداد النوعية فى أمصال الحيوانات المحصنة (Sero-monitoring) ، وعلى سبيل المثال يمكن إجراء إختبار التراص - (Agglutination test) فى الشرائح أو الانابيب الزجاجية . كما يمكن اجراء اختبار التراص الدموي غير المباشر (Indirect Haemagglutination) أو اختبار الضد الوامض (Immunofluoresence) ، وهو من أسرع الاختبارات ويعطى نتائج جيدة جدا. وجميع هذه الاختبارات تعطى نتائج مرضية بالرغم من تفاوتها فى الحساسية والنوعية. أما بالنسبة للقاحي البروسيلا والالتهاب الرئوي البللوري، فيمكن استخدام اختيار تثبيت المتمم (Complement Fixation Test) ، وبالنسبة لبكتيريا المايكوبلازما فيمكن اختيار اختبار منع النمو (Growth inhibition Test) ، بعد اضافة المصل الذى يحتوى على اضداد نوعية للمايكوبلازما المعينة. أما بالنسبة للمسوحات الحقلية، والمناعية فيعتبر اختبار الروز المناعي المرتبط بالخمائر (الاليزا) (Elisa) خيارا جيدا لجميع انواع اللقاحات البكتيرية .

وعلى الرغم من أن الاختبارات المصولية تعطى مؤشرا جيدا لفعالية اللقاحات البكتيرية، الا انها فى الغالب لاتستخدم لوحدها للتقرير بشأن فعالية هذه اللقاحات، بل لابد من إجراء اختبارات الفعالية المرتبطة بالتحصين والتحدى فى حيوانات التجارب.

ولمزيد من المعلومات بشأن الاختبارات المصلية، يمكن مراجعة قائمة الاختبارات المصلية المعتمدة من قبل المكتب الدولي للاوبئة بباريس (OIE) ، فيما يختص بالتشخيص والمسوحات المصلية فى تجارة الحيوانات الدولية ( ملحق 1 ) .

### 5-3 اختبارات ضبط الجودة الخاصة باللقاحات الفيروسية :

### 1-5-3 اختبارات ضبط الجودة على بذور اللقاحات الفيروسية :

تجرى اختبارات ضبط الجودة على بذور اللقاحات الفيروسية الرئيسية (Master

(seed virus وبذور اللقاحات التشغيلية (Working seed virus) ، للتأكد من خواصها الحيوية . وتتطلب هذه الاختبارات استخدام كواشف حيوية مثل الامصال واستخدام الزرع النسيجي والخلوي وحيوانات التجارب والبيض المخصب الخالي من أمراض معينة (SPF).

### 3-5-1-1 اختبارات تأكيد الهوية Identity tests :

تجرى هذه الاختبارات للتأكد من هوية مولد الضد المستهدف، ويجرى إختبار التعادل المصلي باستخدام مصل يحتوى على اضداد نوعية أو اضداد وحيدة النسيله (Monoclonal antibodies) . وتجهز تخفيفات متسلسلة من الفيروس وتخلط كل تخفيفه مع حجم مساوي لها من المصل، ويحقن المخلوط على الزرع النسيجي أو الخلوي أو البيض المخصب الخالي من أمراض معينة (SPF) كما تجرى ايضا معايرة للفيروس، ثم يحدد معيار التعادل (Neutralisation index) ويجرى هذه الاختبار مثلا لفيروسات الطاعون البقري وطاعون الخيل وجدري الاغنام.

### 3-5-1-2 اختبارات المعايرة (Titration) :

تجري اختبارات المعايرة، بغرض تحديد معيار بذور اللقاحات الفيروسية باستخدام طرق مختلفة حسب نوع الفيروس، حيث يستخدم الزرع النسيجي أو الخلوي او البيض المخصب الخالي من أمراض معينة (SPF)، وكمثال لذلك تستخدم خلايا فيرو (Vero cells) لمعايرة فيروس طاعون الخيل، وخلايا كلي العجول لمعايرة فيروس لقاح الطاعون البقري، وخلايا خصي الحملان لمعايرة فيروس لقاح جدري الاغنام.

### 3-5-1-3 اختبارات الخلو من التلوث Sterility Tests :

تجرى هذه الاختبارات للتأكد من خلو بذور اللقاحات الفيروسية من الملوثات البكتيرية والفطرية والميكوبلازما، بحيث يحقن معلق الفيروس فى بيئات الزرع البكتري والفطري والميكوبلازما.. وتراقب البيئات المحقونة لمدة لاتقل عن اسبوعين، ثم تفحص البيئات المحقونة لوجود النمو البكتيري.

أما بالنسبة للميكوبلازما، فتستخدم بيئات زرع الميكوبلازما السائلة والصلبة، وتحقن هذه البيئات بمعلق الفيروس وتحضن على درجة 35 الى 37 درجة مئوية لمدة 28

يوم. وبعد انقضاء مدة الاختبار تفحص البيئات المحقونة مجهريا لوجود مستعمرات الميكوبلازما وتعتبر العينة المحقونة قد أجتازت الاختبار اذا لم يحدث نمو في أي من البيئات الصلبة المحقونة، أما اذا تأكد وجود الميكوبلازما، فيجب اعادة الاختبار مرة أخرى، واذا اثبت وجود الميكوبلازما بعد اعادة الاختبار فتعتبر العينة غير صالحة للاستخدام

وللكشف عن وجود الملوثات الفيروسية تستخدم خلايا فيرو Vero cells أو الخطوط الخلوية المستمرة . اذا يتم خلط كمية متساوية من معلق بذور اللقاح بمصل يحتوى على عيارية عالية من الاضداد النوعية ثم يحقن المخلوط في الزرع الخلوي ويتم تمرير الخلايا المحقونة مرتين على الاقل خلال اسبوعين، ثم بعد ذلك تفحص الخلايا لملاحظة وجود أثر استسلامي (CPE) واجراء اختبار الادمصاص الدموي (Haemadsorption) ، واختبار الضد الومض (Fluorescent Antibody Test) ، وتستعمل صبغة (ماى غرونفالد – جمسا) لصبغ الخلايا، واظهار الاثر الاستسلامي الذى تسببه الملوثات الفيروسية .

### 4-1-5-3 اختبارات الفعالية Potency tests :

تجهز دفعة من اللقاح باستخدام العترة الرئيسية، ويستعمل لحقن حيوانات التجارب، أو الحيوانات المهيئة لهذا الغرض، وبعد انقضاء عدة أيام تحقن الحيوانات المحصنة بعترة ضارية من الفيروس وتراقب الحيوانات المحقونة وترصد وتسجل الاعراض المرئية في حيوانات التحكم والمبدلة. ويلاحظ في الحيوانات المحقونة الاتي :

- الاعراض المرضية المرئية .
- نفوق الحيوانات ، التى ويجرى تشريحها .

كما يتم أخذ أمصال من الحيوانات المحصنة وتجرى عليها الاختبارات المصلية لتأكيد وجود الاضداد النوعية للعترة المستخدمة.

## 2-5-3 الإختبارات في مرحلة الانتاج الرئيسية والناتج النهائي

(In Process Control,and Batch Control)

تجرى في هاتين المرحلتين عدة اختبارات على اللقاح المقصود قبل مرحلة التعبئة والتجفيد .

### 3-2-5-1 أختبار الخلو من التلوث Sterility Test :

يخضع اللقاح المنتج لاختبارات الخلو من التلوث، بحيث تؤخذ نماذج من اللقاح، وتزرع في أوساط زرع بكترية وتحضن في ظروف هوائية ولاهوائية لمدة محددة. وبعد انتهاء مدة الحضن يتم فحص المزارع. ويجرى هذا الاختبار للتأكد من خلو اللقاح من التلوث البكتيري والفطري وبالنسبة للقاح المنتج على الزرع النسيجي أو الخلوي، يجب فحص مزارع التحكم والسيطرة وملاحظة عدم وجود أي أثر استسلامي.

### 3-2-5-2 أختبار المعايرة Titration :

يجرى اختبار المعايرة لمعرفة معيار الفيروس في اللقاح المحصود، ويكرر هذا الاختبار 3 مرات بالنسبة للقاح الطاعون البقري. أما بالنسبة للقاح النيوكاسل فيتم اختبار المعايرة على البيض المخصب الخالي من أمراض معينة. (SPF).

### 3-2-5-3 إختبارات الخلو من التلوث للقاحات الفيروسية المنتجة على البيض المخصب الخالي من أمراض معينة (SPF) التي تعطى عن طريق ماء الشرب أو الرش أو التقريح:

تستخدم بيئات زرع بكترية مثل بيئة آجار مستخلص الدماغ والقلب من الدماغ والقلب، ويجب أن لاتحتوى أي دفعة من اللقاح المنتج على أكثر من مستعمرة بكترية واحدة لكل جرعة، بالنسبة للقاحات الدواجن أو 10 مستعمرات بكترية لكل جرعة بالنسبة للحيوانات الكبيرة. ويجب اعادة الاختبار إذا تجاوز متوسط المستعمرات الارقام المحددة. أما اذا تجاوز عدد المستعمرات الارقام المحددة بعد اعادة الاختبار، فتعتبر الدفعة المنتجة من اللقاح غير صالحة للاستعمال .

### 3-2-5-4 اختبارات الحيوية للقاحات الفيروسية المعطلة النشاط

(Inactivated viral vaccines)

تجرى هذه الاختبارات للتأكد من قتل العترة الفيروسية التي إستخدمت في انتاج اللقاح. مثلا أثناء انتاج لقاح الحمي القلاعية (FMD) تؤخذ بعد اضافة المادة المعطلة للنشاط (BEI) نماذج بعد انقضاء فترات محددة، وتجرى اختبارات معايرة للنماذج في الزرع الخلوي BHK ومن ثم تقارن العيارية مع الزمن بعمل رسم بياني لايجاد النقطة

التى تشير لوجود أقل من فيروس حي واحد فى كل $10^4$ لتر من السائل الفيروسي عند نهاية مدة التعطيل. أما بالنسبة للقاحات الفيروسية المعطلة النشاط المنتجة على البيض المخصب الخالي من امراض معينة (SPF) ، مثل لقاحات النيوكاسل المعطلة، يتم فحص فعالية التعطيل بحقن نماذج من اللقاح فى البيض المخصب.

### 3-5-2-5 إختبار ثبات اللقاح Stability Test :

يطبق هذا الاختبار لدراسة ثبات معيار اللقاح وفعاليته فى ظروف التخزين المختلفة وذلك للتأكد من تمديد فترة صلاحية اللقاح، مما يوفر أفضل الشروط لتخزينه. وعادة يطبق هذا الاختبار على اللقاح المنتج لاول مرة. ويجرى هذا الاختبار باخذ نماذج من اللقاح وتخزينها فى ظروف مختلفة من التبريد والاضاءة ثم يعاير ويختبر اللقاح لمعرفة تدني المعيار أو الفعالية، وتتم المعايرة على فترات مختلفة بفارق 6 شهور. مثلا وجد أن لقاح جدري الاغنام المجفد يظل ثابتا فى خواصه الحيوية لاكثر من 25 عاماً عندما يحفظ عند درجة حرارة -20 درجة مئوية، ولمدة 2 الى 4 أعوام عندما حفظ عند درجة 4 درجة مئوية.

### 3-5-2-6 اختبارات السلامة Safety Test :

تجرى اختبارات السلامة للقاحات باستخدام جرعات تمثل 10 أضعاف الجرعة المطلوبة بالنسبة للقاحات الحية، وضعف الجرعة للقاحات الميتة. ويجرى هذا الاختبار علي اللقاحات الفيروسية، وذلك بحقن حيوانات التجارب الصغيرة (أرانب - فئران - طيور) والحيوانات الكبيرة (أبقار - أغنام - ماعز) المستهدفة، باللقاح بجرعات نظامية ومضاعفة من اللقاح، وتوضع تحت المراقبة المستمرة لمدة معينة لكل لقاح. هذا ويجب أن لايظهر على الحيوان المحقون باللقاح أو حيوانات التحكم والسيطرة أي أعراض مرضية عامة أو موضعية ناتجة من اللقاح.

### 3-5-2-7 الخواص الطبيعية والكيماوية للقاح :

**ا- مظهر اللقاح :**

بالنسبة للقاح المجفد، يجب أن يكون القرص كامل التكوين ومتماسك وبلون مقبول

مع عدم وجود رطوبة أو شوائب. ويجب مقارنة مظهر اللقاح المنتج مع مواصفات المنتج، ومقارنته كذلك مع لقاحات أخرى من نفس النوع. أما بالنسبة للقاحات السائلة يجب أن لايكون لونها متغيرا أو متعكرا أو يحتوى على رواسب غير طبيعية .

**ب- المقدار :**

يجب أن تكون الكمية المستخلصة من قنينة اللقاح مطابقة للمواصفات المرفقة مع اللقاح خاصة بالنسبة للقاحات السائلة.

**ج- نسبة الرطوبة** Residual moisture content :

يتم قياس نسبة الرطوبة المتبقية للقاحات المجفدة باستخدام عدة طرق، ويجب أن لاتتجاوز نسبة 5٪ . وفى العادة تكون النسبة مابين 1٪ الى 3٪ وفى الغالب تستخدم طريقة كارل فيشر لقياس نسبة الرطوبة المتبقية.

**د- اختبار كفاءة الغلق :**

يجرى هذا الاختبار لتأكيد وجود الفراغ، لان تسرب الهواء الى داخل قنينه اللقاح المجفد يؤدى الى سرعة فساده.

**هـ- قياس درجة ثبات اللقاحات الزيتية :**

تحتوى بعض اللقاحات الفيروسية المعطلة النشاط، على مواد مساعدة للمناعة (Adjuvants) ، مثل مستحلب الماء فى الزيت، ولذا عند اجراء فحوصات ضبط الجودة على هذه اللقاحات، ويجب التأكد من رسوخ واستقرار اللقاح الزيتي وقياس درجة أنفصال الطبقة المائية من الطبقة الزيتية وقياس لزوجة المستحلب .

**ز- قياس درجة تركيز مادة هيدروكسيد الالومينيوم** (Aluminium hydroxide):

وتستخدم مادة هيدروكسيد الالومينيوم كمادة مساعدة. وللتأكد من عدم زيادة نسبة جزيئات الالومينيوم فى اللقاح، تجرى إختبارات كيماوية لمعرفة كمية جزيئات الالمونيوم، والتأكد من عدم زيادتها على نسبة 2.5 ملغ فى الجرعة الواحدة.

**ح- قياس فائض مواد التعطيل :**

تستخدم عدة مواد كيماوية فى تعطيل نشاط فيرس اللقاح، مثل الفورمالين والبيتابروبولاكتون. وتجرى الاختبارات الكيماوية لقياس كمية المادة المستخدمة وذلك للتأكد من عدم تجاوز فائض المادة المستخدمة للقدر المسموح به.

**ط- قياس كمية المستضدات في اللقاح :**

يجرى هذا الاختبار للتاكد من أن اللقاح يحتوى على الكمية الكافية من المستضدات، وتستخدم فى هذا الاختبار طرق فيزيائية باستخدام الاشعة، لمعرفة كميات البروتينات فى المستضدات ومقارنتها مع المرجع. ويستخدم هذا الاختبار لقياس جزئيات 146 S المكونة للقاح الحمي القلاعية مثلا .

**ي- قياس درجة التوصيل ودرجة التجميد لمحاليل اذابة اللقاحات المجفدة :**

تستخدم طريقة التوصيل الكهربائي لقياس جودة الماء المقطر الذى يستخدم فى اذابة اللقاحات المجفدة. وفى حالة إستعمال محاليل دارئة تحتوى على أملاح معدنية، يمكن قياس درجة تجمد المحاليل ومقارنتها مع المرجع الذى يحتوى نفس الاملاح، للتأكد من أنها تحتوى على نفس التركيب الذى تشمله الوصفة .

**8-2-5-3 استعادة الضراوة** Reversion to virulerce :

يجب أن تخضع كل اللقاحات الحية المروضه للاختبار عن طريق تمريرها بحقن العائل بالعترة الرئيسية، ثم عزل عترة اللقاح من الانسجة المستهدفة واستخدامها لحقن مجموعة حيوانات أخرى. بعد اجراء خمسة تمريرات يتم تعريف للعترة المعزولة باستخدام نفس طرق الفحص التى تستخدم لفحص العترة الرئيسية. وكمثال لذلك مرض اللسان الازرق فى الضأن Blue tongue. ، حيث يمرر الدم المأخوذ من الحيوانات الملقحة فى مرحلة وجود الفيرس فى الدم ثلاث مرات فى الضأن. اذا لوحظ عدم استعادة الفيروس لضراوته، فان احتمالات استعادته للضراوة فى الحقل قليلة. ويستخدم ايضا هذا الاختبار لنقاح الجمبورو، ويتم بتمرير اللقاح فى الكتاكيت ست مرات بواقع 3 الى 4 أيام لكل تمريره، وبعد انتهاء التمريره السادسة تعطى جرعة من اللقاح للكتاكيت المحصنة، وتعطى ايضا جرعة لكتاكيت التحكم والسيطرة. تراقب الكتاكيت لمدة 14 يوم، ثم تقارن أحجام غدد فابريشوس من الكتاكيت المحقونه وكتاكيت السيطرة. ويجب أن لايكون هناك فرق فى احجام مجموعة الغدد المأخوذة من الكتاكيت المحقونة وكتاكيت التحكم والسيطرة .

**6-3 إختبارات ضبط الجودة على لقاحات الاوليات** (Protozoa) **والريكتسيه** (Rickettsia) :

يجب أن تجرى إختبارات ضبط الجودة قبل وبعد الانتاج، وذلك باتباع نظم ضبط

الجودة المأمونة (QAS) المنصوص عليها فى منشورات المكتب الدولي للاوبئة (OIE). وتعتبر فحوصات ضبط الجودة قبل انتاج اللقاح مهمة جدا وخاصة فى حالة إنتاج لقاح مبرد. ويجب أن تشمل فحوصات ضبط الجودة أماكن إنتاج اللقاح وتطبيق كامل لقواعد التشغيل القياسية (SOP) ، وطرق الحصول على الحيوانات المانحة (Donor animals) وبذور اللقاح والمواد التى سوف تستخدم فى انتاج اللقاح. ويجب ايضا أن تشمل مسح للبيئة المحيطة للتأكد من انتفاء الخطورة عند اجراء اختبارات التحدى فى المناطق التى تقع ضمن دائرة مبني الانتاج. ويجب أن تهدف وسائل ضبط الجودة بعد الانتاج على تحديد الفعالية (Potency) والنقاوة (Purity) والامراضية للقاح المنتج. ويجب فحص كل دفعة منتجة لتأكيد خلوها من الملوثات.

### 1-6-3 لقاحات حمي القراد Tick-fever vaccines :

لإختيار العجول المانحة (Donor selection) ، يجب فحص القطيع الإصلي والتأكد من خلوه من الامراض المعدية، مثل الاجهاض المعدى وسرطان الابقار والحمي القلاعية والطاعون البقري، والحمي العابره ومرض العقد الجلدية. ويجب تأكيد خلو العجول المختارة من الاصابة بالانابلازما Anaplasma والبابيزيا Babesia والبابيزيا بايجمينا B.bigemina والثيريا ميوتانس Theileria mutans . ويتم عزل العجول المختارة لمدة 8 أسابيع فى حظائر مصممه، بحيث تمنع دخول القراد والحشرات. ويتم التحكم فى الدخول والخروج من هذه الحظائر. وتتم مراقبة العجول يوميا ورصد درجة حرارتها. وتؤخذ شرائح من الدم أسبوعيا وتفحص لتأكيد خلوها من الطفيليات التالية :

- المثقبات Trypanosomes .
- البابيزيا Babesia .
- الثيليريا Theileria .
- الانابلازما Anaplasma .
- الارليشيا Ehrlichia .
- البورليه Borrelia .
- البرثروزون Eperythrozoon .

ويتم كل ذلك قبل اجراء عملية استئصال الطحال . ويتم حقن العجول بعد أن يتم استئصال طحالاتها بمادة البذور الرئيسية، وتراقب يوميا وتفحص للطفيليمية (Parasitaemia) . وعند وصول الطفيلمية لاقصي حد لها، يتم جمع الدم من العجول المحقونه ويخفف فى محلول جلسرول مع محلول داريء ثم يوزع فى أنابيب ويجمد.

### 3-6-1-1 إختبارات الحيوية والسلامة Viability and Safety Tests :

يتم فحص الدم للتأكد من خلوه من الملوثات البكتيرية والفطرية وذلك بزرعة فى بيئات الزرع البكتيري والفطري، اضافة الى حقن نماذج من اللقاح فى حيوانات التجارب. هذا ويتم اختبار اللقاح فى عجول مهيئة لهذا الغرض خلال فترة 6 أسابيع. تحقن العجول باللقاح وتخضع للمراقبة ويتم أخذ شرائح دم دوريا لتأكيد خلو العجول المحقونة من طفيليات الدم.

أيضا تجرى الاختبارات المصوليه التالية لتأكيد خلو العجول من الامراض التالية :

| المرض | الاختبار |
|---|---|
| - سرطان الابقار | الترسيب فى أطباق الآجار<br>Agar immunodiffusion test<br>أو<br>الاليزا ELISA |
| - الاجهاض المعدي | إختبار روزبنجال<br>Rose Bengal plate test |
| - البابيزيا | (IFAT) إختبار الضد الوامض غير المباشر<br>Indirect immunofluorescent test |
| - الثيليريا | IFAT |
| - الانابلازما | IFAT |

### 2-1-6-3 إختبار الفعالية Potency test :

هذا وتجهز تخفيفات ثلاثية متسلسلة من اللقاح، وتحقن مجموعات العجول المهيئة لهذا الغرض بجرعات مقدار كل منها 2 مل لكل عجل فى المجموعة، والتى تتكون من 5 عجول أو أكثر، وتحقن عجول أخرى للتحكم والسيطرة (Control group) ، ثم تفحص شرائح الدم قبل وبعد الحقن وتتابع سلامة اللقاح بالفحص والمراقبة وملاحظة ظهور أي أعراض مرضية مرئيـــة، ومع رصـــد لدرجـــة حرارة العجول المحقونة، ثم إجراء تسجيل لـ PCV كل 14 يوم .

### 3-1-6-3 المراقبة والتحكم فى ردود الفعل المناعي بعد التحصين :

تهدف هذه الطرق للاتى :

- للتأكد من أن الاصابة/التحصين قد تم .
- رصد ردود الفعل الحادة بعد التحصين لمعالجتها .

ويتم ذلك بالطرق والوسائل التالية :

أ- المراقبة اليومية للحيوانات المحقونة من اليوم السابع الى اليوم الثاني والاربعين.

ب- فحص شرائح دم مأخوذة من عدد من الابقار المحقونة فى اليوم العاشر واليوم الخامس والثلاثون.

ج- فحص شرائح دم من كل الحيوانات التى درجة حرارتها أكثر من 39.5 درجة مئوية.

د- فحص أمصال من عدد من الابقار فى اليوم الاول واليوم السادس والخمسين.

هذا ويوصى بالتدخل للعلاج فى الحالات التالية :

* اذا لوحظت أعراض مرضية مرئية .
* اذا كانت درجة حرارة الحيوان المحقون أكثر من 40.5 درجة مئوية فى يوم واحد، أو اذا كانت درجة حرارة الحيوان المحقون أكثر من 40 درجة مئوية لمدة 3 أيام متتالية .

### 3-6-2 لقاحات داء الريكتسيا Rickettsiosis :

يجب الحصول على الضأن المانح Donor sheep الذى سوف يستخدم فى إنتاج اللقاح، من منطقة خالية من الامراض الوبائية، وتحفظ الحيوانات فى حظائر أرضياتها مغطاة بطبقة من الاسمنت، ثم ترحل الى منطقة العزل، حيث ترعي لمدة 8 أسابيع قبل البدء فى إنتاج اللقاح. وترش الحيوانات بمبيد للقراد والحشرات وترصد درجات حرارتها وتجهز شرائح الدم كل يومين، وتفحص للتأكد من عدم وجود طفيليات فى الدم. وتحقن الحيوانات ببذور اللقاح، وعندما تصل الطفيلمية أقصى حد لها، يتم جمع الدم وخلطه مع محلول داريء يتكون من سترات ولاكتوز وبيتون، إضافة الى احتوائه على داي ميثايل سلفو اوكسيد DMSO ، ثم يوزع فى قناني ويجمد. تؤخذ نماذج من الدماغ وتفحص للتأكيد من أن الارتفاع فى درجة الحرارة ناتج من الاصابة بالطفيل Cowdria rumi-nantium .

ولاجراء إختبارات الحيوية والسلامة Viability and safety tests

- يحقن اللقاح فى بيئات الزرع البكتيرية والفطرية لتأكيد خلو اللقاح من التلوث .
- يحقن اللقاح فى اثنين من الضأن، وتفحص الحيوانات المحقونة يومياً وترصد درجات الحرارة اليومية لها، وتؤخذ نماذج من الدماغ كل يومين وبعد اليوم الثالث لارتفاع درجة الحرارة، تفحص للتأكيد أن الارتفاع فى درجة الحرارة ناتج من الاصابة بالطفيل C.ruminantium.

#### 3-6-2-1 إختبار الفعالية Potency test :

يتم تقييم فعالية اللقاح بعمل معايرة للقاح باستخدام 10 عجول لكل تخفيفه من اللقاح. وتتم مراقبة الحيوانات المحقونة من اليوم 12 الى اليوم 24 وتعالج الحيوانات المحقونة التى يرصد بها ارتفاع فى درجة الحـــرارة بعقار التتراسايكلين. ويستخدم إختبار الضد الوامض Immunofluoreseent test لفحص الحيوانات المحقونة فى اليوم الاول واليوم 42 بعد الحقن، وذلك بغرض رصد التجاوب المناعى .

### 3-6-3 لقاحات داء الثليريا Theileria vaccines :

يوجد نوعان من لقاحات الثليريا :

- لقاح الثليريا انيولاتا T.annulata .

وينتج على الزرع الخلوي Cell culture .

- لقاح الثليريا بارفا T. parva .

وينتج باستخدام القراد المصاب (infected ticks) .

### 3-6-3-1 إختبارات النقاوة Purity tests :

بالنسبة للقاح الثيليريا انيولاتا تجرى اختبارات ضبط الجودة على كل دفعة من مادة البذور المحفوظة فى النتروجين السائل. وعموما تجرى فحوصات النقاوة لدفعات اللقاح التشغيلية على فترات، وتعتبر هذه الفحوصات مراجعة لعملية الانتاج كلها. وتطبق اختبارات ضبط الجودة التى تجرى على اللقاحات المنتجة على الزرع النسيجي باتباع نظم ضبط الجودة العالمية المنصوص عليها فى منشورات OIE، والقوانين الفدرالية الامريكية للحيوانات والمنتجات الحيوانية US Code for Federal Regulations .

### 3-6-3-2 إختبارات السلامة Safety tests :

بالنسبة للقاح الثليريا انيولاتا T.annulata ، يتم حقن 5 عجول باللقاح، وتراقب الحيوانات المحقونة لمدة شهر، ويتم رصد درجة الحرارة، وتؤخذ شرائح الدم يوميا للفحص. وتجمع أمصال من العجول المحقونة فى اليوم الاول واليوم قبل الحقن، إذ يتم بعد الحقن رصد درجات الحرارة يوميا وتؤخذ شرائح دم ونماذج من العقد اللمفية والكبد اثناء الطور الحاد للاصابة. وتجمع ايضا أمصال من الحيوانات المحقونة بعد 28 يوم للفحص .

### 3-6-3-3 : أختبار الفعالية Potency test :

تحقن مجموعة من العجول باللقاح، وتوضع تحت المراقبة لمدة 6 أسابيع مع مجموعة عجول التحكم والسيطرة، كما تحقن مجموعات العجول بالنوع الضارى الذى يحتوى على الحيوانات البوغية لطفيل الثيليريا انيولاتا T.annulata . يجب أن يعتبر اللقاح فعالا اذا ثبت أن الحيوانات المحقونة قاومت الاصابة بالنوع الضاري للطفيل .

### 4-3-6-3 لقاح الثيليريا بارفا T.parva :

**أ- اختبارات النقاوة Purity tests :**

تعتمد نقاوة اللقاح على التأكد من أن كل المواد والمواد المضافة التى تستخدم فى انتاج اللقاح نقية وخالية من التلوث البكتري والفطري والفيروسي وخالية أيضا من ملوثات القراد والبيئات التى تستخدم لحفظ الحيوانات البوغية (Sporozoites).

**ب- إختبارات الفعالية Potency tests :**

نسبة لاعتبارات إقتصادية تجرى عملية معايرة للقاح باستخدام تخفيفات متسلسلة من اللقاح، ثم بدء حقن اللقاح فى أربعة مجموعات عجول بواقع أربعة عجول لكل تخفيفه، ثم تحسب الجرعة الوسطية الممرضة ($ID_{50}$)، وبالتالى تحدد عدد الجرعات فى كل قنينه لقاح.

## 7-3 المعايير والمقاييس العالمية لضبط جودة اللقاحات البيطرية المنتجة بالتقانات الحيوية الحديثة :

لقد أتاح التقدم المضطرد فى مجالات التقانة الحيوية (Biotechnology) ، وعلوم الاحياء الجزيئية (Molecular Biology)، والهندسة الوراثية (Genetic Engineering) إنتاج لقاحات جديدة، وذلك باستخدام تقانات إعادة تشكيل الحامض النووي للعديد من الكائنات الحية. إن إيجاد القوانين والقواعد التى تحكم تحديد مدى سلامة وفعالية هذه المنتوجات البيولوجية من الضرورة بمكان. وعلى وجه العموم فان معظم هذه القوانين والمعايير تعتبر أن هذه المنتوجات لاتختلف اختلافا جوهريا عن القواعد والقوانين التى تحكم اجازة والتعامل مع المنتجات البيولوجية الاخرى التى تنتج بالطرق التقليدية. وتهتم هذه المعايير بالآثار المترتبة من جراء استعمال هذه المنتجات على الكائنات الحية من انسان وحيوان ونبات، وعلى البيئة بوجه عام .

ففى الولايات المتحدة الامريكية، تصنف معايير وزارة الزراعة الامريكية (USDA) المنتجات البيولوجية البيطرية المشتقة باستخدام تقانات الاحياء الجزيئية والهندسة الوراثية فى ثلاث مجموعات رئيسية .

* **المجموعة الاولى :**

تشمل هذه المجموعة المنتجات البيولوجية الميتة أو غير النشطة من الفيروسات او البكتيريا أو مشتقاتهما، والتوكسيدات ولقاحات مادون الخلية، اللقاحات المركبة، كما تشمل ايضا الاضداد النوعية وحيدة النسيلة (Monoclonal antibodies) ، مثل الاضداد لفيروس السعر الكاذب (Pseudorabies)، وتعامل هذه المنتجات فى هذه المجموعة باعتبارها مجموعة ميتة غير نشطة، ولاتشكل خطراً على الكائن الحي، ولا على البيئة، وبالتالى لاتتطلب إجراءات غير عادية، من حيث ضوابط السلامة ومعايير ضبط الجودة الاخرى.

* **المجموعة الثانية :**

تشتمل هذه المجموعة على كائنات حية تم تعديل تركيب مادتها الوراثية باضافة أو حذف أحد أو مجموعة من الجينات الوراثية. وهذه الجينات قد تكون مسئولة عن صفات وظائف الضراوة (Virulence) . والنشاط الانزيمي، وتكون السرطانات أو الانتيجينات أو أي وظائف أو منتجات حيوية أخرى. ويجب أن يراعي فى هذه الحالة أن التعديل فى تركيب المادة الوراثية، يجب أن لا يتسبب فى أي نتائج سالبة قد تؤدى الى زيادة قدرة الميكروب على تسبيب المرض، أو أي نتائج سالبة أخرى على الكائن المضيف (Host) .

* **المجموعة الثالثة :**

تتكون هذه المجموعة من المنتجات البيولوجية التى استخدمت فيها بعض الميكروبات الحية فاقدة الضراوه كحاملات لاحد أو لعدد من الجينات الوراثية التى تتسبب فى احداث ردود فعل مناعية مرغوبة فى الكائن الذى يحقن باللقاح المحمول. وتشمل هذه المجموعة من الحاملات الفيروسية فيروس الفاكسينا (Vaccinia virus) ، والهربس (Herpes virus) و فيروس الادينو (Adenovirus). ومن الباكتيريا، السالمونيلا (Salmonella) ، الاشريكية القولونية (E.coli) وبعض الخمائر (Yeasts) .

وتتبع هذه المجموعة من اللقاحات المحمولة فى انتاجها وقبل السماح بتداولها أشد الاجراءات صرامة، فيما يتعلق بالاثار السالبة التى يمكن ان تنشأ من جراء استعمالها على الانسان، الحيوان، والبيئة .

## 8-3 التقانات الحديثة المستخدمة لضبط جودة اللقاحات المنتجة بتقانات الاحياء الجزيئية والحيوية:

لا يوجد إختلاف حول الغرض الاساسي لضبط جودة اللقاحات البيطرية الحديثة المنتجة بتقنيات الاحياء الجزيئية والهندسة الوراثية، وغيرها من اللقاحات المنتجة بالطرق التقليدية، إذ تهدف كل الاختبارات الى التأكد من جودة وسلامة وفعالية هذه اللقاحات خلال كل مراحل الانتاج، بدءاً بمرحلة بذور اللقاح وحتى مرحلة الناتج النهائي الذى يستخدم فى الحقل. كما لا يوجد إختلاف حول الاجراءات والاختبارات، التى يجب القيام بها فى كلا الحالتين، الا أنه فى حالة إختبارات لتأكيد الهوية بالنسبة للقاحات المنتجة بتقانات الاحياء الجزيئية والهندسة الوراثية، ينبغى اللجوء لوسائل تحليلية تعتمد على أختبارات معينة تستخدم فيها تقنيات الهندسة الوراثية والاحياء الجزئية.

فعلى سبيل المثال، فى مرحلة ضبط جودة بذور اللقاحات الجزيئية أو المركبة أو المحموله، فإنه لابد من التأكد من صحة وسلامة تركيب الاحماض النووية والبلازميدات، كما لابد من التأكد من حذف وأضافة الجينات الى الحوامل النووية، بالتأكد من المنتجات النهائية لهذه المركبات الوراثية التى تم تشكيلها فى المعمل.

ولهذا السبب لابد من استخدام تقنيات الهندسة الوراثية، التى تشمل تقنية تفاعل سلسلة البوليمريز (Polymerase chain reaction)، المعروفة إختصارا بـ(PCR)، وذلك لاستنساخ الاحماض النووية وبمن ثم تحديد نوع وترتيب وتكوين قواعد الاحماض النووية(Nucleotides sequence) وتخريط الجينات (Genes mapping) فى الشريط الوراثي .

ولتحديد تتابع وترتيب قواعد الاحماض النووية لحمض الـ DNA والـ RNA ، تستخدم تقنية الرحلان الكهربائي فى هلامة الآجاروز أو هلامة البولي اكريل أميد، فيما يعرف تحديدا بتقنيات الـ (Southern blotting) والـ (Northern blotting).

كما يمكن الكشف عن البروتينات وتحديد صفاتها وخصائصها الفيزيائية والمناعية باستخدام وسائل عدة يتمثل أهمها فى التالي :

- SDS-Polyacrylamide gel electrophoresis.

- Immunoblotting (Western blotting).
- Radioimmunoassay.
- Radioimmunoprecipitation.
- Isoelectric focusing.
- High performance liquid chromatography.
- ELISA.
- Use of Monoclonal antibodies.

ويجب أيضاً اجراء تحليل نوعي للمنتجات البيولوجية المنتجة بتقنيات الهندسة الوراثية (مثل البروتينات) بالطرق الكيميائية وتحديد مكوناتها من الاحماض الامينية (amino acid sequencing)، ومقارنة هذه المنتجات مع المنتجات الاساسية لهذه الكائنات، قبل احداث التغييرات الوراثية فى اللقاحات الجزيئية أو المحمولة .

أما بالنسبة لاختبارات الفعالية للقاحات المحضرة بالتقنيات الحيوية فيمكن اجراءها، إما عن طريق اختبار التحصين والتحدى المباشر، أو باستخدام الاختبارات المصلية المختلفة لتحديد مستويات الاضداد النوعية، ولكن ينبغى عند استخدام هذه الاختبارات المصلية أن تستعمل المستضدات (الانتيجنات) النوعية التى أستخدمت فى اللقاح.

## 9-3 الترخيص بانتاج واستخدام وتداول اللقاحات البيطرية المنتجة بالتقانات الحيوية الحديثة :

إن الترخيص باستعمال المواد المنتجة باستخدام التقانات الحيوية الحديثة (المجموعتين الثانية والثالثة) للتجارب الحقلية أو الاستعمال العام، ربما يؤثر على صحة البيئة والانسان، ولذا لابد وقبل اعطاء الترخيص باستخدام هذه المنتجات اجراء تقييم لخطورة المادة المنتجة على صحة البيئة. وتتبع فى الولايات المتحدة الامريكية طريقة يمكن أن تؤخذ كمثال يحتذى فى تقييم خطورة المادة المنتجة. وعموما فان الاطار العام لتقييم الخطورة يجب أن يشمل الاتى :

- الهدف والحاجة للتقييم .
- البدائل إن وجدت .
- قائمة بالوكالات الحكومية والهيئات والاشخاص الذين تم إستشارتهم.
- البيئات المتأثرة والخطورة الكامنه على صحة البيئة على وجه العموم.
- المواضيع التى يجب أن تناقش، والتى لابد أن تشمل التالي : مكونات اللقاح والخطورة على صحة الانسان، والخطورة على صحة الحيوانات المستهدفة وغير المستهدفة، وقدرة المادة المنتجة على البقاء فى البيئة، وإحتمالات إستعادة مكون اللقاح لضراوته .

فاذا أنشئت نتائج الدراسة المتعلقة بتقييم خطورة المادة المنتجة على البيئة، أنه ليست هناك اضراراً على البيئة، بفعل استخدام هذه المادة، يجب اصدار نشرة بهذا المعني وتوزيعها لتوضح نتائج الدراسة. وبشترط أن تكون النتائج فى متناول ايدى الاشخاص العاديين، لتمكينهم من الاضطلاع والتعليق عليها فى ظرف 30 يوماً.

وبعد انقضاء هذه المدة اذا لم تصدر أية أعتراضات على نتائج الدراسة، تسمح السلطات المعنية باجراء التجارب الحقلية أو الترخيص أو اعتماد المادة المنتجة للتوزيع . كما يتم ايضا التحضير لتقييم الخطورة واعلان نتائج التقييم، والذى ربما يستدعي ترتيب لقاء أو لقاءات عامة اذا كان للمنتج له تأثيراً على صحة البيئة أو صحة الانسان. ويجب أن يتم اعلان وعمل دعاية لمثل هذه اللقاءات ويدعي للتحدث فيها الاشخاص المهتمين بهذا الامر، ومناديب الجهة المنتجة وممثلي الحكومة. وتصبح الاوراق أو الاحاديث التى قيلت فى هذه اللقاءات وثائق ملك للعامة.

أما اذا رأت السلطات المعنية اثناء القيام بتقييم الخطورة أن التجارب المقترحة ربما تؤثر على صحة البيئة والانسان، يجب اصدار نشرة توضح لمتخذي القرار والعامة خطورة المنتج على صحة البيئة كما توضح البدائل والاجراءات التى يمكن إتخاذها لتفادي أو تقليل الاثار المترتبة من هذه التجارب .

# الباب الرابع
# عرض لواقع إنتاج اللقاحات البيطرية
# فى الوطن العربي

# الباب الرابع

# عرض لواقع إنتاج اللقاحات البيطرية في الوطن العربي

## 4-1 تمهيد :

من المعلوم أن إنتاج اللقاحات البيطرية يعتبر خط الدفاع الاول فى مكافحة الامراض المستوطنة والوافدة على الدول العربية، لذا فقد ادرك القائمون على أمر الثروة الحيوانية فى الاقطار العربية أهمية إنتاج اللقاحات محليا. وعلى الرغم من الصعوبات الفنية والمادية التى تواجه هذه الصناعة فى الوطن العربي، فإن لها إيجابيات كثيرة، منها ضمان توفر اللقاح وقت الحاجة اليه وتوفير مبالغ طائلة تدفع لاستيراد اللقاحات، وتطوير معرفة الكادر الفني باللقاحات وطرق إنتاجها والتعريف بأفضل طرق التعامل معها. وتشير التقارير القطرية التى أعدتها المنظمة لهذه الغاية الى وجود تعدد فى التقانات المستخدمة فى إنتاج اللقاحات البيطرية فى الوطن العربي مع عدم توافق فى المعايير والمقاييس التى تضبط جودة هذه اللقاحات. وعلى الرغم من ذلك، فإن هناك إتجاها قويا برز من خلال هذه التقارير الى تحديث وادخال تقانات جديدة الى طرق ووسائل إنتاج اللقاحات وضبط جودتها. هذا ويوضح العرض التالي والجداول المرفقة بيان انواع اللقاحات البيطرية المنتجة فى الاقطار العربية. كما يوضح العرض الطرق التقنية المستخدمة لانتاج اللقاحات البيطرية واختبارات ضبط الجودة المطبقة عليها فى أقطار الوطن العربي المختلفة.

## 4-2 أنواع اللقاحات البيطرية المنتجة فى أقطار الوطن العربي :

### 4-2-1 جمهورية مصر العربية :

تنتج فى جمهورية مصر العربية ثلاثة لقاحات بكتيرية خاصة بالحيوانات الكبيرة، الأثنان منها من اللقاحات الميتة، هما لقاح التسمم الدموي الزيتي، ولقاح التفحم العضلي وغرغرينا العضلات، ولقاح حي واحد هو لقاح البي . سي . جي . أما بالنسبة للمجترات

الصغيرة فتنتج أربعة لقاحات ميتة هي لقاح التسمم الدموي، و لقاح دوسنتاريا الحملان والكلي الرخوة، إضافة الى اللقاح الجامع للاغنام ولقاح المرض الاسود (جدول 4-1) .

أما بالنسبة للدواجن، فتنتج خمسة لقاحات جميعها من اللقاحات الميتة، هي لقاح كوليرا الطيور الزيتي الرباعي، ولقاح زكام الطيور المعدي (الكوريزا)، ولقاح زهري الطيور ولقاح التسمم الدموي الزيتي الارنبي متعدد العترات، هذا بالاضافة الى لقاح التسمم الدموي الارنبي (فورمالين) متعدد العترات (جدول 4-2)

وبالنسبة للقاحات الفيروسية، فتنتج مصر ثلاثة لقاحات فيروسية مستضعفة للحيوانات الكبيرة، هي لقاح الطاعون البقري النسيجي، ولقاح طاعون الخيل المستضعف، ولقاح حمي الوادي المتصدع. كما تنتج أربعة لقاحات ميته، هي لقاح طاعون الخيل المثبط الثنائي (العترة 9،4) ولقاح الحمي القلاعية، ولقاح حمي الوادي المتصدع المثبط وأخيراً لقاح ثنائي للحمي القلاعية، وحمي الوادي المتصدع (ماشية) (جدول 4-3). بالنسبة للقاحات الحيوانات الصغيرة تنتج مصر لقاح الجدري النسيجي للضأن ولقاح داء الكلب (جدول 4-3).

وتنتج مصر ستة لقاحات ضد أمراض الدواجن، منها خمسة من اللقاحات الحية، وهي لقاح النيوكاسل العضلي ، ولقاح النيوكاسل العيني، ولقاح جدري الطيور، ولقاح جدري الحمام، ولقاح مرض الجمبورو، بينما تنتج لقاحاً ميتاً واحداً فقط للدواجن، هو لقاح النيوكاسل المثبط (جدول 4-4) .

أما بالنسبة للكواشف التشخيصية، فتنتج جمهورية مصر عدداً من المستضدات (الانتيجنات) البكتيرية لامراض البروسيلا والسالمونيلا والمايكوباكتيريا (تيوبركلين) فى الحيوانات الثديية والطيور (جدول 4-5)، كما تنتج مصر ايضاً مصل التتانوس من عترة هارفارد عالية السمية لبكتيريا كلوستريديم تتناي فى حدود عشرة الف جرعة سنويا.

### 4-2-2 جمهورية السودان :

تنتج بجمهورية السودان فى الوقت الحاضر بمركز بحوث وانتاج اللقاحات البيطرية التابع لهيئة بحوث الثروة الحيوانية/وزارة الثروة الحيوانية، خمسة لقاحات بكتيرية، ثلاثة منها من اللقاحات الحية هي لقاح الحمي الفحمية ، ولقاح الالتهاب الرئوي البللوري

## جدول رقم (4-1)

## اللقاحات البكتيرية للحيوانات الكبيرة والصغيرة المنتجة بجمهورية مصر العربية

| أسم اللقاح | نوع اللقاح | طبيعة اللقاح | البكتيريا / العترة المستخدمة لعمل اللقاح | المادة المساعدة المضافة للقاح | الانتاج السنوي (مليون جرعة) |
|---|---|---|---|---|---|
| التسمم الدموي | ميت | سائل | خليط من<br>P. multocida<br>P. haemolytica<br>(عترات محلية) | زيت | 2 |
| دوسنتاريا الحملان والكلي الرخوة | ميت | سائل | خليط من بكتيريا<br>C. perfringens<br>النوع B + D | شبه | 0.5 |
| اللقاح الجامع للاغنام (7 عترات) | ميت | سائل | خليط من بكتيريا<br>C. perfringens<br>النوع B + D<br>+ C.novyi type B<br>+ C. septicum<br>+ C. tetani<br>+ C. novyi | شبه | 0.1 |
| المرض الاسود | ميت | سائل | C. novyi (B) | شبه | 0.030 |
| التسمم الدموي الزيتي | ميت | سائل | P.multocida type<br>(B : 6) | زيت | 4 |
| التفحم العضلي وغرغرينا العضلات | ميت | سائل | C. chauvoei<br>+ C. septicum | Alum | 1 |
| البي سي جي ( B.C.G ) | حي | سائل | Bacillus of Calmette and Guerin | Sodium glutamate | 3 |

المصدر : المنظمة العربية للتنمية الزراعية، التقارير القطرية المعدة من قبل الدول المضمنه فى الدراسة، الخرطوم ، 1997

## جدول رقم (4-2)
## اللقاحات البكتيرية للدواجن المنتجة
## بجمهورية مصر العربية

| أسم اللقاح | نوع اللقاح | طبيعة اللقاح | البكتيريا / العترة المستخدمة لعمل اللقاح | المادة المساعدة المضافة للقاح | الانتاج السنوي (مليون جرعة) |
|---|---|---|---|---|---|
| لقاح كوليرا الطيور الزيتي الرباعي المطور | ميت | سائل | P. multocida sero-types A:5,A:8, A:9 & D:2 | زيت | 20 |
| لقاح زهري الطيور | ميت | سائل | عترة محلية | لايوجد | حسب الطلب |
| لقاح زكام الطيور المعدي | ميت | سائل | Haemophilus para-gallinarum strains (A & C) | زيت | 10 |
| لقاح التسمم الدموي الزيتي الارنبي متعدد العترات | ميت | سائل | P.multocida bio-types A:3, A:12 and D:11 | زيت | 2 |
| لقاح التسمم الدموي (فورمالين) أرنبي متعدد العترات | ميت | سائل | P.multocida | - | 2 |

المصدر : المنظمة العربية للتنمية الزراعية، التقارير القطرية المعدة من قبل الدول المضمنة فى الدراسة، الخرطوم، 1997.

## جدول رقم (4–3)

## اللقاحات الفيروسية للحيوانات الكبيرة والصغيرة المنتجة بجمهورية مصر العربية

| أسم اللقاح | نوع اللقاح | نوع المزارع | العترة الفيروسية المستخدمة | الطاقة الإنتاجية السنوي (مليون جرعة) |
|---|---|---|---|---|
| لقاح الطاعون البقري النسيجي | حي | الزرع النسيجي خلايا فيرو (Vero cells) | أولد كابيتي Old kabete | 10 |
| طاعون الخيل المستضعف | حي | الزرع النسيجي (خلايا فيرو) | Type I A501 st.<br>Type II OD st.<br>Type III KA st.<br>Type IV Vryheid st.<br>Type V Vathavt st.<br>Type VI 114 st.<br>Type VII karen st.<br>Type IX S2 st. | 4.5 |
| لقاح حمي الوادي المتصدع | حي | الزرع النسيجي خلايا BHK 21 | Smithburn | 10 |
| لقاح طاعون الخيل المثبط ثنائي العترة (9.4) | ميت | الزرع النسيجي خلايا فيرو | Type IV Veryheid<br>Type IX S2 st. | 4.5 |
| لقاح الحمي القلاعية | ميت | الزرع النسيجي BHK 21 clone 13 | FMD "O" subtype<br>"1" strain O1/93 | 10 |
| لقاح حمي الوادي المتصدع | ميت | الزرع النسيجي BHK 21 | ZH 501 | - |
| لقاح ثنائي للحمي القلاعية وحمي الوادي المتصدع | ميت | - | - | - |
| لقاح الجدري النسيجي للضأن | - | خلايا فيرو | Kenyan | 10 |
| لقاح داء الكلب | | البيض المخصب | Flury | 2 |

المصدر : المنظمة العربية للتنمية الزراعية ، التقارير القطرية المعدة من قبل الدول العربية المضمنة في الدراسة، الخرطوم، 1997

## جدول رقم (4-4)

## اللقاحات الفيروسية للدواجن المنتجة بجمهورية مصر العربية

| أسم اللقاح | نوع اللقاح | نوع المنبت | العترة الفيروسية المستخدمة | الانتاج السنوي (مليون جرعة) |
|---|---|---|---|---|
| لقاح النيوكاسل المثبط | ميت | البيض المخصب | Hitchner BI | 20 |
| لقاح النيوكاسل العضلي | حي | البيض المخصب | – | 25 |
| لقاح النيوكاسل العيني | حي | البيض المخصب | – | 20 |
| لقاح جدري الطيور | حي | البيض المخصب | American Beaudette Fowlpox virus strain | 5 |
| لقاح جدري الحمام | حي | البيض المخصب | العترة المجرية | 4 |
| لقاح مرض الجمبورو | حي | البيض المخصب | Bursavac M2 | 25 |

المصدر : المنظمة العربية للتنمية الزراعية ، التقارير القطرية المعدة من قبل الدول العربية المضمنة فى الدراسة، الخرطوم، 1997

## جدول رقم (4-5)

## الكواشف التشخصية (الانتيجنات) المنتجة في بعض الاقطار العربية

| | أسم الانتيجين | نوع البكتيريا المحضر منها | الطاقة الانتاجية (السنوية) |
|---|---|---|---|
| مصر | أنتيجين بروسيلا غير ملون | B. abortus st. 99 | 20 لتر |
| | أنتيجين بروسيلا ملون | ,, ,, ,, ,, | 20 لتر |
| | أنتيجين بروسيلا (روز بنغال) | ,, ,, ,, ,, | 20 لتر |
| | أنتيجين بروسيلا (ريفانول) | ,, ,, ,, ,, | 5 لتر |
| | أنتيجين بروسيلا لاختبار اللبن الحلقي | ,, ,, ,, ,, | 5 لتر |
| | أنتيجين بروسيلا (حمضي متوازن) | ,, ,, ,, ,, | 5 لتر |
| | أنتيجينات السالمونيلا | | |
| | أنتيجين أسهال ابيض ملون حامض | Salmonella Pullorum | 20 مليون وحدة تشخيص |
| | أنتيجين أسهال ابيض (غير ملون) | Salmonella Pullorum | 2000 ملليتر3 |
| | أنتيجين باراتيفويد | Salmonella typhimurium | 2000 ملليتر3 |
| | تيوبركلين نقي طيور (جلد) | M. avium strain D4 & 7169 | 1000 جرعة اختبار |
| | تيوبركلين نقي ماشية (جلد) | M. tuberculosis strain C,PN & DT | 500.000 جرعة اختبار |
| السودان | أنتيجين بروسيلا (ملون) | B. abortus S 19 | 10 لتر |
| | أنتيجين بروسيلا (روز بنغال) | B. abortus S 19 | 10 لتر |
| المغرب | تيوبركلين نقي (أبقار) | B. abortus | تعبئة وتحويل نهائي لانتيجين مستورد عند الطلب |
| العراق | أنتيجين بروسيلا (روز بنغال) | B. abortus | 120.000 جرعة اختبار |
| | تيوبركلين (أبقار) | | 1.2 مليون جرعة اختبار |
| | تيوبركلين (طيور) | | 1.2 مليون جرعة اختبار |

المصدر : حسبت وجمعت من :

المنظمة العربية للتنمية الزراعية ، التقارير القطرية المعدة من قبل الدول العربية المضمنة في الدراسة، الخرطوم، 1997

الساري في الابقار ولقاح مرض البروسيلا في الابقار. هذا بالاضافة الى أثنين من اللقاحات البكتيرية الميتة، هما لقاح التسمم الدموي ولقاح الساق الاسود (التفحم العضلي/الجمرة العرضية)، واللذان يصيبان الحيوانات الصغيرة والكبيرة (جدول 4-6) .

أما بالنسبة للقاحات الفيروسية ، فينتج بالسودان ثلاثة لقاحات فيروسية مستضعفة للحيوانات الكبيرة والصغيرة هي لقاح الطاعون البقري ولقاح طاعون الخيل متعدد العترات، ولقاح جدري الضأن (جدول4-7) ، كما ينتج لقاحان للدواجن هما لقاح مرض النيوكاسل ولقاح جدري الطيور (جدول 4-8) ، هذا بالاضافة الى أن السودان ينتج كميات مقدرة من الانتيجينات التشخيصية لمرض البروسيلا والطاعون البقري (جدول4-5).

### 4-2-3 الجمهورية العربية السورية :

تنتج بسوريا أربعة لقاحات بكتيرية، هي لقاح الانتروتوكسيميا (التسمم المعوي)، ولقاح الجمرة العرضية ولقاح الحمي الفحمية، ولقاح البروسيلا (العترة 19) (جدول 4-9) .

أما بالنسبة للقاحات الفيروسية، فتنتج ثلاثة لقاحات للحيوانات الكبيرة والصغيرة، هي لقاح الطاعون البقري، ولقاح جدري الماعز، ولقاح جدري الاغنام (جدول 4-10)، كما تنتج سوريا ثمانية لقاحات للدواجن، هي لقاح نيوكاسل (عترة ب 1)، ولقاح نيوكاسل عترة لاسوتا، ولقاح نيوكاسل عترة كوماروف ، ولقاح التهاب الشعب الهوائية (أول)، بالاضافة الى لقاح التهاب الشعب الهوائية (ثاني)، ولقاح مرض الجمبورو ولقاح الارتعاش الوبائي، هذا الى جانب لقاح النيوكاسل الزيتي الميت (جدول 4-11).

### 4-2-4 المملكة الاردنية الهاشمية :

في الوقت الحاضر ينتج بالمركز الاردني للقاحات البيطرية التابع لوزارة الزراعة الاردنية، لقاحين من اللقاحات البكتيرية الحية للحيوانات الكبيرة والصغيرة، هما لقاح الحمي الفحمية ولقاح مرض البروسيلا عترة ريف 1 (Rev - 1) بالجرعة المخففة (جدول4-12) . أما بالنسبة للقاحات الفيروسية فتنتج أربعة لقاحات فيروسية مضعفة للحيوانات الكبيرة والصغيرة، هي لقاح الطاعون البقري، ولقاح جدري الضأن، ولقاح جدري الماعز، ولقاح جدري الاغنام والماعز (جدول 4-13). كما تنتج أربعة لقاحات فيروسية للدواجن هي لقاح مرض النيوكاسل، ولقاح التهاب الشعب الهوائية، ولقاح مرض الجمبورو، ولقاح مرض الماريك (جدول 4-14).

## جدول رقم (4-6)

## اللقاحات البكتيرية للحيوانات الكبيرة والصغيرة المنتجة بجمهورية السودان

| أسم اللقاح | نوع اللقاح | طبيعة اللقاح | البكتيريا / العترة المستخدمة لعمل اللقاح | المادة المساعدة المضافة | الانتاج السنوي* (مليون جرعة) |
|---|---|---|---|---|---|
| لقاح التسمم الدموي | ميت | سائل | P. multocida types B:6 & E:6 | Aluminium Hydroxide gel | 2.3 |
| لقاح الساق الاسود (التفحم العضلي) | ميت | سائل | C. Chauvoei Kadogli strain عترة محلية | Aluminium Hydroxide gel | 16 |
| لقاح الحمي الفحمية | ميت | سائل | Bacillus anthracis sterne strain | Saponin | 2.5 |

* الارقام الموضحة فى الجدول توضح متوسط الانتاج السنوي الفعلي فى السنوات الماضية، أما الطاقة الانتاجية السنوية، فيمكن أن تصل الى عدة أضعاف الانتاج الفعلي عند الحاجة أو الطلب.

المصدر : المنظمة العربية للتنمية الزراعية ، التقارير القطرية المعدة من قبل الدول العربية المضمنة فى الدراسة، الخرطوم، 1997

## جدول رقم (4-7)
## اللقاحات الفيروسية للحيوانات الكبيرة والصغيرة المنتجة بجمهورية السودان

| أسم اللقاح | نوع اللقاح | نوع المنابت | العترة الفيروسية المستخدمة | الطاقة الانتاجية السنوية (مليون جرعة) |
|---|---|---|---|---|
| الطاعون البقري | حي | كلي خلايا العجول BKC | Kabete "O" | 4.5 |
| طاعون الخيل متعدد العترات | حي | خلايا فيرو Vero cells | العترات 9،7،6،5،4،3،2،1 | 0.10 |
| لقاح جدري الضأن | حي | خلايا خصي الحملان | العترة 0240 | 0.32 |

المصدر : المنظمة العربية للتنمية الزراعية ، التقارير القطرية المعدة من قبل الدول العربية المضمنة فى الدراسة، الخرطوم، 1997

## جدول رقم (4-8)
## اللقاحات الفيروسية للدواجن المنتجة بجمهورية السودان

| أسم اللقاح | نوع اللقاح | نوع المنابت | العترة الفيروسية المستخدمة | الطاقة الانتاجية السنوية (مليون جرعة) |
|---|---|---|---|---|
| لقاح النيوكاسل | حي | البيض المخصب | عترة كوماروف (K) | 3.3 |
| لقاح جدري الطيور | حي | البيض المخصب | عترة بوديت (Baudette) | 0.73 |

المصدر : المنظمة العربية للتنمية الزراعية ، التقارير القطرية المعدة من قبل الدول العربية المضمنة فى الدراسة، الخرطوم، 1997

## جدول رقم (4–9)

## اللقاحات االبكتيرية للحيوانات الكبيرة والصغيرة المنتجة بالجمهورية العربية السورية

| أسم اللقاح | الطاقة الانتاجية السنوية (مليون جرعة) |
|---|---|
| لقاح الجمرة العرضية | 0.3 |
| لقاح الجمرة الخبيثة | 3 |
| لقاح البروسيلا (ب19) | 0.25 |
| لقاح الانتروتوكسيميا | 13 |

المصدر : المنظمة العربية للتنمية الزراعية ، الدراسة القطرية المعدة من وزارة الزراعة والاصلاح الزراعي السورية لاغراض هذه الدراسة، الخرطوم، 1997

## جدول رقم (4–10)

## اللقاحات الفيروسية للحيوانات الكبيرة والصغيرة المنتجة بالجمهورية العربية السورية

| أسم اللقاح | نوع المنابت | الطاقة الانتاجية السنوية (مليون جرعة) |
|---|---|---|
| لقاح الطاعون البقري | مزارع الانسجة | 1.5 |
| لقاح جدري الماعز | مزارع الانسجة | 0.5 |
| لقاح جدري الاغنام | مزارع الانسجة | 14.5 |

المصدر : المنظمة العربية للتنمية الزراعية ، الدراسة القطرية المعدة من وزارة الزراعة والاصلاح الزراعي السورية لاغراض هذه الدراسة، الخرطوم، 1997

## جدول رقم (4–11)
## اللقاحات الفيروسية للدواجن المنتجة
## بالجمهورية العربية السورية

| أسم اللقاح | نوع اللقاح | نوع المنابت | العترة الفيروسية المستخدمة | الطاقة الإنتاجية السنوية (مليون جرعة) |
|---|---|---|---|---|
| لقاح النيوكاسل (ب1) | | البيض المخصب | هتشنر ب 1 Hitchiner B-1 | 100 |
| لقاح نيوكاسل (لاسوتا) | | البيض المخصب | لاسوتا Lasota | 100 |
| لقاح نيوكاسل (كوماروف) | | البيض المخصب | كوماروف Komarov | 10 |
| لقاح التهاب الشعب الهوائية (أول) | | البيض المخصب | | 40 |
| لقاح التهاب الشعب الهوائية (ثاني) | | البيض المخصب | | 15 |
| لقاح الجمبورو | | البيض المخصب | | 40 |
| لقاح الارتعاش الوبائي | | البيض المخصب | | 7 |
| لقاح نيوكاسل زيتي | ميت | البيض المخصب | | 3 |

المصدر : المنظمة العربية للتنمية الزراعية ، دراسة قطرية أعدت بالتعاون بين المنظمة ووزارة الزراعة والاصلاح الزراعي بسورية لاغراض هذه الدراسة ، الخرطوم ، 1997

## جدول رقم (4-12)
## اللقاحات البكتيرية للحيوانات الكبيرة والصغيرة المنتجة بالمملكة الاردنية الهاشمية

| أسم اللقاح | نوع اللقاح | طبيعة اللقاح | البكتيريا / العترة المستخدمة | المادة المساعدة المضافة | الطاقة الانتاجية (مليون جرعة) |
|---|---|---|---|---|---|
| لقاح الجمرة الخبيثة | حي | سائل | B. anthracis Sterne (34 F2) العترة | | 0.3 |
| لقاح البروسيلا | حي | مجفد | B. abortus (Rev - 1) | كازين مهضوم + غلوثومات صوديوم + سكروز أوحليب منزوع الدسم | 0.86 |

المصدر : المنظمة العربية للتنمية الزراعية ، دراسة قطرية أعدت بالتعاون بين المنظمة ووزارة الزراعة والاصلاح الزراعي بسورية لاغراض هذه الدراسة ، الخرطوم ، 1997

## جدول رقم (4-13)

### اللقاحات الفيروسية للحيوانات الصغيرة والكبيرة المنتجة بالمملكة الاردنية الهاشمية

| أسم اللقاح | نوع اللقاح | نوع المنابت | العترة الفيروسية المستخدمة | الطاقة الانتاجية السنوية (مليون جرعة) |
|---|---|---|---|---|
| لقاح الطاعون البقري | حي | خلايا فيرو | عترة RBOK 95 | 0.267 |
| لقاح جدري الضأن | حي | خلايا خصي الحملان | RM/65 | 2.245 |
| لقاح جدري الماعز | حي | خلايا خصي الحملان | Georgan strain | 0.539 |
| لقاح جدري الاغنام والماعز | حي | خلايا خصي الحملان | SGP 024 | - |

المصدر : المنظمة العربية للتنمية الزراعية ، دراسة قطرية أعدت بالتعاون بين المنظمة ووزارة الزراعة الاردنية ، الخرطوم ، 1997

## جدول رقم (4-14)

### اللقاحات الفيروسية للدواجن المنتجة بالمملكة الاردنية الهاشمية

| أسم اللقاح | نوع المنابت | الانتاج السنوي* (مليون جرعة) |
|---|---|---|
| لقاح النيوكاسل | البيض المخصب | 1 |
| لقاح التهاب الشعب الهوائية | البيض المخصب | 2 |
| لقاح الجمبورو | خلايا الزرع النسيجي | |
| لقاح الماريك | خلايا الزرع النسيجي | - |

* الارقام توضح الانتاج السنوي لعام 1990

المصدر : المنظمة العربية للتنمية الزراعية ، دراسة قطرية أعدت بالتعاون بين المنظمة ووزارة الزراعة الاردنية ، الخرطوم ، 1997

### 4-2-5 المملكة المغربية :

تتولى شركة الانتاجات البيولوجية والصيدلية البيطرية (بيوفارما)، أنتاج عدد من اللقاحات البيطرية البكتيرية والفيروسية. وفى الوقت الحاضر تنتج الشركة بالنسبة للحيوانات الكبيرة والصغيرة لقاح الحمي الفحمية، ولقاح الحمي العضلية، ولقاح مزدوج للحمي الفحمية والحمي العضلية (جدول 4-15). كما تقوم الشركة بانتاج اللقاحات الفيروسية التالية للحيوانات الكبيرة والصغيرة، لقاح طاعون الخيل الفيروسي الموهن، ولقاح جدري الاغنام، ولقاح جدري الابل، ولقاح داء الكلب، والاخيران من اللقاحات الميتة (جدول 4-16) . أما بالنسبة للدواجن فتنتج الشركة لقاح النيوكاسل (جدول 4-16). بالاضافة الى أنتاج اللقاحات السالف ذكرها تقوم شركة بيوفارما بالتعبئة والتحويل النهائي للقاح الخامد ضد مرض الحمي القلاعية، والانتجين الخاص بتشخيص داء السل الرئوي فى الابقار بعد استيراده مكثفاً من أوروبا.

### 4-2-6 الجمهورية العراقية :

بدأ العراق أنتاج اللقاحات البيطرية لاول مرة عام 1934 بمختبر الهيئة العامة للبيطرة. وفى الوقت الحاضر تنتج بالجمهورية العراقية خمسة لقاحات بكتيرية للحيوانات الكبيرة والصغيرة هي لقاحات الجمرة الخبيثة، ولقاح عفونه الدم النزفية ولقاحين للبروسيلا ولقاح كوبغداد، كما ينتج لقاح بكتيري واحد للدواجن هو لقاح كوليرا الدجاج (جدول 4-17). أما بالنسبة للقاحات الفيروسية فينتج للحيوانات الصغيرة والكبيرة أربعة لقاحات، هي لقاح الطاعون البقري، وجدري الاغنام وجدري الماعز والحمي القلاعية (جدول 4-18)، إضافة الى سبعة لقاحات للدواجن هي نيوكاسل B1، نيوكاسل لاسوتا، وكمبورو (تاد + لوكرت) ، وجدري الدجاج و التهاب الشعب الهوائية (H120)، هذا الى جانب إنتاج لقاح التهاب الشعب الهوائية (H52) ، ولقاح نيوكاسل الزيتي (جدول4-19). بالاضافة الى هذا ينتج العراق لقاح طفيلي واحد ضد مرض الثايليريا وكواشف تشخيصية (أنتيجينات)، ضد أمراض البروسيلا والسل الرئوي فى الابقار، والسل الرئوي فى الطيور (جدول 4-5) .

### 4-2-7 الجماهيرية العربية الليبية الشعبية الاشتراكية العظمي :

بدأ فى ليبيا الانتاج المحلي للقاحات الفيروسية عام 1989، بانتاج لقاح جدري

## جدول رقم (4-15)
## اللقاحات البكتيرية للحيوانات الكبيرة والصغيرة المنتجة بالمملكة المغربية

| أسم اللقاح | الطاقة الانتاجية (مليون جرعة) |
|---|---|
| لقاح الحمي الفحمية | 1 |
| لقاح الحمي العضلية | 0.015 |
| اللقاح المزدوج للحمي الفحمية والحمي العضلية | - |
| لقاح الاجهاض المعدي | 0.100 |

المصدر : المنظمة العربية للتنمية الزراعية ، دراسة قطرية أعدت بالتعاون بين المنظمة ووزارة الزراعة الاردنية ، الخرطوم ، 1997

جدول رقم (4-16)
اللقاحات الفيروسية للحيوانات الصغيرة والكبيرة
والدواجن المنتجة بالمملكة المغربية

| أسم اللقاح | نوع اللقاح | نوع المنابت |
|---|---|---|
| لقاح طاعون الخيليات | حي | الزرع النسيجي |
| لقاح جدري الابل | ميت | الزرع النسيجي |
| لقاح داء الكلب | ميت | الزرع النسيجي |
| لقاح جدري الاغنام | | الزرع النسيجي |
| لقاح النيوكاسل | | البيض المخصب |

المصدر : المنظمة العربية للتنمية الزراعية ، دراسة قطرية أعدت بالتعاون بين المنظمة ووزارة الفلاحة والاستثمار الفلاحي بالمملكة المغربية لاغراض هذه الدراسة، الخرطوم ، 1997 .

جدول رقم (4-17)
اللقاحات البكتيرية للحيوانات الكبيرة والصغيرة
والدواجن المنتجة بالجمهورية العراقية

| أسم اللقاح | البكتيريا / العترة المستخدمة | الطاقة الانتاجية (مليون جرعة) |
|---|---|---|
| لقاح الجمرة الخبيثة | | 1.5 |
| لقاح عفونة الدم النزفية | | 1 |
| لقاح كوبغداد | C. welchii types C and D<br>C. novyi type B | 3 |
| لقاح البروسيلا (ب19) | B. abortus strain 19 | 2.4 |
| لقاح البروسيلا (ريف - 1) | B. melitensis Rev-1 | 3.6 |
| لقاح كوليرا الدجاج | | 3 |

المصدر : المنظمة العربية للتنمية الزراعية ، دراسة قطرية أعدت بالتعاون بين المنظمة ووزارة الزراعة العراقية لاغراض هذه الدراسة، الخرطوم ، 1997.

## جدول رقم (4-18)

## اللقاحات الفيروسية للحيوانات الصغيرة والكبيرة المنتجة بالجمهورية العراقية

| أسم اللقاح | العترة الفيروسية المستخدمة | الطاقة الانتاجية السنوية (مليون جرعة) |
|---|---|---|
| لقاح الطاعون البقري | | 6 |
| لقاح جدري الاغنام | | 12 |
| لقاح جدري الماعز | | 1.5 |
| لقاح الحمي القلاعية | (O,A,Asia 1) | - |

المصدر : المنظمة العربية للتنمية الزراعية ، دراسة قطرية أعدت بالتعاون مع وزارة الزراعة العراقية لاغراض هذه الدراسة، الخرطوم ، 1997

## جدول رقم (4-19)

## اللقاحات الفيروسية للدواجن المنتجة بالجمهورية العراقية

| أسم اللقاح | الطاقة الانتاجية السنوية (مليون جرعة) |
|---|---|
| لقاح نيوكاسل B 1 | 2 |
| لقاح نيوكاسل لاسوتا | 400 |
| لقاح كمبورو (تاد+لوكرت) | 100 |
| لقاح جدري الدجاج | 40 |
| لقاح التهاب الشعب الهوائية (H120) | 100 |
| لقاح التهاب الشعب الهوائية ( H52) | 20 |
| لقاح نيوكاسل الزيتي | 4 |

المصدر : المنظمة العربية للتنمية الزراعية ، دراسة قطرية أعدت بالتعاون مع وزارة الزراعة العراقية لاغراض هذه الدراسة، الخرطوم ، 1997

الاغنام، ثم أنتج بعد ذلك لقاح النيوكاسل، ولقاح القمبورو للدواجن في العام 1990. وفي العام 1991 بلغ الانتاج لكل من لقاح جدري الاغنام ولقاح النيوكاسل مليون جرعة من كل لقاح ولكن تعثر ثم توقف العمل في انتاج اللقاحات الفيروسية بعد ذلك. وبالنسبة للقاحات البكتيرية، فلقد أنتج لقاح البروسيلا (Suis type 2) في الفترة 1988 وحتى 1991. واستخدم اللقاح في الحقل ولكن توقف الانتاج بعد ذلك .

### 8-2-4 جمهورية الصومال :

خلال الفترة من عام 1982 وحتى عام 1986، أقيم بالصومال مشروع بأشراف وتمويل من منظمة الاغذية الزراعة للامم المتحدة (FAO) لانتاج لقاح الطاعون البقري محليا. ولقد نفذ المشروع مجموعة خبراء من جمهورية تشيكوسلوفاكيا بالتعاون مع الخبراء الصوماليين آنذاك، ولقد أنتج خلال تلك الفترة حوالي خمسة مليون جرعة من لقاح الطاعون البقري، أربعة ملايين جرعة منها استعملت لتحصين الحيوانات محليا، بينما صدرت مليون جرعة الى يوغندا.

### 9-2-4 الجمهورية اللبنانية :

في لبنان كان مختبر الفنار التابع لمؤسسة الابحاث العلمية الزراعية يعمل على انتاج بعض أنواع اللقاحات البيطرية. وخلال عام 1995 بلغ انتاج هذا المختبر 14 مليون جرعة من لقاح نيوكاسل B1 ، و12.7 مليون جرعة من لقاح نيوكاسل لاسوتا، و1 مليون جرعة من لقاح جدري الدجاج، و0.5 مليون جرعة من لقاح الحمي الجمراوية (الجمرة الخبيثة).

أما في الوقت الحاضر، فان مختبر الفنار لاينتج أي نوع من اللقاحات البيطرية، نظرا لعدم توفر الاعتمادات اللازمة لانتاج هذه اللقاحات بسبب غلاء المواد الخام الداخلة في صناعة اللقاحات البيطرية.

أما الاقطار العربية التي لايوجد بها انتاجاً محليا للقاحات البيطرية، فتشمل سلطنة عمان، دولة الامارات العربية المتحدة، ودولة قطر، ودولة البحرين، والجمهورية العربية اليمنية، والجمهورية الاسلامية الموريتانية.

## 3-4 الطرق التقنية المستخدمة لانتاج اللقاحات البيطرية فى الوطن العربي :

بدأ الاهتمام بالتحصين ضد الامراض الوبائية التى تصيب الثروة الحيوانية فى الوطن العربي منذ وقت مبكر فى مطلع هذا القرن. وبمرور السنوات ومع ازدياد اعداد الثروة الحيوانية فى هذه الاقطار ومع ازدياد الوعي بأهمية التحصين ضد الامراض الحيوانية المختلفة نتيجة للاثار الايجابية التى ترتبت على ممارسة التحصين للحيوانات الاليفة، والمتمثلة فى حماية القطعان القومية، ولتقليل التكلفة الاقتصادية نتيجة استيراد اللقاحات، ولامكانية انشاء صناعات وطنية تعني بتدريب الكوادر والقدرات الوطنية من فنيين وعمال، ولامكانية انتاج اللقاحات من العترات المحلية لتحسين المناعة، رأت كثير من الاقطار العربية البدء فى أنتاج اللقاحات البيطرية محليا .

ففى السودان على سبيل المثال، أنتج أول لقاح بيطري ضد مرض الالتهاب الرئوي البللوري الساري فى الابقار عام 1925 ، وذلك بطريقة حقن الدوارق الزجاجية المحتوية على الاوساط المغذية السائلة ببذور اللقاح، وتبع ذلك انتاج لقاح الساق الاسود (التفحم العضلي)، ولقاح التسمم الدموي فى الاربعينات من هذا القرن. وفى عام 1984 أنتج لقاح الحمي الفحمية البكتيري بطريقة زرع زجاجات رو (Roux Bottles) المحتوية على الاوساط المغذية الصلبة ببذور اللقاح. وأخيرا أدخلت تقنية المخمرات (المفاعلات الحيوية) فى عام 1985، وهي التقنية المستخدمة حاليا لانتاج جميع اللقاحات البكتيرية بجمهورية السودان .

أما بالنسبة لانتاج اللقاحات الفيروسية بالسودان، فلقد أنتج أول لقاح فيروسي ضد مرض الطاعون البقري عام 1931 . وبدأ أنتاج اللقاحات الفيروسية للدواجن عام 1963، بانتاج لقاح النيوكاسل عن طريق حقن البيض المخصب (المفرخ) ببذور اللقاح (الفيروس عترة كوماروف المستضعفة). وتبع ذلك انتاج عدد آخر من لقاحات الدواجن باستخدام طريقة البيض المخصب. وأخيرا أدخلت تقنية المزارع النسيجية فى أوائل السبعينات لانتاج لقاحات الحيوانات الكبيرة، مثل لقاح الطاعون البقري ولقاح طاعون الخيل ولقاحات الحيوانات الصغيرة مثل لقاح جدري الضأن وأستخدمت لهذا الغرض المزارع النسيجية المحضرة من خطوط الخلايا الحية المعروفة عالميا، وخلايا محضرة محلياً من أعضاء

وأنسجة الحيوانات الثديية وأجنة الدواجن .

وبالنسبة للجمهورية العربية السورية، فلقد بدأ أنتاج اللقاحات البيطرية بالطرق التقليدية وتطورت وسائل الانتاج نوعياً وإزدادت كميات الانتاج فى السبعينات، حين استخدمت تقنيات الزرع النسيجي المعتمدة على الخطوط الخلوية فى انتاج اللقاحات الفيروسية. وفى نهاية السبعينيات أدخلت تقنية أنتاج لقاحات الدواجن الفيروسية باستخدام البيض المخصب (المفرخ). أما تقنية المخمرات فلقد استخدمت فى نهاية الثمانينات لانتاج اللقاحات البكتيرية. وفى الوقت الحاضر تستخدم تقنية التخمير لانتاج لقاح الانتروتوكسيميا (التسمم المعوي)، ولقاح الجمرة الخبيثة، بينما تستخدم تقنية زرع الوسائط المغذية الصلبة لانتاج لقاح الجمرة الخبيثة ولقاح البروسيلا (ب 19).

وفى المملكة الاردنية الهاشمية بدأ أنتاج اللقاحات البيطرية فى بداية عام 1969 ، حين انتج لقاح ضد مرض النيوكاسل الفيروسي فى الدواجن، وذلك باستخدام تقنية حقن البيض المخصب (المفرخ). كما أنتج ايضا لقاح الحمي الفحمية البكتيري بواسطة زرع الاوساط المغذية الصلبة فى زجاجات رو، وأتبعت التقنية الاخيرة لانتاج لقاح البروسيلا البكتيري من العترة ريف 1 (Rev - 1). وفى العام 1975 حدث تطور من الناحية التقنية، وأنتجت لقاحات فيروسية جديدة، هي لقاحات جدري الماعز وجدري الضأن وأستخدمت لذلك تقنيات المزارع النسيجية. وفى العام 1988 أفتتح المركز الاردني للقاحات البيطرية، وهو المكان الذى تنتج فيه اللقاحات البيطرية حالياً بالاردن .

وفى المملكة المغربية تقوم شركة الانتاجات البيولوجية والصيدلية البيطرية (بيوفارما)، بانتاج عدد من اللقاحات البيطرية، وذلك منذ عام 1985. وقد بدأت هذه الشركة بأنتاج لقاح الحمي الفحمية البكتيري أولا عن طريق زرع الاوساط المغذية الصلبة المحضرة فى زجاجات رو، ثم أستبدلت هذه الطريقة فيما بعد بتقنية المخمرات، وهي ذات التقنية التى تستخدم فى الوقت الحاضر لانتاج لقاحات التسمم المعوي فى الاغنام ولقاح الحمي العضلية فى الحيوانات الكبيرة. كما ينتج ايضا بطريقة التخمير لقاح مزودج ضد مرضى الحمي الفحمية والحمي العضلية .

أما بالنسبة للقاحات الفيروسية، فتستخدم تقنية الزرع فى البيض المخصب (المفرخ) لانتاج لقاحات الدواجن الفيروسية. وتستخدم تقنية الزرع النسيجي لانتاج

اللقاحات الفيروسية للحيوانات الكبيرة .

أما بالنسبة لجمهورية مصر العربية والمملكة العربية السعودية، فقد إستطاعت هذه الاقطار تطوير قدراتها الانتاجية وإمتلاك وسائل التقنية الحديثة والخبرة الجيدة. وينتج فى هذه الاقطار عدد من اللقاحات البكتيرية باستخدام الطرق التقليدية للزرع البكتيري، وتقنية المخمرات وعدد أكبر من اللقاحات الفيروسية للحيوانات الصغيرة والكبيرة والدواجن باستخدم تقنيات الزرع فى الانسجة الخلوية والبيض المخصب (المفرخ) .

وفى ليبيا استخدمت خلال العام 1991 تقنية الزرع فى البيض المخصب (المفرخ)، لانتاج لقاحي النيوكاسل والقمبورو، واستوردت لهذا الغرض كميات كبيرة من البيض الخالي من أمراض معينة (SPF) .

أما فى الصومال، فلقد استخدمت تقنية الزرع النسيجي للخلايا الاولية المحضرة من كلي العجول عمر اسبوع، والخالية من الامراض الفيروسية والبكتيرية. وقد استخدم لهذا الغرض عترة من الفيروس (Pirbright Rbok) .

أما فيما يتعلق باستخدام الطرق الحديثة والتقانات الحيوية (كالهندسة الوراثية)، فلقد أتضح باستعراض التقارير القطرية لدول الوطن العربي، خلو هذه التقارير من أي أشارة الى استخدام أي من هذه التقانات الحيوية على مستوى الانتاج الفعلي للقاحات البيطرية فى هذه الاقطار .

## 4-4 إختبارات ضبط الجودة المطبقة على انتاج اللقاحات البيطرية فى أقطار الوطن العربي :

### 4-4-1 جمهورية مصر العربية :

تتضمن اختبارات ضبط الجودة المطبقة فى جمهورية مصر العربية، المعايير المطبقة عالميا للحكم على اللقاحات البيطرية، وتشمل هذه الاختبارات إختبارات تأكيد الهوية، الخلو من التلوث، والسلامة والفاعلية. وقد وضعت بروتوكولات لتقييم مختلف أنواع اللقاحات البيطرية، سواء للحيوانات الصغيرة، والكبيرة أو الدواجن، وذلك بالرجوع الى المراجع العالمية الخاصة بتقييم هذه اللقاحات وتشمل هذه المراجع :

- المعايير والقواعد الاتحادية الامريكية Code of Federal Regulations (U.S.A).
- القواعد البيطرية البريطانية (كودكس) British Vet. Codex .
- معايير ونظم هيئة الصحة العالمية WHO Standards .
- معايير منظمة الاغذية والزراعة للامم المتحدة FAO Standards .
- معايير ونظم المكتب الدولي للاوبئة OIE Standards

وقد روعي عند وضع البروتوكولات الظروف المحلية، وأنسب الاختبارات التى يمكن تطبيقها عمليا. كما تم تشكيل لجان وزارية لمعايرة كل لقاح من اللقاحات المنتجة محليا أو المستوردة، حتى تلك اللقاحات التى ليس لها مثيل محلي. وتقوم هذه اللجان بمعايرة كل دفعة من دفعات اللقاحات المنتجة محليا قبل التصريح باستخدامها. وتضم هذه اللجان، ممثل عن القسم القائم بتحضير اللقاح وعضو من أطباء الهيئة العامة للخدمات البيطرية، وكذلك ايضا عضو من أعضاء هيئة التدريس بالجامعات المصرية. كما تم مؤخرا انشاء معامل مركزية للرقابة على المستحضرات الحيوية البيطرية، حيث يقوم العاملين فيها بمعايرة اللقاحات، بمساعدة واشراف اللجان الوزارية المختصة.

### 2-4-4 جمهورية السودان :

تخضع عملية أنتاج اللقاحات البيطرية فى السودان لممارسات الصناعة الجيدة (Good Manufacturing Practice) ، ومتطلبات الممارسات الجيدة (Good Laboratary Practice) ، من حيث استيفاء مختبرات الانتاج لمواصفات السلامة وأدوات الانتاج اللازمة، ووجود الكادر الفني المؤهل وإتباع طرق ومعايير الانتاج وضبط الجودة المتعارف عليها عالميا. وتتبع على وجه الخصوص المعايير والطرق الفنية الواردة فى مطبوعات المكتب الدولي للاوبئة بباريس (OIE) ومنظمة الاغذية والزراعة للامم المتحدة (FAO) بروما، والمعايير البريطانية الواردة فى (British Veterinary Codex) ، ودستور الصيدلة البريطاني (British Pharmacopocia) ، ومعايير منظمة الصحة العالمية (WHO).

هذا ويتم ضبط جودة اللقاحات البيطرية المنتجة خلال ثلاث مراحل هى :

مرحلة انتاج البذور، ومرحلة الانتاج الرئيسية، ومرحلة الناتج النهائي. وتشمل إختبارات ضبط الجودة التى تجرى خلال هذه المراحل معظم الاختبارات الطبيعية والكيميائية والاختبارات الحيوية والتى من أهمها أختبار تأكيد الهوية، وإختبار الخلو من التلوث، وإختبار التعطيل بالنسبة للقاحات البكتيرية الميتة ، اختبارات الفعالية عن طريق تحصين حيوانات التجارب والتحدى المباشر، أو عن طريق إجراء الاختبارات المصلية المختلفة، لقياس مستويات الاضداد النوعية فى أمصال الحيوانات المحصنة.

### 4-4-3 الجمهورية العربية السورية :

تعتمد عملية مراقبة ضبط الجودة للقاحات البيطرية المعتمدة فى سوريا بشكل عام، على الفارماكوبيا البريطانية والاوروبية، والكودكس البريطانية، كما يؤخذ بعين الاعتبار بمعايير وتوصيات المنظمات الدولية العاملة فى هذا المجال، مثل منظمة الصحة العالمية ومنظمة والاغذية والزراعة للامم المتحدة والمكتب الدولي للاوبئة.

أما بالنسبة للقاحات البكتيرية، فتجرى عمليات ضبط الجودة خلال مرحلتين، المرحلة الاولى خلال عمليات التصنيع، والمرحلة الثانية لمراجعة المنتج النهائي. هذا بالاضافة الى التأكيد الاولى لمطابقة بذور اللقاح للمواصفات المطلوبة.

وتهتم على وجه العموم هذه الاختبارات بمظهر اللقاح، من حيث اللون والقوام والرائحة وطبيعة اللقاح والاختبارات الحيوية الاخرى، مثل أختبار تأكيد الهوية والسلامة واختبار التعطيل واختبار النقاء، واختبار الفعالية والثباتية، واختبارات المعايرة بالنسبة للقاحات الفيروسية، والعد البكتيري للقاحات البكتيرية الحية وإختبار السمية. كما تستخدم الاختبارات المصلية المختلفة فى اختبارات الهوية والمسوحات المناعية.

### 4-4-4 المملكة الاردنية الهاشمية :

تأتى اللقاحات المستخدمة فى الاردن من مصدرين، الاول الانتاج المحلي والثاني المستورد من الخارج، وفى كلا الحالتين، فان هذه اللقاحات تخضع للمواصفات والمقاييس العالمية. فمثلا إنتاج المركز الاردني للقاحات البيطرية قد أستوفى الشروط اللازمة لتحقيق متطلبات الصناعة الجيدة (GMP) ، حسب الجهة الاوربية مانحة

الترخيص، وهي معهد بول أرليخ (Paul Erlich) في المانيا الاتحادية. ونسبة لان الاردن لم يحدد مواصفات أردنية في مجال اللقاحات البيطرية، فانه قد تم اعتماد المواصفات العالمية المعروفة .

هذا وتجرى إختبارات ضبط الجودة على مراحل الانتاج التالية :

أ- **بذور اللقاح** : وعليها تجرى كافة الاختبارات الحيوية المتعلقة بتأكيد هوية العترة/الميكروب، والخواص الحيوية من الوسط المغذي الزرعي، وحساسية الميكروب، والخلو من التلوث والسلامة والفعالية.

ب- **اثناء التصنيع** (In Process Control) ، يتم التأكد خلال هذه المرحلة من الخلو من التلوث، وتأكيد الهوية والثباتية ومراقبة الطفرات الوراثية، ومراقبة عملية تخزين المحصول والسلامة وفعالية اللقاح، وذلك عن طريق إجراء إختبار التحدى، كما يستعان بالاختبارات المصلية لتحديد مستويات الاضداد النوعية في أمصال الحيوانات المحصنة.

### 5-4-4 المملكة المغربية :

تتبع في المملكة المغربية شروط ضبط الجودة المنصوص عنها في الدساتير الصيدلية العالمية، وأهم هذه الدساتير، الامريكية والاوروبية. وبالنسبة للقاحات البيطرية تجرى اختبارات ضبط الجودة اللازمة على مراحل الانتاج الثلاث، وتشمل هذه الاختبارات، اختبارات تأكيد الهوية والفعالية والسلامة، والخلو من التلوث، وقياس كثافة النمو بالنسبة للقاحات البكتيرية بمقياس الكثافة البصرية (Optical Density). وبالنسبة للفيروسات، يتم ذلك بمعايرة الفيروس في الزرع النسيجي أو البيض المخصب. ويجرى الاهتمام بوجه خاص بتأكيد إختبارات الخواص الطبيعية و الكيميائية على الناتج النهائي. وتختبر فعالية اللقاحات باجراء إختبار التحصين والتحدى لحيوانات التجارب، وقياس الاضداد النوعية في مصول الحيوانات المحصنة.

وفي عدة حالات ونظرا لتكلفة إختبار التحدى في الحيوانات، لايجرى هذا الاختبار الا مرة واحدة عند التطوير النهائي للقاح لاول مرة، ويكتفى بعد ذلك بالاختبار المصلى (السيرولوجي)، وبعد تحصين الحيوانات بالجرعات الموصي بها، ومن ثم يتم أخذ عينات

من مصل هذه الحيوانات ليجرى عليها اختبار التعادل المصلي (Neutralisation) ، والذى يعطى قياسا لمستويات الاضداد النوعية. كما يمكن إجراء عدد كبير من الاختبارات المصلية، اهمها على وجه الاطلاق اختبار تثبيت المتممة، واختبار الضد الوامض، وإختبار التلازن الدموي، واختبار الترسيب فى أطباق الاجار، واختبار الروز المناعي المرتبط بالخمائر.

### 6-4-4 جمهورية الصومال :

فى الصومال وفى خلال الفترة (1982-1986)، والتى كان ينتج فيها لقاح الطاعون البقرى محليا، وقد اتبعت نظم لضبط جودة اللقاح المنتج تتفق والمعايير الدولية الصادرة من منظمة الصحة العالمية عام 1970، والتى تم مراجعتها فيما بعد بواسطة منظمة الاغذية والزراعة للامم المتحدة عام 1985 ، بالاضافة الى المعايير الخاصة بضبط جودة اللقاحات الفيروسية المعتمدة فى جمهورية تشيكوسلوفاكيا.

# الباب الخامس
# الاعتبارات الفنية والبيئية لتحديد أنسب التقانات الحديثة لانتاج اللقاحات البيطرية في أقطار الوطن العربي

# الباب الخامس

# الاعتبارات الفنية والبيئية لتحديد أنسب التقانات الحديثة لانتاج اللقاحات البيطرية في أقطار الوطن العربي

## 5-1 تمهيد :

أوضحت الدراسات التى قامت بها المنظمة العربية للتنمية الزراعية فى الاعوام القليلة الماضية، أن الوضع الراهن للثروة الحيوانية فى الوطن العربي يتميز بالاتي :

- الازدياد المضطرد فى أعداد الثروة الحيوانية فى أقطار الوطن العربي.
- تدنى الانتاجية على الرغم من الاعداد الهائلة للثروة الحيوانية فى أقطار الوطن العربي وذلك للعديد من الاسباب، والتى من أهمها : ضعف التراكيب الوراثية وضعف الموارد العلفية، وإتباع نظم التربية التقليدية وانتشار الامراض المعدية والسارية.
- الازدياد النسبي فى الوعي الصحي البيطري .
- ازدياد الطلب على المنتجات الحيوانية.
- الازدياد فى استهلاك اللقاحات البيطرية والادوية، وبالتالى ازدياد الطلب على اللقاحات البيطرية.
- دخول السلالات الاجنبية ذات الانتاجية العالية، مما أدى الى دخول أو ظهور أمراض جديدة.

وإدراكاً من القائمين على أمر الثروة الحيوانية فى أقطار الوطن العربي، لأهمية دور قطاع الثروة الحيوانية فى الدخل القومي، توسعت النشاطات ذات الصلة بالعناية الصحية الحيوانية ومكافحة الامراض الوبائية والمتوطنة، ومن ضمنها نشاطات انتاج اللقاحات البيطرية محليا بهدف تحصين القطعان القومية. وعلى الرغم من ذلك، فان صناعة اللقاحات فى أقطار الوطن العربي لاتكفي الطلب المحلي (جدول 5-1).

## جدول رقم (5-1)

## الاحتياجات وحجم الانتاج المحلي والعجز

## فى اللقاحات البيطرية فى الاقطار العربية

(1000) جرعة

| اللقاح | الحاجه | المنتج محلياً | العجز |
|---|---|---|---|
| الحمي القلاعية | 16571 | 6200 | 10371 |
| الطاعون البقري | 18352 | 15500 | 2852 |
| طاعون المجترات الصغيرة | - | - | 5600 |
| جدري الاغنام والماعز | 69560 | 53850 | 15810 |
| السعر (داء الكلب) | 555 | 372 | 183 |
| التسمم المعوي | 62204 | 33800 | 28404 |
| الحمي الفحمية | 14243 | 7490 | 6743 |
| الساق الاسود | 8242 | 2915 | 5327 |
| الاجهاض المعدي | 7542 | 2425 | 5117 |
| التسمم الدموي | 15335 | 1140 | 14195 |
| ذات الرئه الساري | 10750 | 1000 | 9750 |
| نيوكاسل | 3236300 | 1051850 | 2184450 |
| التهاب الشعب الهوائية | 579300 | 202000 | 377300 |
| قمبورو | 1743000 | 200000 | 1453000 |
| جدري الطيور | 141300 | 76000 | 65300 |
| ميرك | 182700 | - | 182700 |
| الارتعاش الوبائي | 55250 | 25000 | 30250 |
| التهاب المفاصل | 22000 | - | 22000 |

المصدر : المنظمة العربية للتنمية الزراعية ، التقارير القطرية الخاصة بدراسة الجدوي الفنية والاقتصادية لانشاء مختبر لانتاج اللقاحات البيطرية فى الوطن العربي 1996 .

ويعتبر قطاع الثروة الحيوانية فى غالبية أقطار الوطن العربي أحد الركائز الاساسية فى الانتاج الزراعي، إذ أن له مساهمته المقدرة فى الناتج المحلي. ويشهد العصر الحالي محاولات جادة من كافة الاقطار العربية لتنمية ثروتها الحيوانية تلبية للطلب المتزايد على السلع الحيوانية. ولكن تظل الامراض المتوطنة والسارية هي العائق الاساسي لتنمية وتحسين أوضاع الثروة الحيوانية. ويتمثل الحل فى التحكم والسيطرة على الامراض الوبائية والمعدية عن طريق تطبيق برامج التحصين .

وفى ظل الظروف التى تساعد على الانتشار السريع للامراض واحتمال ظهور عترات جديدة من مسببات الامراض، برز الاهتمام بتطبيق واستخدام التقانات الحيوية فى مجال تشخيص الامراض، والى حد ما فى انتاج اللقاحات البيطرية لمقابلة هذه التحديات. وقد أدرك القائمون علي أمر الثروة الحيوانية فى أقطار الوطن العربي أهمية التحصين ضد الامراض التى تفتك بالثروة الحيوانية، والامراض التى تعوق التجارة بين الاقطار العربية ودول العالم الاخرى. لذا برز اهتمام قطري بأهمية توفير اللقاحات البيطرية محليا، ولعدة أسباب، أهمها توفير اللقاحات البيطرية عند الحاجة اليها، وتوفير مبالغ طائلة كانت تدفع مقابل إستيراد اللقاحات . اضافة الى أن قيام مختبرات لانتاج اللقاحات البيطرية. لتساهم أيضاً فى تنمية قدرات الكوادر الفنية الوطنية على مثل هذا النوع من الانتاج.

## 2-5 واقع أنتاج اللقاحات البيطرية والتقانات المستخدمة فى الوطن العربى :

أتضح من الدراسة أن التقانات الشائعة الاستخدام لانتاج اللقاحات البكتيرية فى معظم الاقطار العربية، هي تحديدا تقانات الدوارق الزجاجية والمخمرات. أما بالنسبة للقاحات الفيروسية، فتستخدم تقانات الزرع النسيجي أو الخلوي أو الزرع فى البيض المخصب. وتعد هذه التقانات من التقانات الجيدة والمأمونة. وقد أثبتت جدواها خلال السنوات الماضية فى الاقطار العربية.

لقد اتضح أيضا من الدراسة فى الاجزاء السابقة أن هناك تشابهاً كبيراً فى نوع التقانات المستخدمة لانتاج اللقاحات البيطرية فى أقطار الوطن العربي. وعلى الرغم من الاختلاف فى بعض التفاصيل، فان هذا يعتبر عنصر توحيد. كما أتضح أن هناك اختلافا فى أنواع العترات (بذور اللقاحات) ومصادرها. واضافة لذلك فان الكميات المنتجة من

اللقاحات البيطرية لم تحدد بشكل قاطع. فقد أشارت الدراسات القطرية(1) إلى الطاقة الانتاجية للمختبرات العاملة دون ذكر لتحديد كميات الانتاج الفعلية. أما فيما يختص بتقانات إنتاج اللقاحات البكتيرية فقد اتضح أن معظم أقطار الوطن العربي تستعمل تقنية المخمرات. وان هناك اختلافا فى نوعية الاوساط المغذية المستعملة لانتاج اللقاحات البكتيرية . وكما وضح أن كافة الاقطار العربية لاتستخدم تقنية المخمرات فى انتاج اللقاحات الفيروسية ماعدا المغرب، الذى يستخدم هذه التقانة لانتاج لقاح الحمي القلاعية FMD. وكما تبين أن كل المختبرات العاملة فى انتاج اللقاحات البيطرية، تستخدم تقنية الزرع النسيجي أو الخلوي أو البيض المخصب فى انتاج اللقاحات الفيروسية . وقد وجد أن هناك اختلافاً فى نوعية الخلايا المستخدمة وغالبية المختبرات تستخدم الخطوط الخلوية لانتاج اللقاحات الفيروسية . وتجدر الاشارة هنا أن نشير ايضا الى أن هناك أختلافاً كبيرا فى نوعية المساعدات المناعية للقاحات المنتجة وعلى الرغم من التشابه الكبير فى مراحل أنتاج اللقاحات المختلفة فى العديد من الاقطار العربية الا انه من الملاحظ أن هناك اختلافا فى بعض التفاصيل. وقد وضح أيضا أنه لاتتوفر معلومات عن مصير فائض الانتاج من اللقاحات البيطرية فى الدول العربية التى لها طاقة انتاجية كبيرة، بافتراض أن هذه المختبرات تعمل بكامل طاقتها الانتاجية .

وبالرغم من عدم توفر معلومات تفصيلية حول مواصفات المختبرات العاملة حاليا فى كثير من أقطار الوطن العربي، ومدى مطابقة هذه المواصفات للمقاييس العالمية. كما أنه من بين أبرز نواحى القصور فى هذا الشأن أنه لاتوجد جهة مرجعية محايدة لتقييم مستوى أداء هذه المختبرات وكفاءتها ومطابقتها للمواصفات العالمية المطلوبة، مما يجعل المقارنة بينها أو الحكم عليها أمرا بالغ الصعوبة، وعليه فانه لايمكن فى مثل هذه الظروف أعتبار أحد المختبرات كطراز أو مختبر نموذجي يمكن القياس عليه. وبالنظر الى واقع أنتاج اللقاحات البيطرية فى أقطار الوطن العربي والتقانات المستخدمة، يتضح أن هذه التقانات هي الاكثر انتشارا فى دول العالم. كما أنها من الناحية الفنية غير معقدة ولاتتطلب معامل انتاج خاصة وعناصر بشرية نادرة التخصص، كما هو الحال بالنسبة للقاحات المحمولة المنتجة باستخدام تقانات الاحياء الجزيئية والهندسة الوراثية. وقد

(1) المنظمة العربية للتنمية الزراعية، الدراسات القطرية المعدة بالتعاون بين المنظمة ووزارات الزراعة فى الدول العربية لاغراض الدراسة، الخرطوم، 1997

أثبتت هذه التقانات جدواها على مدى سنين طويلة فى انتاج لقاحات فعالة ومأمونة، مقارنة باللقاحات المحمولة التى تحتاج الى فترة زمنية أطول لاثبات فعاليتها وسلامتها بصورة قاطعة، لان العدد القليل من اللقاحات الذى أنتج باستخدام التقانات الحيوية لازال فى طور البحث والتجريب والتحسين . وقد أتضح من الدراسة عدم وجود فجوة تقنية كبيرة، فيما يتعلق باستخدام التقانات المأمونة والشائعة الاستخدام فى العالم بين الاقطار العربية ودول العالم المتطورة الاخرى.

وكما تبين مماسبق، فإن العديد من الاقطار العربية تفضل إستيراد حاجتها من اللقاحات البيطرية لاسباب خاصة من ضمنها عدم الجدوي الاقتصادية لقيام مختبرات خاصة بها. نظرا لارتفاع التكلفة لمثل هذه المختبرات، وملاءمة جدواها فقط فى حالة إقامتها على نطاق واسع، لايتناسب وطاقه استيعاب كل قطر على حده، حيث يكون من الانسب إقامة مثل هذا المختبر على المستوى الاقليمي أو القومي.

## 3-5 واقع استخدام التقانات الحيوية والحديثة فى بحوث تطوير وانتاج اللقاحات البيطرية فى الوطن العربى :

لقد وضح من الدراسة، عدم وجود إمكانية لانتاج اللقاحات أو المواد التشخيصية باستخدام التقانات الحيوية . كما لاتوجد مقومات لاستخدام مثل هذا النوع من التقانات فى تطوير أنواع اللقاحات البيطرية المنتجة فى هذه الاقطار، ينطبق الوضع بالنسبة لانتاج لقاحات فيروسية جزيئية باستخدام الطرق الطبيعية والكيميائية. أما بالنسبة للبكتريا فيماعدا التوكسيدات، فليس هناك لقاحات اخرى منتجة بهذه التقانات. ولابد من تشجيع محاولات انتاج اللقاحات الجزيئية المستخلصة بالطرق الفيزيائية والكيميائية، نسبة لتوفر عناصر السلامة والفعالية فى هذا النوع من اللقاحات. كما يمكن أيضا أن يتم تجريب وسائل وطرق إنتاج اللقاحات الجزيئية، مما يفتح الباب واسعا لادخال تقانات متقدمة ويساعد فى تدريب وتنمية القدرات للكوادر الفنية العاملة فى المختبرات المنتجة لهذه اللقاحات، ويدفع به لارتياد آفاق جديدة تساهم فى التقدم التقني. أما فيما يختص باللقاحات البيطرية المنتجة باستخدام تقانات الهندسة الوراثية، فلا تستخدم هذه التقانات في الوقت الحاضر لانتاج هذا النوع من اللقاحات فى أقطار الوطن العربي. ويرجع ذلك لعدة أسباب أهمها :

- عدم توفر الكادر الفني المؤهل.
- عدم وجود الاجهزة والمعدات والمختبرات المؤهلة فنياً لهذا العمل.
- التكلفة العالية لانتاج هذا النوع من اللقاحات .
- المخاطر البيئية المترتبة على هذا الانتاج وعدم وجود قوانين ولوائح فى معظم الاقطار العربية تحكم هذا النوع من الانتاج.

### 4-5 الاعتبارات الفنية والبيئية :

لقد إتضح من الاجزاء السابقة من الدراسة أنه لاتوجد فجوة تقنية كبيرة بين المختبرات العاملة فى إنتاج اللقاحات البيطرية فى أقطار الوطن العربي فيما بينها وبقية دول العالم فى مجال تطبيق التقانات الشائعة الاستخدام حالياً، إذ أن هذه التقانات هى الاكثر إنتشاراً فى دول العالم. وعلى الرغم من أن التقانات الشائعة الاستخدام قد أثبتت جدواها على مدى سنين طويلة فى إنتاج لقاحات فعالة ومأمونة، إلا أنه لمواكبة التطور التقنى فى مجال إنتاج اللقاحات، لابد من الاخذ بالتقانات الحيوية والحديثة الملائمة ومحاولة توطينها فى المنطقة العربية، مع النظر بعين الاعتبار للعوامل الفنية والبيئية التى تحدد إمكانات إستخدام هذه التقانات فى أقطار الوطن العربى. ومن بين أهم هذه العوامل مايلى :

- التعريف بماهية التقانات الحديثة التى يراد استخدامها مع تحديد كفاءتها الانتاجية والنوعية، مقارنة بالتقانات المستخدمة حاليا.
- إستعراض التجارب السابقة من بلدان اخرى، بما يؤكد استخدام التقانات الحيوية والحديثة بنجاح وبدون عناصر مخاطرة.
- التكلفة والجدوى الاقتصادية ووجود مصادر التمويل المضمونة .
- ضمان وجود مصادر مأمونة يمكن الحصول منها على عناصر التقانات الحيوية والحديثة ومعدات ومواد الصيانة والتدريب.
- ضمان وجود الكادر الفني العربي المؤهل الذى يمكن الاعتماد عليه فى استيعاب وادارة التقانة الحديثة.

- تأمين التدريب المستمر للعناصر العربية الفنية، لمواكبة التقدم المستمر الذى يطرأ فى مجال التقانات الحيوية والحديثة.
- قبول العاملين فى الاقطار العربية فى مجال صناعة اللقاحات، ويشمل ذلك صناع القرار من المسئولين التنفيذيين والفنيين.
- مدى فرص قبول المنتوجات البيولوجية الجديدة لدى قطاع مربي الماشية.

## 5-5 نظم التعبئة والتجفيد والحفظ للقاحات البيطرية المنتجة فى الوطن العربي:

بالنسبة للتقانات المستخدمة فى مجال تعبئة وتجفيد وحفظ اللقاحات البيطرية إتضح من الدراسة أنه لايوجد هناك خلاف يذكر فى التقانات المستخدمة، نسبة لمحدودية الانتاج، ولكن يوجد اختلاف فيما بين الدول العربية فى نوعية المواد الواقية المستخدمة للقاحات الفيروسية المجفدة. وتجدر الاشارة الى أن غالبية التقارير القطرية تخلو من ذكر لتجفيد اللقاحات البكترية الحية، مثل لقاح البروسيلا ولقاح ذات الرئة الساري. وتوجد ايضا اختلاف فى أجهزة التجفيد المستخدمة فى الاقطار العربية، بالاضافة الى أنه فى غالبية التقارير القطرية المعدة لاغراض هذه الدراسة لم ترد اشارة الى حجم العبوات المجفدة.

## 6-5 نظم ضبط الجودة للقاحات البيطرية المطبقة فى أقطار الوطن العربي :

كما ورد بالدراسة ، فإن جميع الاقطارالعربية المنتجة للقاحات البيطرية، لاتمتلك معاييرها الوطنية الخاصة، بل تتبع النظم العالمية لضبط الجودة. وهناك سعي عالمي الان لتوحيد نظم ضبط جودة اللقاحات البيطرية، وذلك بغرض المحافظة على انتاج لقاحات على مستوي عالي من الجودة، ولمنع أو تقليل القيود على حركة التجارة العالمية فى مجال المنتجات الحيوانية واللقاحات.

كما أتضح كذلك من الدراسات التى قامت بها المنظمة العربية للتنمية الزراعية، فى هذا المجال أن هناك عجزا فى الكميات المطلوبة فى اللقاحات البيطرية (جدول 5-1)، كما أن هناك عدم تطابق فى معايير ومقاييس ضبط الجودة، وعدم مواكبه لتطور التقانات

فى مجالات بحوث وتطوير وإنتاج اللقاحات، باستخدام تقانات الهندسة الوراثية والحيوية. واتضح أيضا عدم وجود فجوة تقنية فى مجالات التقانات الشائعة الاستخدام مابين الاقطار العربية والدول المتطورة فى هذا المجال.

## 5-7 مقترحات الدراسة وتوصياتها :

فى ظل ما لمسته الدراسة من غياب أو قصور البيانات والمعلومات حول مستوى كفاءة وأداء المختبرات العاملة حالياً فى مجال انتاج اللقاحات البيطرية فى العديد من الدول العربية ، وكذا مستويات استخدام التقانات الحيوية والحديثة فى مجال انتاج وبحوث تطوير انتاج اللقاحات البيطرية ، فيما عدا التوكسيدات بالنسبة للقاحات البكتيرية ، فإن من الأهمية البالغة العمل على حصر وتقويم الأوضاع الراهنة لانتاج اللقاحات البيطريه واستخدام التقانات الحيوية والحديثة فى الوطن العربى ، حتى يأتى تطوير ذلك الانتاج وتلك التقانات مستنداً إلى رؤية صحيحة وأسس واضحة دون ازدواجية أو تعارض مع ماهو قائم ، ودون مبالغة أو تقليل من كفاءته وحداثته ومعدلات انتاجه .

وعلى الرغم من ذلك ، فقد أوضحت التقارير القطرية التى اتيحت لبعض الدول العربية ، أن هناك قصوراً ملحوظاً فى مدى كفاية انتاج اللقاحات البيطرية ، وكفاءة المختبرات العاملة فى هذا المجال . ومن ثم فإن الدراسه الحاليه تقترح العديد من مجالات التدخل على كل من الصعيدين القطرى والاقليمى ، إضافة إلى المستوى التنسيقى بين الأقطار العربية ، ويمكن عرض أهمها فى النقاط التالية :

### 5-7-1 على المستوى القطرى :

توصى الدراسة بضرورة العمل على رفع كفاءة ومستوى الأداء للمختبرات القطرية العاملة فى انتاج اللقاحات البيطريه ، وذلك من خلال العمل على المحاور التالية :

- تحسين مستوى المختبرات العاملة حالياً فى مجال انتاج اللقاحات البيطرية ، ورفع مستويات أدائها ، بما يتوافق ومتطلبات نظم التصنيع الجيد GMP ، والممارسات المختبرية الجيدة GLP ، بالاضافة إلى رفع مستوى نظم ضبط الجوده المأمونه QA .
- تعميم استخدام تقنية المخمرات فى انتاج اللقاحات البكتيرية وبعض اللقاحات الفيروسية ، وكمثال لذلك الأخذ بتجربة المغرب فى انتاج لقاح الحمى القلاعية باستخدام تقنية المخمرات .

- تشجيع بحوث وانتاج اللقاحات الجزيئيه البكتيرية والفيروسية المستخلصة بالطرق الفيزيائية والكيميائية ، مما يساعد على تدريب وتنمية القدرات للكوادر الفنية العاملة في المختبرات المنتجه ، هذا بالإضافة إلى تشجيع ادخال تقانات انتاج الاسكومات (ISCOMS) بالنسبة للقاحات الفيروسية ولقاح ذات الرئه السارى البكتيرى .
- تشجيع إدخال تقانات انتاج الكواشف التشخيصية باستخدام تقنية الاحياء الجزيئية ، مثل انتاج الأضداد النوعية وحيدة النسيله Monoclonal anti-bodies ، وذلك بالتعاون مع المؤسسات العلمية العالمية والمختبرات العاملة فى انتاج اللقاحات البيطرية فى كل من الأقطار العربية وفق اتفاقيات وبروتوكولات علمية على مدي زمنى محدد .
- العمل على استخدام طريقة تجفيد اللقاحات البكتيرية الحيه ذات فترة الثبات القصيره .

### 5-7-2 على المستوى التنسيقى بين الأقطار العربية :

يمثل التنسيق والتعاون فيما بين الأقطار العربية وبعضها البعض ، أحد المداخل الهامه لتطوير وتنمية انتاج اللقاحات البيطرية وفقاً لأنسب التقانات الحديثه ، بما فى ذلك تبادل الخبرات ، ونقل النماذج الرائده ، وترشيد العمل البحثى ذو العلاقة ، والحد من الازدواجية والتضارب فى مجالات البحث ومجالات التصنيع والانتاج ، والاستفادة من المزايا النسبية الفنيه ، أو الاقتصادية لبعض الدول ، والى غير ذلك . ومن مداخل التنسيق والتعاون بين الأقطار العربية فى هذا المجال توصى الدراسة بما يلى :

- تبادل الخبرات فى مجال بحوث وانتاج اللقاحات بين الأقطار العربية .
- إيجاد وتعزيز روابط التعاون الفنى بين المختبرات العاملة فى انتاج اللقاحات البيطرية فى أقطار الوطن العربى متضمناً ذلك مجالات التدريب ، وتأهيل الكوادر، والتحديث التقنى والمعلومات ونتائج البحوث والدراسات ... الخ .
- السعى لتوحيد استخدام المواد الواقيه المستخدمه فى تجفيد اللقاحات ، حتى يسهل ضبط جودتها فيما بعد ، لتسهيل عمليات التقويم والمقارنة والتبادل بين منتجات الأقطار العربية .

- الاتفاق على نوعية المواد المعطله للنشاط الفيروسى ومواد الأمان للقاحات البكتيرية الميته .

### 3-7-5 على مستوى الوطن العربى :

- العمل على إنشاء المختبر العربي المرجعي، الذى سوف يعني ببحوث تطوير انتاج اللقاحات البيطرية باستخدام التقانات الحيوية، وذلك عبر نقل التقنية من المؤسسات العلمية العالمية فى الدول المتقدمة، والعمل على إختيار أنسب التقانات التى تتواءم مع متطلبات وظروف المنطقة العربية فى مجال انتاج اللقاحات البيطرية . كما سيكون على المختبر العربي المرجعي القيام بمهام التدريب للكوادر العربية، والتفتيش الدوري للمختبرات القطرية للتأكد من مطابقة المواصفات المطلوبة فى هذه المنشآت .
- العمل على إنشاء وحدات تابعة للمختبر البيطرى العربى المرجعى لانتاج اللقاحات البيطريه لمد المختبرات العاملة بمدخلات الانتاج الرئيسية ، والتى تمثل نسبة هامة من تكلفة الانتاج . ومن المهام الأساسية التى يناط بها المختبر العربى المرجعى ما يلى :

أ- قيام المختبر العربي المرجعي بانتاج اللقاحات البيطرية للاقطار العربية التى ليس بها مختبرات إنتاج ، وذلك لسد النقص الكمي والنوعي الذى تعانيه الدول العربية ، هذا بالاضافة الى عمل المختبر فى إنتاج الكواشف التشخيصية.

ب- المساعدة فى تحسين مستوى المختبرات العاملة فى مجال انتاج اللقاحات البيطرية، من حيث رفع مستوى أداءها، ليتطابق مع متطلبات نظم التصنيع الجيد GMP، ونظم ضبط الجودة المأمونة QA ، وذلك عن طريق التدريب المستمر ، والمساعدة الفنية فى مجال البحوث وتقنيات الانتاج للكوادر العربية العاملة فى المختبرات القطرية.

ج- القيام بمهمة التفتيش الدوري للمختبرات العربية القطرية العاملة فى مجال انتاج اللقاحات والكواشف التشخيصية.

د- القيام بمهام ضبط الجودة الدوري للقاحات البيطرية المنتجة فى المختبرات القطرية العربية، وإصدار شهادات الصلاحية للإستخدام .

هـ- بما أن اللقاحات البيطرية تعتبر من المنتجات الدوائية ، لذلك لابد من ادخالها ضمن اطر اللوائح التى تحكم تسويق الادوية. ونسبة لان هذه اللوائح لها علاقة بالمتطلبات الفنية، فان من المتوقع ضمان جودتها وفعاليتها، وعليه فسيكون من بين أدوار المختبر العربي المرجعي لانتاج اللقاحات البيطرية، القيام باصدار اللوائح والنظم العربية الموحدة، التى تحكم انتاج اللقاحات البيطرية وضبط جودتها والاشراف على ومتابعة تطبيق النظم العربية الموحدة لضبط الجودة ، فى المختبرات القطرية .

# الملاحق

# ملحق (1) قائمة بالاختبارات المعتمدة لامراض الحيوانات فى التجارة العالمية

| اسم المرض | الاختبارات المعتمدة | الاختبارات البديلة |
|---|---|---|
| 1- الحمي القلاعية Foot & Mouth Disease | ELISA, VN | CF |
| 2- الطفح القمي الحويصلي Vesicular Stomatitis | CF,ELISA,VN | - |
| 3- الطفح الحويصلي فى الخنازير Swine Vesicular Disease | VN | ELISA |
| 4- الطاعون البقري Rinderpest | ELISA | VN |
| 5- طاعون المجترات الصغيرة Pleuropneumonia | VN | ELISA |
| 6- ذات الرئة الساري Contagious Bovine pleuropneumonia | CF | - |
| 7- مرض الجلد العقدي Lumpy Skin Disease | - | VN |
| 8- حمي الوادي المتصدع Rift Valley Fever | - | HI ELISA PRN |
| 9- جدري الضأن وجدري الماعز Sheep pox & goat pox | - | VN |
| 10- طاعون الخيل African Horse Sickness | CF ELISA | VN |
| 11- حمي الخنازير الافريقية African Swine Fever | ELISA | IFA |
| 12- انفلونزا الطيور Highly Pathogenic Avian Influenza | ELISA, VN | AGID,HI |
| 13- النيوكاسل Newcastle Disease | - | HI |
| 14- داء البريميات Leptospirosis | - | MAT |
| 15- السعر Rabies | - | FA,VN |
| 16- نظير السل Paratuberculosis | - | CF,DTH,ELISA |
| 17- داء الريكتسيا Heartwater | IFA | - |
| 18- الاجهاض المعدي Brucellosis | BBAT,CF ELISA | - |
| 19- السل البقرى Bovine Tuberculosis | Tuberculin test | - |
| 20- سرطان الابقار المستوطن Enzootic Bovine Leukosis | AGID ELISA | - |
| 21- التهاب الانف والقصبة الهوائية فى الابقار Infectious Bovine Rhinotracheitis | VN,ELISA | - |
| 22- داء المشعرات Trichonosis | عزل الطفيل | Mucus agg. |
| 23- داء الانابلازما فى الابقار Anaplasmosis | - | CF, Agg |
| 24- داء البابيزيا فى الابقار Babesiosis | - | ELISA,IFA |
| 25- داء الثيلريا فى الابقار Theilerosis | IFA عزل الطفيل | |
| 26- التسمم الدموي Haemorrhagic Septicaemia | - | عزل البكتريا |
| 27- مرض جنون البقري Bovine Spongioform Encephalopathy | - | - |
| 28- داء البروسيلا فى الضأن والماعز Caprine and Ovine brucellosis | BBAT,CF | Brucellin test |
| 29- التهاب المفاصل والدماغ فى الماعز Caprine Arthritis Encephilitis | AGID | ELISA |

| اسم المرض | الاختبارات المعتمدة | الاختبارات البديلة |
|---|---|---|
| 30- ذات الرئة السارية في الماعز Contagious Caprine Pleuropneumonia | CF | عزل مسبب المرض |
| 31- داء المتدثرات في الضأن Ovine chlamydiosis | - | CF |
| 32- التهاب الرحم المعدي في الخيول Contagious Equine Metritis | عزل مسبب المرض | - |
| 33- داء المثقبات في الخيول Dourine | CF | IFA,ELISA |
| 34- التهاب الدماغ والنخاع في الخيول Equine Encephalomyelitis | - | HI CF PRN |
| 35- انيميا الخيول Equine Infectious Anaemia | AGID | |
| 36- انفلونزا الخيول Equine Influenza | - | HI |
| 37- بيروبلازما الخيول Equine Piroplasmosis | CF, IFA | |
| 38- التهاب الانف والرئة في الخيول Equine Rhinopneumonitis | - | VN |
| 39- الرغام Glanders | Mallein test CF | - |
| 40- التهاب المفاصل الفيروسي في الخيول Viral arthritis | VIV عزل مسبب المرض | - |
| 41- الجرب Mange | عزل مسبب المرض | - |
| 42- داء الشعرينات Trichinellosis | عزل مسبب المرض | ELISA |
| 43- التهاب المعدة والامعاء Transmissible Gastroenteritis | | VIV ELISA |
| 44- الجمبورو Gumboro | | AGID |
| 45- الماريك Marek's Disease | | AGID |
| 46- داء المفطورات في الطيور Avian Mycoplasmosis | | Agg. |
| 47- داء المتدثرات في الطيور Avian Chlamydiosis | - | CF |
| 48- تيفود الطيور والبللورم Fowl Typhoid & Pullorum disease | | عزل مسبب المرض Agg |
| 49- التهاب الشعب الهوائية Infectious Bronchitis | | VN,HI,ELISA |
| 50- التهاب الحنجرة والرغامي Infecticus laryngotracheitis | | AGID ELISA |
| 51- سل الطيور Avian Tuberculosis | | عزل مسبب المرض Tuberculin test |
| 52- الورم المخاطي Myxoma | | AGID CF,IFA |
| 53- التولريميا Tularaemia | | عزل مسبب المرض |
| 54- اللشمانيا Leishmaniasis | | عزل مسبب المرض |
| 55- الحمى النزلية الخبيثة Malignant Cabarrhal Fever | | VN,IFA |
| 56- الحمى القرية Q Fever | | CF |
| 57- داء السلمونيلا Salmonellosis | | عزل مسبب المرض |
| 58- الاسهال الفيروسي في الابقار Bovine Virus Diarrhoea | عزل مسبب المرض | |
| 59- داء المثقبات Trypanosomiasis | عزل مسبب المرض | IFA |

# المراجع العربية

# المراجع العربية

1- المنظمة العربية للتنمية الزراعية، دراسة الجدوي الاقتصادية والفنية لاقامة مختبر أقليمي لتشخيص الامراض الفيروسية وإمكانية انشاء مختبر لانتاج اللقاحات البيطرية فى دول مجلس التعاون الخليجي، الخرطوم، السودان، 1985

2- المنظمة العربية للتنمية الزراعية، الدورة التدريبية حول مكافحة الامراض السارية والمعدية فى الابقار والاغنام فى الوطن العربي، الخرطوم، السودان، 1985

3- المنظمة العربية للتنمية الزراعية، دراسة الجدوي الفنية والاقتصادية لاقامة مشروع لانتاج الادوية واللقاحات والعقاقير البيطرية فى الوطن العربي، المجلد الثالث مشروع إنتاج اللقاحات البيطرية فى دول المغرب العربي، الخرطوم، السودان، 1988 .

4- المنظمة العربية للتنمية الزراعية، التقارير القطرية - دراسة الجدوي الفنية والاقتصادية لانشاء مختبر لانتاج اللقاحات البيطرية فى الوطن العربي، الخرطوم، السودان، 1996 .

5- المنظمة العربية للتنمية الزراعية، التقارير القطرية - دراسة حول التقانات الحديثة المستخدمة على المستوى العالمي فى مجال انتاج اللقاحات البيطرية وإمكانات إستخدامها فى الدول العربية، الخرطوم، السودان ، 1997 .

# المراجع الانجليزية

# المراجع الانجليزية

1-Ali B. El Hag (1972). Production of tissue culture attenuated rinderpest vaccine in the Sudan - Sud. J. Vet. Res & Anim Husb. 12 No. 2 90-98.

2- Adams G. (ed.) (1990). Advances in Brucellosis Research. Texas A & M. University Press, College Station USA.

3- Anon (1984). Ticks and Tick - borne disease Control. A practical field manual vol III. Rome Italy.

4- Babiker S.H. (1996). Production of veterinary vaccines in the Sudan. Berlin Munch Tierarztl Wschr 109 8-9.

5- Bittle J.L, Houghton R.A, Alexander H., Shinnick. T.M, Sutcliffe J.G, Lerner R.A, Rolands D.J and Brown F. (1982). Protection against foot and mouth disease by immunization with chemically synthesized Peptide predicted from the viral nucleotide sequence. Nature 298 : 30-33.

6- Blancou J, Kieny M.P., Lathe R, Lecocq J.P, Pastoret P.P, Soulebot J.P and Desmettre P. (1986), Oral vaccination of fox against rabies using a live recombinant vaccinia virus. Nature, 322 : 373-375.

7- Boyle D.B and Heine H.G (1993). Recombinant fowlpox virus vaccine for poultry. Immunol. Cell Biol . 71 , 391-397.

8- Bradford M.M (1976). A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein, utilizing the principal of protein - dye binding - Anal . Biochem. 72, 248-254.

9- Cadoz M., Strady A., Meigner B., Taylor J., Tartagalia J., Paoletti E. and Ploticin S. (1992). Immunization with canarypox virus expressing the rabies glycoprotein . Lancet 339 : 1429-1432.

10-Choi K.H, Mahaswaan S.K. and Felica LJ (1989). Characterization of outer membrane proteins enriched extract from P. multocida isolated from turkey . Am. J. Vet. Res. 50 : 676-682.

11-Clements J.D, Lyon F.L, Lowe K.L, Farrad A.L and Elmorshidy S. (1986). Oral immurization of mice with attenuated Salmonella enteritidis a recombinant plasmid with codes for production of the B. subunit of heat - labile E. coli enterotoxin Inf. Immun. 53 : 685-692.

12-Curtiss R. III (1986). Genetic analysis of Streptococcus mutans virulence and prospects for anticaries vaccine. J. Dent. Res. 65 : 1034-1045.

13-Daleel EE and Lindley EP. (1970). Contagious bovine pleuropneumonia (CBPP) a comparison of three culture vaccines - Sud. J. Vet. Sci & Anim - Husb. 11, 1, 34.

14-Dreesman G.R, and Kennedy R.C, (1985). Anti-idiotype antibodies - implication of internal image - based vaccines for infcetious diseases J.Inf. Dis. 151 . 1761 - 765.

15-EC. (1991 b) . General requirements for the production and control of inactivated mammalian bacterial and viral vaccines for veterinary use. ref/11/3181/91 EN.

16-Ec (1991a). General requirements for the production and control of live mamm alian bacterial and viral vaccines for veterinary use. ref/11/3182/91 EN.

17-El Beshir, S.M. (1993). Production of vaccines against haemorrhagic septicaemia (HS) with Gottingen bioreactor technology using local Sudanese Pasteurella multocida strain B and E. Ph. D. Thesis university of Goettingen, Germany.

18-European Pharmacopoeia (1997). Chapters 2 and 5, 3rd edition - Council of Europe, Strasbourg, France ISBN 92-871-2990-8.

19-FAO vaccine manual (1997). The production and quality control of veterinary vaccines for use in developing countries. FAO. Animal production and Health series, No. 35 FAO Rome, Italy .

20-FAO (1993). Report of FAO expert: Consultation on quality control of veterinary vaccines in developing countries. ISBN 92-5-103398-6.

21-Fenner F. (1985). Vaccination its birth, death and resurrection. Eighth Burnet lecture of the Australian Academy of Science 1985, Aust J. Exp. Biol. Med. Sci. 63 : 607-622.

22- Fogel and Sypherd (1981). Extraction and isolation of individual ribosomal proteins from Escherichia coli. J. Bact. 96 : 358-365.

23- Fynan EF, Webster R.G., Fuller D.H., Hanes JR Santoro J.C., and Robinson HL (1993). DNA vaccines: Protective immunization by parental mucosal and gene gun inoculations - PNAS 90 : 11478-11482.

24- Gerhardt. P. et al (ed.) (1981). Manual of methods of general bacteriology - Am - Soc. Microbiol. Washington DC USA.

25- Hoisleth S.K. and Stocker BA (1981). Aromatic dependent Salmonella typhimurium are nonvirulent and effective as live vaccines. Nature 291 : 238-239.

26-Kheir S.A.M (1992). Immune response to Newcastle disease vaccine (Komarov Strain) given in drinking water - Sud. J. Vet - Sc. Anim. Husb. Vol. 31 (1) 20-24.

27-Kitching R.P, Hammond J.M and Talyor JM (1986). A single vaccine for the control of capripox infection in sheep and goats. Res. Vet. Sci. 42 : 53-60.

28-Litamoi J, Palya N.J, Sylla D. and Rweyemammu M.M. (1994). Quality control testing of contagious bovine pleuropnceumonia CBPP live attenuated vaccine - Standard

operating procedures Addis Ababa PANVAC.

29-Lowry O.M, Rosenbrough N.J, Farr A.L and Rondell RJ. (1951) Protein measurement with Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193. 265-275.

30-LU Y-S , Lai W.C, Pakes S.P. and Stephanu C. (1991). Outer membrane of P. multocida 3 : A Protects rabbits against homologous challenge. Inf. Immun. 59 : 4517-45-23.

31-Mackett M. and Smith G.L. (1986). Vaccinia virus expression vectors. J. Gen. Virol 67 : 2067-2082.

32-Mackett M., Yilma T., Rose J.K and Moss. B. (1983) Vaccinia virus recombinants . expression of VSV genes and protective immunization of mice and cattle. Science 227 : 433-435.

33- Manual for Bacterial Antigen Production (1994) H. Bohnel (ed.) University of Gottingen, Germany.

34-Maskell D. , Liew FY, Sweeney K., Dongan K. and Horaneche C.E (1988) Attenuated Salmonella typhimurium as live oral vaccines and carrier for delivering antigens to the secretory immune system. In vaccines, new approaches to immunization, developing vaccines against parasitic bacterial and viral diseases - Gold Spring Harbor 213-217.

35-Mayfield C., Bricker B., Gofrey H. etal (1988). The Cloning expression and nucleotide sequence of a gene for an immunogenic Brucella abortus protein. Gene 63 : 1-9.

36-Mekeand J.B and Knox D.P. (1997). Multicellular parasite vaccines - In FAO vaccine manual, the production and qualilty control of veterinary vaccines for use in developing countries : 91 - 111.

37-Mebus. C.A. (1991) . The role of molecular biology in quality control of veterinary vaccines and biologicals. FAO animal production and Health Paper 116 , 323-3250.

38-Mohamed G., Hoffman D. , Babiker S. H, Elwali AA. and Seifert HSH (1989). Production of anthrax live spore vaccine by the fermentor in the Sudan. Proceed . Inter. Symp. on Develop. of Anim. Resources in the Sudan : 493-500.

39-Morein B., Sundquist B., Hoglund S., Dalsgaard K. and Osterhaus A. (1984). ISCOM, Anovel Structure for antigenic presentation of membrane proteins from enveloped viruses. Nature 308 (5958) : 457-460.

40-Musisi F.L, Lawrence J.A, Quiroga J.C, Kamwendo S.P and Malika J.(1991). Protozoal and Rickettsial vaccines with special reference to quality control of veterinary vaccines in developing Countries FAO Production and Health papers 116 : 173-184.

41- OIE manual of Standards for diagnostic tests and vaccines 3rd. ed. (1996). ISBN 92 - 044-423-1.

42-PANVAC (1993). Standard Operating Procedures. Adis Ababa FAO/Pan African Rinderpest Campaign/Pan African Veterinary Vaccine Centre.

43-Osterhaus A., Weijer K., Uytdehaag F., Jarrett O., Sunquist B and Morein B. (1985). Induction of protective immune response in cats by vaccination with feline leukemia virus. Scand. J. Immunol. 135 : 591-596.

44-Roth H.J., Gay CG. (1996) Specific safety requirements for products derived from biotechnology . Text book on Veterinary Vaccinology. Pastoret P.P., Blancou J., Vannier P. and Verschuerence C. ed. El Seviers Science Publishers B. V. Amsterdam The Netherlands.

45-Ruppercht C.E, Hanlon C.A, Niegoda M., Buchanan , J.R, Diehl D. and Koprowski H. (1993). Recombinant rabies vaccines. Efficacy assessment in free ranging animals. Onderstepoort. J. Vet. Res. 60 : 463-468.

46-Schnaitman C.A (1981). Cell fractionation . In manual of methods for general bacteriology Gerhardt P. (ed.). Am. Soc. Microbiol. NY, Washington, D.C., USA.

47-Simons K.R., Morton R.J, Mosier DA, Fulton R.W and Confer AW (1989). Comparison of the P. haemolytica A.I. envelope proteins obtained by two cell distruption methods. J.Clin. Microbiol . 27 : 664-667.

48-Smith LD and Heffron F. (1987). Transposon Tn 5 mutagenesis of Brucella abortus. Inf. Immun. 55 : 2774-2776.

49-Stewards M.W. and Howard CR (1987). Synthetic peptides : A next generation of vaccines ? Immunol. Today 8 : 51-58.

50-Taylor J., Tartagalia J., Riviere M. , Duret C., Languet B., Chappuis G. and Paoletti E (1994). Applications of canary pox (ALVAC) vectors in human and veterinary vaccination. Dev. Biol. Stand. 82 : 131-135.

51- Terpestra C. (1990). FAO consultancy on East coast fever vaccine production quality control. Project GCP. RAF/247/NET.

52-Tizard I (1987) Veterinary Immunology (an introduction ) W.B. Saunders Compary philadelphia USA.

53-US Code of Federal Regulations (1995). Title 9 ports 1-199. US printing office Washington DC USA.

54-US Public Health Service Centre for Disease Control and National Institutes of Health (1993). Biosafety in microbiological and Biomedical Laboratories 3rd. ed. HHS Publication No (CDC) 93-83 95 ISS Department of Health Washington DC USA.

55-de Vos AJ, Pipano E, Musisi and Jorgensen WK (1997) - Protozool and Rickettsial vaccines. Vaccine manual FAO : 75-89.

56-Walker P.D (1992). Bacterial vaccines old and new veterinary and medical - Vaccine 10 : 977-986.

57-Yilma T. (1994). Genetically engineered vaccines for animal viral diseases J. Am. Vet. Med. Assoc. 204 : 1606-1615.

# فريق الدراسة

# فريق الدراسة

**أ- خبراء من خارج المنظمة :**

- الدكتور صبحى أحمد محمد خير
  باحث بالمعمل المركزى للقاحات البيطرية - سوبا - الخرطوم/السودان — عضواً

- الدكتور صلاح حسن بابكر
  أمين الشئون العلمية بجامعة الامام المهدى - كوستى/السودان — عضواً

**ب- خبراء من داخل المنظمة :**

- الدكتور وحيد على مجاهد
  مدير إدارة الدراسات والبحوث — رئيساً للفريق

- الدكتور الحاج عطيه الحبيب
  خبير بإدارة الدراسات والبحوث — عضواً

# Summary

## Summary

Recent advances in genetic engineering and molecular biology have made it possible to produce vaccines for both human and animals. The accumulation of basic and applied knowledge in this field is growing faster. Accordingly, the Arab Organisation for Agricultural Development (AOAD) has launched this initiative to study the possibility of application of biotechnology processes in the production of veterinary vaccines.

The study consists of five chapters, covering more or less the basic information about the conventional vaccine production methodologies. The new generation of vaccine technologies, quality control norms and standards for veterinary vaccines,were crucially studied, in addition to reviewing the present situation of veterinary vaccines production in Arab countries, and the technical and environmental factors which limit the introduction and application of the new technologies for veterinary vaccine production in the region.

Chapter one, covers the conventional methodologies of veterinary vaccine production at the level of vaccine producing Arab countries, and at the international level. This chapter includes full description of methods used for propagation and production of vaccine seeds, and methods and techniques used in the production of bacterial, viral and parasitic vaccines. A full description is made for the techniques used in propagation, culturing and quality testing of vaccines. For bacterial vaccines, it is clear that conventional production methods, such as flask system and fermentor or bioreactor technologies are the most widely used processes in bacterial vaccine production. The study also covers the current techniques and methodologies used for production of viral vaccines. The procedures include the use of cell or tissue culture or

embryonating eggs inoculation, in production of both live and inactivated viral vaccines . In addition, a reasonable information about the materials, chemical compounds and adjuvants is stated. The study briefly outlined the procedures used for production of the major livestock tickborn protozoal vaccines, with a special reference to infection and treatment procedures for immunization.

The study shows that, there is no technical gap, as for the procedures used in vaccine production in both the vaccine producing Arab countries, and other developed countries, as most vaccine producing laboratories in Arab countries are currently using the fermentor technology in bacterial vaccine production, and cell or tissue culture, or embryonating eggs in viral vaccine production, although there is some differences in the details of the techniques.

Chapter two covers the biotechnology procedures and their application in the field of veterinary vaccine production. The study briefly outlined the procedures and technologies used in the production of biotechnology derived vaccines. Such vaccines indude bacterial, viral, protozoal and multicellular parasitic subunit vaccines, in addition to recombinant vaccines, gene deletion vaccines, and the use of viral vectors. Also the study shows that, little information is available at present, about the use of the biotechnology procedures or processes in production of veterinary vaccines in Arab countries. Also no information is available about the production of subunit viral vaccines. However, in case of bacterial vaccines, except for toxoids, no other vaccines are produced by the use of such technologies in Arab countries.

Chapter three, breifly outlined the procedures and methods used in filling , lyophilization, storage and quality control of veterinary vaccines.

The study detailed the procedures and techniques used in vaccine producing laboratories, as concerned with filling and

lyophilization of vaccines , the requirements of such processes and storage of the final product. The study dealt with the general requirements of quality control and good manufacturing practices (GMP), to satisfy the Quality Assurance system (QA). In addition, a list of documented standards and publications in this concern are mentioned. The study also detailed the required quality control tests for both bacterial and viral vaccines during production protocols, including the master seed production, in process control and batch control stages. Also an outline of quality control tests applied to protozoal vaccines before and after production is detailed. The study shows that there is no differences between the vaccine producing laboratories in the Arab countries in the applied methods and techniques used for filling and lyophilization.

As concerned with the quality control tests for vaccines, the study shows that, non of the vaccine producing Arab countries have its own protocols for quality controls. However, all these countries follow and apply the international standards of quality control tests for vaccines. Therefore there is an urgent need to implement the Quality Assurance system (QA), which governs the construction of the laboratories, internal safety systems and application of the standard operating procedures (SOP) for vaccine production. There is also a need for pooling of knowledge and experience from all vaccine producing laboratories in the Arab countries, which could provide common protocols and hence improve the standards in general.

Chapter four, reviewed the current situation of the veterinary vaccine production in Arab countries. The study shows that there are different bacterial and viral vaccines produced in vaccine producing laboratories operating in the Arab countries, and there are various production methods coupled with differences in the applied quality control tests. Despite the existance of such differences, there is a strong

inclination to modernize the vaccine operating procedures and protocols applied in these laboratories.

Also from country reports, it is clear that some Arab countries prefer importation of its own needs of veterinary vaccines from abroad.

In chapter five the study dealt with the current situation of animal resources in Arab countries. It shows that there is an increase in the number of domestic animals. This increase is positively reflected in the increased demand for veterinary vaccines. The study screened the current situation of veterinary vaccines production in Arab countries, particularly the technologies used in production and use of biotechnology methodologies in the improvement of vaccine production.

The study reviewed the technical and environmental factors which define the most applicable biotechnology processes and methodologies for vaccine production in Arab countries. For introduction and transfer of such technologies to Arab countries, there is a need to work at two levels: First to improve the level of the operating vaccine production laboratories, and to improve their efficiency to satisfy the Good Manufaeturing Practices (GMP), or to apply the standards of the Quality Assurance systems (QA). Secondly, to work for establishment of an Arab Reference Laboratory for veterinary vaccine production. Such a laboratory will be concerned with reseurch, for improvement of veterinary vaccine production through the use of biotechnology methodologies, by transferring of such processes from the advanced countries, and selection of the best and most suitable technologies for Arab countries in the field of veterinary vaccine production.

This laboratory will have the authority to inspect the current operating vaccine production laboratories, with regard to the building facilities, and application of quality control tests applied to vaccines produced, and licensing the biological

products produced in these laboratories. In addition, one of the main goals of the reference laboratory is training of the personnel, currently involved in vaccine production, production of vaccine inputs, to cover the qualitative and quantitative deficits in the Arab Region in particular.