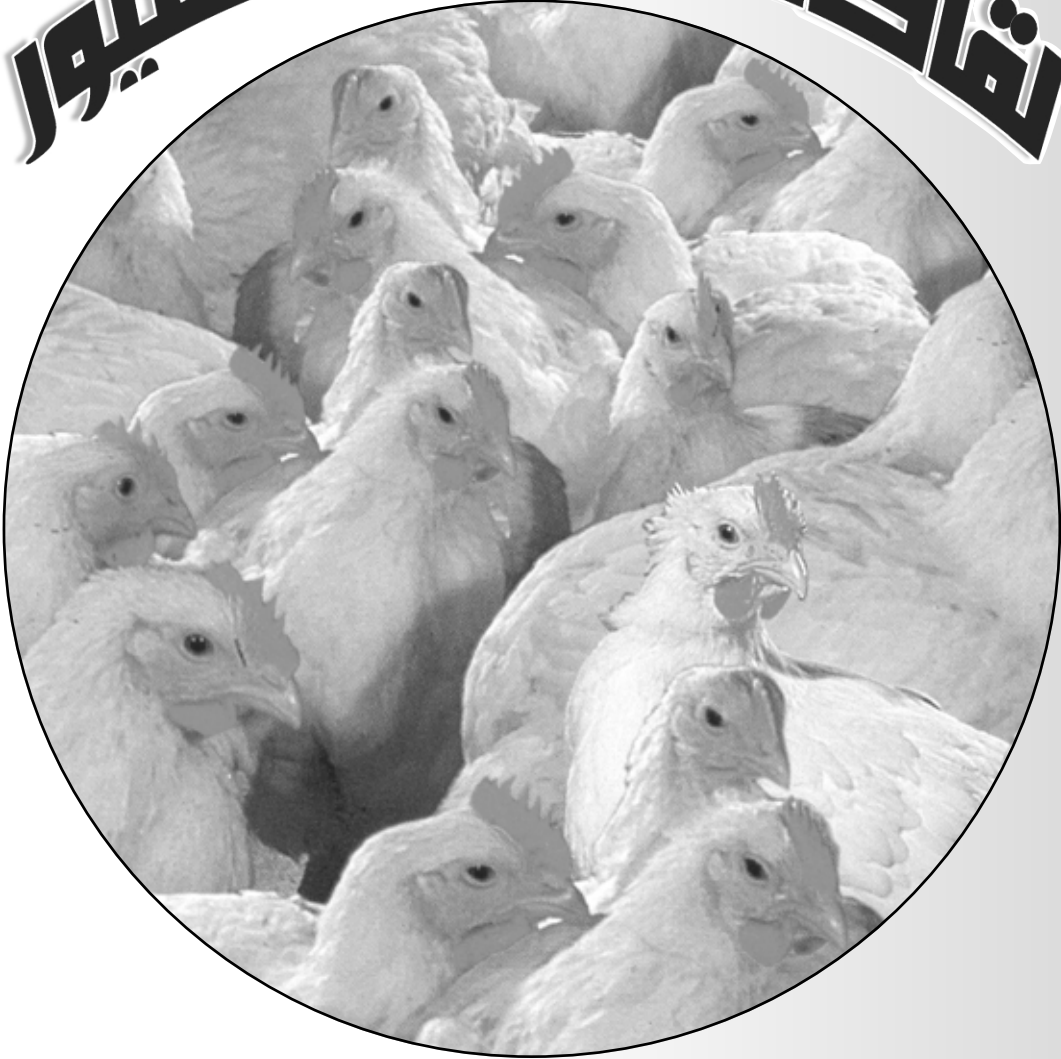


تقسم إلى ثلاثة أقسام:

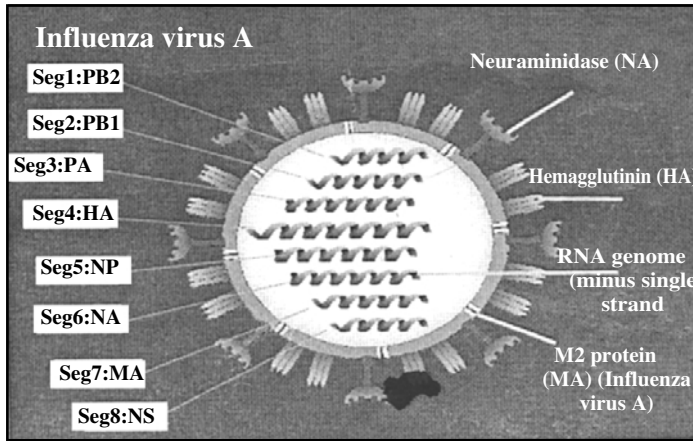
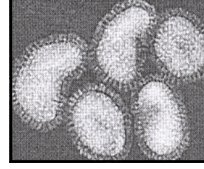
نقائص أنفلونزا الطيور



د. مصطفى فايز

أستاذ الطب البيطري - جامعة قناة السويس

الهدف الرئيسي من هذه المقالة هو إلقاء الضوء على لقاحات أنفلونزا الطيور المتوافرة للاستخدام، ولا يقصد منها تفضيل لقاح بعينه ولكن شرح مميزات كل لقاح وكذلك أوجه القصور به.



صورة رقم [١]: «تركيب فيروس أنفلونزا الطيور»

■ له قدرة مناعية عالية جداً، أى أن له القدرة على تنبيه الجهاز المناعي لإنتاج أجسام مضادة دفاعية.

■ يلعب هذا البروتين الدور الرئيسي فى إحداث العدوى؛ حيث إنه مسئول عن التصاق وتثبيت الفيروس على المستقبلات المتخصصة الموجودة على الخلايا القابلة للإصابة بهذا الفيروس. وبالتالي فهذا البروتين مسئول عن حدوث العدوى، وإيقاف عمله معناه منع حدوث العدوى.

■ الأجسام المناعية المضادة لهذا البروتين تسمى الأجسام المناعية المعادلة؛ حيث إنها باتحادها مع بروتين HA تمنع التصاق الفيروس على المستقبلات المتخصصة الموجودة على الخلايا

فهو المسئول عن بروتين النيورامينيداز ويرمز له بالرمز (NA). المحددان السابع والثامن مسئولان عن إنتاج بروتينات M وكذلك NS على الترتيب.

هذه البروتينات الثمانية لها دور فى قدرة الفيروس على إحداث العدوى، ولكن تتفاوت فى الأهمية، حيث إن HA هو أهم هذه البروتينات يليه فى الأهمية NA ثم M وهكذا. وفى السطور التالية نستعرض باختصار دور وأهمية هذه التراكيب البروتينية المختلفة فى فيروس الأنفلونزا H5N1.

وظيفة البروتين الأول هيماجلوتينين ويرمز له بالرمز HA

■ يعتبر هذا البروتين هو البروتين الغشائى رقم ١.

بداية وقبل الحديث عن اللقاحات يجب أن نفهم تركيب فيروس الأنفلونزا ومكوناته البروتينية ودور كل منها فى إحداث العدوى وغزو الخلايا والتكاثر داخل الخلايا، وكذلك الخروج من الخلية المصابة والانتشار إلى الخلايا الأخرى فى جسم الطائر المصاب، بالإضافة إلى توضيح دور هذه البروتينات فى تنبيه الجهاز المناعي. إن معرفة هذه التراكيب البروتينية لها أهمية قصوى فى معرفة كيفية عمل لقاحات أنفلونزا الطيور.

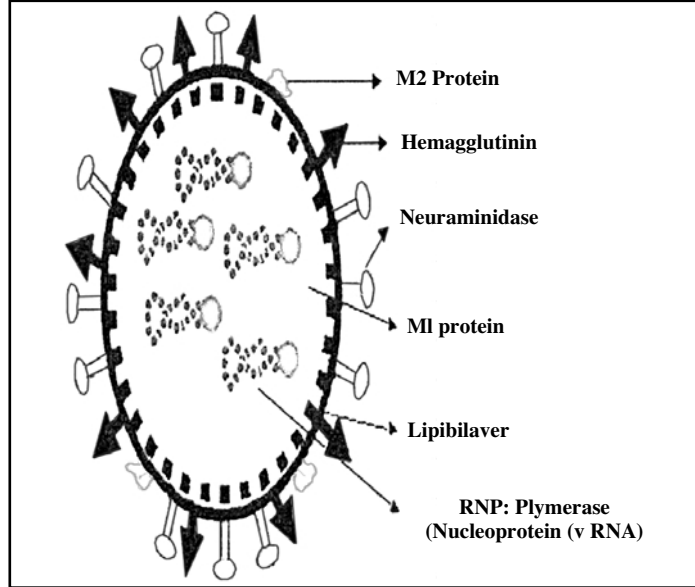
علاقة التركيب بالوظيفة

إن فيروس الأنفلونزا هو من نوع فيروسات الريبونيوكلريك أسيد وتحتوى على عدد ٨ محددات وراثية (جينات). كل منها يحمل الشفرة الوراثية لتركيب بروتينية محددة. فمثلا الثلاثة جينات الأولى وهى PB, PB1, PB2 مسئولة عن إنتاج إنزيمات البوليميراز المطلوبة لتصنيع mRNA. وال NP على الترتيب. الجين الرابع مسئول عن تركيب بروتين الهيماجلوتينين Hemagglutinin ويرمز له بالرمز HA. والخامس مسئول عن تكوين النيكلوبروتين. أما الجين السادس

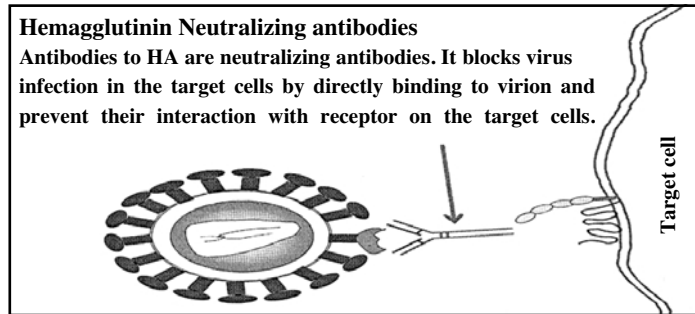
الخلية وذلك بتكسير حمض النيورامينك، وبالتالي يمكن للفيروس أن يخرج من الخلية. والأجسام المضادة لهذا البروتين Anti-Neuraminidase antibodies لا تستطيع منع دخول فيروس الأنفلونزا إلى الخلية، ولكن تمنع خروجه منها وتحدد إقامته داخل الخلية وتمنع انتشاره إلى بقية الخلايا في العائل المصاب.

وقد اهتم الكثير من الباحثين بهذا البروتين وقام بعضهم بعمل لقاح ضد الأنفلونزا من هذا البروتين فقط Neuraminidase vaccine. وهذا اللقاح لا يمنع دخول فيروس الأنفلونزا إلى الخلايا ولكنه يمنع خروجه بعد تكاثره داخل الخلايا، ولهذا تكون الإصابة بفيروس الأنفلونزا بعد التحصين بهذا اللقاح ضعيفة للغاية، ويليهما تكوين مناعة سوبر بعد التعرض للفيروس الحقل.

وتتضح أهمية هذا البروتين أكثر في أن الأدوية المستخدمة لعلاج العدوى بفيروس الأنفلونزا Anti-viral drug مثل عقار التاميفلو وكذلك عقار الريلنزا هي في الأساس تعمل بتثبيط عمل بروتين النيورامينيدز، وتعمل هذه الأدوية على الالتصاق بهذا البروتين وبالتالي منع عمله على تحليل حمض النيورامينك ومنع تفكيك الفيروس من جدار الخلية ومنع



صورة رقم [2]: التراكيب البروتينية في فيروس أنفلونزا الطيور



صورة رقم [3]: دور الأجسام المضادة المعادلة Neutralizing antibodies في منع حدوث العدوى

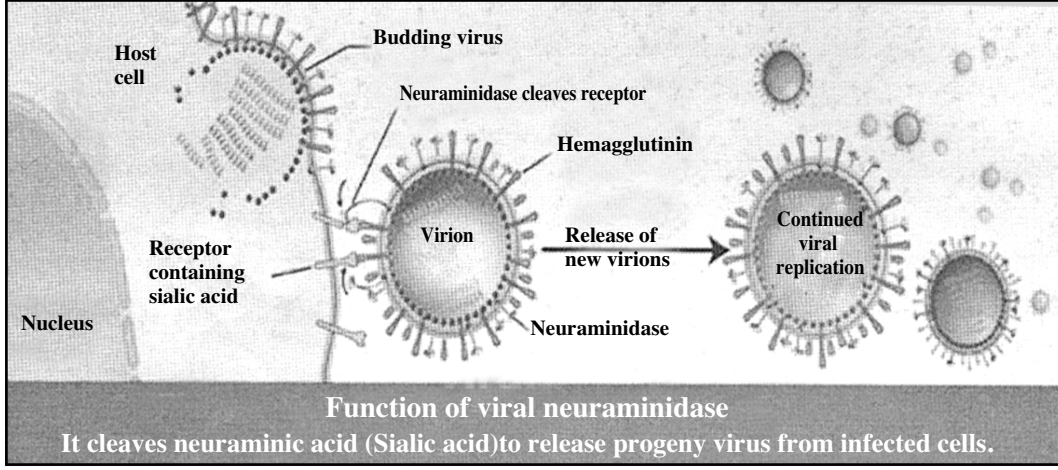
لينتشر ويصيب بقية الخلايا في العائل المصاب.

وبالتالي فإن إيقاف عمل هذا البروتين يؤدي إلى منع خروج الفيروسات من الخلايا المصابة ويقلل من إفراز الفيروس من الطائر المصاب، وهذا البروتين في الأساس إنزيم يقوم -كما هو موضح في الشكل رقم (٤)- بتحليل وتفكيك الفيروس من جدار

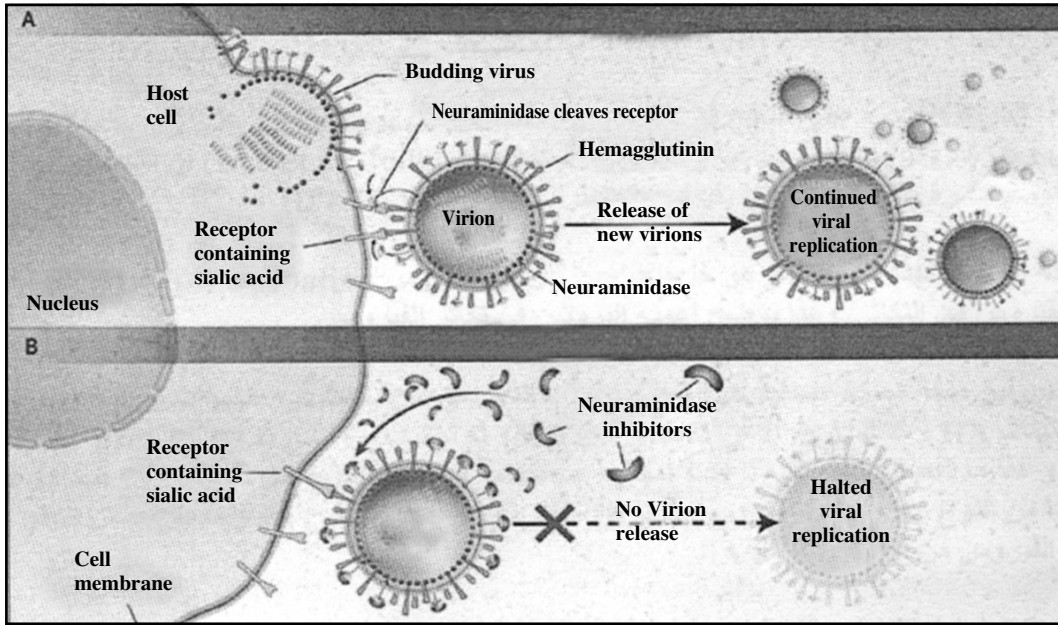
القبالة للإصابة بهذا الفيروس وبالتالي فهي تمنع حدوث العدوى.

وظيفة البروتين الثاني

(النيورامينيدز) وترمز له بالرمز NA: هذا البروتين يسمى البروتين الغشائي نوع ٢ وله قدرة مناعية عالية. وبالرغم من أن البعض يقلل من أهمية هذا البروتين إلا أنه يلعب دوراً حيوياً جداً؛ فهو المسئول عن خروج الفيروس من الخلية المصابة



صورة رقم [4]: وظيفة بروتين النيورامينيداز في خروج الفيروس من الخلايا المصابة



صورة رقم [5]: عمل التاميفلو في إيقاف نشاط إنزيم النيورامينيداز وإيقاف خروج الفيروس من الخلايا المصابة ومنع انتشار الفيروس في جسم المريض

البروتين يُكسب الجسم القدرة على صد العدوى بفيروس الأنفلونزا الضاري $HP-H_5N_1$. والوظيفة الرئيسة لهذا البروتين هي خلع الغطاء الخارجي للفيروس Uncoating بعد دخوله إلى الخلية، حتى يتمكن الفيروس من التكاثر،

إلى $M2$ ، ويوجد هذا البروتين بندرة على سطح فيروس $H5N1$ نفسه، ولكن يوجد بغزارة على سطح الخلايا المصابة بالفيروس، وهذا البروتين له قدرة مناعية عالية، وقد أثبت الباحث (Lue et al, 2008) أن التحصين بهذا

إخراج الفيروس من الخلايا المصابة وإيقاف انتشاره في جسم المريض.

وظيفة البروتين الثالث:

وهو بروتين غشائي من النوع 3 ويطلق عليه البروتين الغشائي الغليظ Matrix protein ويختصر

المجاورة. وربما تطرح هذه المقدمة عن الفيروس ومكوناته البروتينية سؤال: هل إذا توافر لقاح ضد فيروس الأنفلونزا يحتوى على كل مكونات الفيروس سوف يكون أفضل، أم اللقاح الذى يحتوى فقط على أهم المكونات وهو بروتين HA؟ نترك الإجابة إلى نهاية المقالة.

علاقة التركيب بأنواع لقاحات أنفلونزا الطيور:

يمكن تقسيم لقاحات أنفلونزا الطيور المنتجة فعلا أو الموجودة تحت البحث إلى ثلاثة أنواع:

- ١- لقاحات مية منتجة من الفيروس الكامل.
- ٢- لقاحات محضرة من بروتينات الفيروس التى يتم إنتاجها معملياً بطرق الهندسة الوراثية؛ حيث يتم زرع الجينات المسؤولة عن البروتينات الفيروسية فى خلايا نباتية أو حيوانية أو ميكروبية. ومع تكاثر هذه الخلايا يتم إنتاج البروتينات الفيروسية، ثم يتم استخلاص البروتينات الخاصة بفيروس أنفلونزا الطيور وتنقيتها وتحضير لقاحات منها. وهى تعتبر مثل اللقاحات المية. مثال على ذلك إنتاج بروتين HA الخاص بفيروس أنفلونزا الطيور H_5N_1 فى فيروس الباكالو.
- ٣- لقاحات حية ضعيفة (غير ضارية) مركبة بطرق الهندسة الوراثية تحتوى على الجينات الوراثية لبروتين الـ (HA) الخاص

Anti- NA	Anti- HA	الصفة
×	√	القدرة على منع التصاق الفيروس على المستقبلات الخلوية ومنع حدوث عدوى
√	×	القدرة على منع خروج الفيروس من الخلايا وإيقاف انتشاره بمنع أو إقلال إفرازه
√	√	خفض تكاثر وتركيز الفيروس داخل الخلايا
√	×	تقليل أو منع إفراز الفيروس فى إفرازات ويزق الطيور

جدول رقم [١]: الفرق فى أداء الأجسام المضادة المنتجة ضد HA والأجسام المضادة ضد الـ NA. الراجع إلى محتوى الفاكسين من كل منهما

وهذا يوضح أهمية هذا البروتين فى تكاثر الفيروس. ولهذا البروتين صفة مميزة إضافية: حيث إنه فى الوقت الذى يمكن أن يحدث فيه تغيرات وراثية (mutations) فى بروتينات HA وكذلك NA إلا أن هذا البروتين (M2) له تركيب بروتينى ثابت لا يتغير، وهذا ما دفع العلماء إلى دراسة إمكانية استخدامه فى المستقبل لعمل لقاح موحد ضد كل فيروسات الأنفلونزا من النوع A حيث إنه سوف يكون لقاحاً عاماً وثابتاً (بغض النظر عن تغير مكونات الفيروس من الـ HA والـ NA). وهذا البروتين أيضاً يمكن أن يبنى ليس فقط المناعة السائلة (تكوين أجسام مضادة) ولكنه أيضاً ينشط المناعة الخلوية. وتتضح أهمية هذا البروتين (M2)

فى حالة حدوث العدوى بفيروس $HP-H_5N_1$ الخطير فى أن بعض أدوية الأنفلونزا مثل الامانتادين والريمينتادين هى فى الواقع M2 Inhibitor توقف عمل هذا البروتين وتمنع حدوث عملية التكاثر داخل الخلية. من هذه المقدمة البسيطة يتبين أن لكل بروتين من بروتينات فيروس الأنفلونزا الضارى $HP-H_5N_1$ أهمية ودوراً فى عملية حدوث العدوى بهذا الفيروس، فهذا البروتين HA مسئول عن التصاق الفيروس بجدار الخلية ودخوله فيها وبروتين (M2) مسئول عن عملية إزالة غلاف الفيروس داخل الخلية تمهيداً لبدء عملية التكاثر، والبروتين الآخر HA مسئول عن خروج الفيروس من الخلية المصابة بعد التكاثر وانتشاره إلى الخلايا

تصنيع الفيروس الشبيه باستخدام طرق الهندسة الوراثية العكسية، وهذه الطريقة تمكننا من عمل فيروس يتشابه تمامًا في التركيب البروتيني (المناعي) مع فيروس H_5N_1 الضارى، ولكنه لا يستطيع أن يحدث عدوى.

فكرة طريقة الهندسة الوراثية العكسية:

فى هذه الطريقة يتم عزل الجينات الخاصة ببروتين (HA_5) و(NA_1) من الفيروس الضارى $HP-H_5N_1$ ويتم وضعها أو لصقها فيما يسمى بلازميد (وهو قطعة مستديرة من حمض DNA)، وكذلك يتم قص الستة محددات الوراثة الأخرى من فيروس الأنفلونزا النوع (A) الضعيف أو غير الضارى مثلاً من فيروس الأنفلونزا بورتريكو 8، وبعد ذلك يتم حقن الـ 8 بلازميدات فى خلية من الخلايا التى تستخدم فى عمل اللقاحات مثل خلية الفيرو؛ حيث تحدث إعادة ترتيب تلقائى لهذه المحددات الوراثة الثمانية ويتم إنتاج فيروس جديد (معاد التركيب) يطلق عليه Reassortant أى الذى تمت إعادة تركيبه، ويحتوى هذا الفيروس على HA_5 وعلى HA_1 من الفيروس الضارى وعلى بقية المحددات من الفيروس الأخر غير الضارى.

هذا الفيروس الجديد الذى يتشابه تمامًا فى التركيب المناعى

اللقاح الحى	اللقاح الميت	الصفة
√	√	تنبيه الجسم لإنتاج مناعة سائلة (أجسام مضادة)
√	×	تنبيه الجسم لإنتاج مناعة خلوية
√	×	يعطى مناعة لفترة طويلة
×	√	الحاجة لجرعات إضافية

جدول رقم (٢): بعض الفروق بين عمل اللقاحات الحية والميتة

الفروق بين اللقاح الميت واللقاح الحى:

لقاحات أنفلونزا الطيور المتوافرة تجارياً:

أولاً: لقاحات أنفلونزا الطيور الميتة والمخلوطة بمنشط مناعى: كمثل على هذه النوعية من اللقاحات يوجد لقاح H_5N_1 وهو لقاح متماثل فى التركيب مع فيروس الأنفلونزا، ويوجد لقاحا H_5N_1 و H_5N_9 وغيرهما وهى لقاحات غير متماثلة مع فيروس الأنفلونزا المنتشر حالياً.

وهذه النوعية من اللقاحات تحضر من الفيروسات الكاملة المعزولة من الحقل أو تلك ذات الضراوة الضعيفة ماعدا فى حالة H_5N_1 فلا يتم استخدام المعزولات الحقلية شديدة الضراوة فى تحضير اللقاح لشدة ضراوة الفيروس وصعوبة تنميته فى البيض المخضب.

ولكن فى حالة H_5N_1 يتم تصنيع فيروس يتشابه تركيباً مع فيروس H_5N_1 ولكنه لا يكون ضارياً ولا يسبب أى أمراض. ويتم

بفيروس أنفلونزا الطيور، ويستخدم فيها فيروسات أخرى حية ضعيفة لا تحدث مرضاً ويتم زرع الجينات الخاصة بفيروس الأنفلونزا فيها ويطلق على الفيروس الحى الحامل لجين الـ HA (Vector)، وعند حقن هذه الفيروسات فى جسم الطائر فإنها تتكاثر داخل الخلايا، وتتم ترجمة شفرتها الوراثة إلى بروتينات داخل الخلايا ومنها بروتين فيروس الأنفلونزا HA ويقوم جسم الطائر بعمل رد فعل مناعى ضدها. ولأن هذه البروتينات تنتج داخل جسم الطائر نفسه، فيمكن اعتبارها مثل اللقاحات الحية ولها تأثير اللقاح الحى.

يتوافر النوعان الأول والثالث من اللقاحات السابق ذكرها فى السوق البيطرى التجارى للاستخدام فى التحصين ضد فيروس أنفلونزا الطيور H_5N_1 ، ويمثل النوع الأول اللقاحات الميتة، أما الثالث فهو مثال على اللقاحات الحية.

وقبل الحديث ببعض التفصيل عن هذين النوعين من اللقاحات يظهر الجدول رقم [٢] بعض

لكل بروتين من بروتينات فيروس الأنفلونزا دور في عملية حدوث العدوى.. فأحدها مسؤل عن التصاق الفيروس بجدار الخلية.. والآخر مسؤل عن التكاثر.. والثالث مسؤل عن الانتشار إلى الخلايا الأخرى

لقاح ميت بالفورمالين ومضاف عليها منشط مناعي - هذا بالمقارنة بلقاحات H_5N_1 الميتة التي تحضر من العترات الحقلية الضعيفة من الطائر مناعة ضد العدوى بفيروس $HP-H_5N_2$ التي وإن كانت تُكسب $HP-H_5N_1$ ولكنها لا توقف أو تقلل خروج الفيروس في إفرازات الطيور.

ثانياً: اللقاح الحي المركب وراثياً والحامل للجينات HA من فيروس الأنفلونزا $HP-H_5N_1$:
هذا هو النوع الثاني من لقاحات أنفلونزا الطيور H_5N_1 المتوافرة تجارياً، وفي هذه النوعية من اللقاحات يستخدم بعض الفيروسات الحية الضعيفة مثل فيروس جدري الطيور كحامل (Vector) يحمل الجين الخاص بـ HA المحضر من الفيروس الضاري $HP-H_5N_1$.

عند حقن هذه اللقاحات في أجسام الطيور فهي كفيروسات حية (تحمل المحددات الوراثية الخاصة بهذا الفيروس بالإضافة إلى جين HA من فيروس

في الحالة المصرية.. يفضل استخدام اللقاحات الميتة.. لأن للفيروس قدرات عالية على التشكل والتحور

وحتى إذا تمكن الفيروس من الدخول إلى خلايا الطيور وإذا تكاثر بها فإنه لا يستطيع الخروج من الخلايا والانتشار إلى الخلايا الأخرى تحت تأثير الأجسام المناعية المضادة للنيورامينيداز (Anti-NA). وهذا يوضح لماذا تُكسب هذه النوعية من لقاحات أنفلونزا الطيور H_5N_1 الميتة والمركبة وراثياً (Reassortant) ليس فقط حمايةً للطائر ولكن أيضاً حمايةً للبيئة؛ حيث لا يحدث إفراز للفيروس من أجسام الطيور المحصنة إذا تعرضت للعدوى.

وبالرغم من أن فيروس H_5N_1 المعاد تركيبه الحي ضعيف ولا يسبب عدوى إلا أن اللقاحات المحضرة منه تحضر في صورة

مع الفيروس الضاري $HP-H_5N_1$ هو الذي يستخدم في تحضير لقاح H_5N_1 الميت.

وتعتبر تقنية الجين مضاد الاتحاد أو الهندسة الوراثية العكسية إحدى التقنيات المتقدمة في طرق الهندسة الوراثية ولها مميزات كثيرة؛ أهمها:

١- أنها تستخدم في تحضير فيروسات مركبة من الفيروسات الخطيرة التي يصعب التعامل معها لخطورتها الشديدة ويصعب إنتاج لقاحات منها مثل فيروس $HP-H_5N_1$ وكذلك فيروس الإيبولا وغيره.

٢- أن الفيروس المركب بهذه الطريقة ينمو بسهولة وبكثافة في البيض بعكس الفيروس الضاري $HP-H_5N_1$ الذي يقتل أجنة البيض وبالتالي يصعب استخدامه في تحضير اللقاح.

٣- تعتبر هذه الطريقة أنسب طريقة يمكن أن تستخدم في تحضير لقاح إذا حدث لا قدر الله وباء عالمي؛ حيث لا تستغرق أكثر من ٤-٥ أسابيع. كذلك يمكن إعادة تركيب الفيروس المستخدم في عمل اللقاح كلما حدث تغيير وراثي في الفيروس الحقل.

وتكتسب الطيور المحصنة بهذه النوعية من اللقاحات المناعة اللازمة ضد الفيروس الضاري الحقل والحماية من حدوث المرض تحت تأثير الأجسام المناعية (Anti-HA).

H_5N_1) تتكاثر في جسم الطائر ومع تكاثرها تتم ترجمة الشفرة الخاصة ببروتين HA، ويتم إنتاج هذا البروتين في جسم الطائر وكأنه تم حقن لقاح حي؛ حيث إنه مع تكاثر هذا الفيروس يتزايد إنتاج بروتين الـ HA الخاص بفيروس H_5N_1 .

وتتميز هذه النوعية من اللقاحات الحية عن اللقاحات الميتة بأنها:

١- نظرًا لكونها لقاحات حية فإنها تنبه الجهاز المناعي لإنتاج مناعة خلوية، والذي لا يحدث في اللقاحات الميتة.

٢- كذلك تنشيط هذه النوعية من اللقاحات الحية إنتاج العديد من المنبهات والمؤثرات المناعية المختلفة من cytokines, chemokines and virokines.

٣- تعطى هذه اللقاحات مناعة مستديمة ومستمرة لفترة طويلة.

٤- تعطى مناعة مزدوجة ضد الفيروس الحامل (فيروس للجدرى) وضد بروتين HA المهم والمعزول من فيروس الأنفلونزا H_5N_1 . ولكن لهذه النوعية من اللقاحات أيضًا عيوب كثيرة منها:

١- أن المناعة الأممية تؤثر على عملها وتكاد تمنع هذه النوعية من اللقاحات من إحداث المناعة المطلوبة.

٢- أن المناعة كذلك ضد الفيروس الحامل Vector بعد مرور أسبوعين من حقنه vector immunity تبدأ في مهاجمة

الـ Vector نفسه وتدمره وبالتالي وكأنا لم نحقق لقاحًا.

ويوجد العديد من الفيروسات الحاملة التي تستخدم في زرع جين HA المهم من بروتين أنفلونزا الطيور H_5N_1 مثل فيروس الجدرى كما سبق الذكر وفيروس النيوكاسل (عثة اللاسوتا)، وفيروس التهاب القصبة والحنجرة (ILT) وفيروس الأدينو... إلخ. وقد نشر عالم أنفلونزا الطيور الدكتور سوان في عام ٢٠٠٠ مقالة بمجلة علم الفيروسات عن فشل اللقاح الحي المركب على فيروس جدرى الطيور.

ومن هذه النوعية من اللقاحات الحية المركبة يتميز اللقاح المركب عن فيروس النيوكاسل لاسوتا بالكثير من الصفات والمميزات التي لا تتوافر في لقاح الجدرى المركب أو غيره من اللقاحات، ومن هذه المميزات:

١- أن لقاح LaSota Reassor- Vector Vaccine يُكسب مناعة قوية ضد النيوكاسل وفيروس H_5N_1 في آن واحد.

٢- يُكسب جسم الطائر مناعة خلوية بالإضافة إلى المناعة السائلة ضد كل من الفيروسين المذكورين.

٣- يمكن أن يُعطى بسهولة للأعداد الكبيرة من الطيور (Mass vaccination) عن طريق الماء أو الرش.

٤- كذلك فإن عدد الجينات في فيروس النيوكاسل قليل بالمقارنة بفيروس جدرى الطيور؛ فعدد

البروتينات المنتجة في جسم الطائر المحصن بهذا اللقاح لا يزيد على اثني عشر بروتينًا بالمقارنة بـ ٢٠ بروتين في حالة لقاح الجدرى، وهذه الكمية من البروتينات المنتجة في جسم الطائر المحصن بلقاح الجدرى المركب تخفف وتقلل كمية المنتج المناعي ضد H_5N_1 بالمقارنة بما يحدث في حالة لقاح النيوكاسل لاسوتا.

٥- يعتقد الباحثون أن لقاح النيوكاسل ممكن استخدامه في الإنسان استعدادًا لو حدث لا قدر الله وباء عالمي؛ حيث إن تجربته على القرود أثبتت إمكانية إحداث مناعة.

٦- بالإضافة إلى ما سبق ذكره من مميزات فإن لقاح لاسوتا المركب له الكثير من الصفات الجيدة، فهو: سهل الإنتاج، سهل الاستخدام، ينمو بدرجة عالية في البيض المخضب، ينبه كل أجهزة المناعة من مناعة خلوية ومناعة سائلة وإنتاج السيتوكين، ولا يسبب أضرارًا جانبية، ويقلل من إفراز الفيروسات المرضية في لعاب وزرق الطيور.

وأخيرًا وليس آخرًا فمن المهم معرفة أن اللقاحات المستوردة من الصين تواكب تغيرات فيروس أنفلونزا الطيور في الصين وليس في مصر، ونحن علينا أن نستخدم اللقاحات المنتجة من فيروس أنفلونزا الطيور الذي في مصر.