

Nâng cao - tham khảo

PHÁT TRIỂN VÀ ĐÁNH GIÁ VACCIN BẤT HOẠT PHÒNG BỆNH VIÊM DA NỔI CỤC (LSD) Ở TRÂU BÒ

Jihane Hamdi^a, Zineb Boumart^a, Samira Daouam^a, Amal El Arkam^a, Zahra Bamouh^a, Mohamed Jazouli^a, Khalid Omari Tadlaoui^a, Ouafaa Fassi Fihri^b, Boris Gavrilov^c, Mehdi El Harrak^a

^a Research and development Virology, Multi-Chemical Industry, Lot. 157, ZI Sud-Ouest (ERAC) B.P.: 278, Mohammedia 28810, Morocco

^b Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Rabat, Morocco

^c Biologics Development, Huvepharma, 3A Nikolay Haytov Street, Sofia, 1113, Bulgaria

TÓM TẮT

Bệnh viêm da nổi cục ở trâu bò (LSD) do 1 virus thuộc giống Capripoxvirus gây ra. Bệnh gây thiệt hại lớn về kinh tế cùng với việc hạn chế buôn bán và di chuyển động vật. Tiêm phòng là cách duy nhất khả thi về mặt kinh tế để kiểm soát căn bệnh do vector truyền này. Cho đến nay, chỉ có vaccin nhược độc được sử dụng và chưa có vaccin bất hoạt nào được phát triển cũng như thử nghiệm trên gia súc. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã phát triển một loại vaccin nhũ dầu bất hoạt dựa trên chủng Neethling và thử nghiệm trên gia súc. Các tiêu chí được lựa chọn đánh giá là tính an toàn, phản ứng kháng thể bằng trung hòa virus và khả năng bảo vệ qua công cường độc. Một thử nghiệm thực địa cũng đã được thực hiện ở Bulgaria. Vaccin này đạt yêu cầu an toàn và không gây ra bất kỳ phản ứng bất lợi nào, hàm lượng kháng thể đặc hiệu cao thu được bắt đầu từ ngày thứ 7 sau khi tiêm vaccin và bảo vệ được gia súc khi công cường độc. Khả năng bảo vệ của vaccin tương tự như bảo vệ thu được khi sử dụng vaccin nhược độc, không có bất kỳ tác dụng phụ nào. Ngoài ra, nghiên cứu thực địa cũng đã xác định tính an toàn và hiệu quả của vaccin, không cho thấy bất kỳ phản ứng phụ nào và tạo ra một lượng kháng thể cao trong tối đa một năm. Phòng bệnh dựa trên vaccin bất hoạt nói chung có thể mang lại lợi ích lớn ở các nước có lưu hành bệnh hoặc các vùng có nguy cơ.

Từ khóa: Bệnh viêm da nổi cục, Poxviridae, vaccin bất hoạt, thử nghiệm thực địa.

I. GIỚI THIỆU

Bệnh viêm da nổi cục ở trâu bò (LSD) là bệnh do vector truyền, gây ra bởi virus gây viêm da nổi cục (LSDV), thuộc giống Capripoxvirus (OIE, 2018). LSDV chủ yếu lây truyền qua các động vật chân đốt hút máu như *Aedes*, *Stomoxys*, *Amblyomma* và *Rhipicephalus* (Milovanović *et al.*, 2019), hầu hết các đợt bùng phát đã được quan sát thấy sau các trận mưa theo mùa, khi đến mùa sinh sản của động vật chân đốt (Weiss, 1968; Molla *et al.*, 2017; Mulatu và Feyisa, 2018). Sốt, nốt da, hốc hác và tổn thương ở miệng, hầu-họng và đường hô hấp là

đặc điểm của bệnh với tỷ lệ tử vong khoảng 10% (Babiuk *et al.*, 2008; Ayelet *et al.*, 2014). Nó có thể gây ra những thiệt hại kinh tế nghiêm trọng trong chăn nuôi gia súc, như giảm sản lượng sữa, sụt cân, tổn thương da và bất dục tạm thời hoặc vĩnh viễn ở cả bò đực và bò cái (Ayelet *et al.*, 2014).

LSD được phát hiện ở châu Phi và được báo cáo lần đầu tiên ở Zambia vào năm 1929 (Macdonald, 1930). Trong nhiều thập kỷ, virus đã lây lan đến vùng Sừng châu Phi và vào năm 1989, một đợt bùng phát đã xảy ra ở Israel trước khi lây lan sang các nước Trung Đông khác (Yeruham *et al.*, 1994;

Tuppurainen và Oura, 2012). Năm 2014, bệnh xuất hiện ở Iran và các vùng phía bắc của Cyprus. Vào năm 2015, các trường hợp LSD đầu tiên đã được báo cáo ở châu Âu gồm Hy Lạp, gần biên giới Thổ Nhĩ Kỳ và ở khu vực phía bắc Caucasus bao gồm Azerbaijan, Georgia và Nga (Cơ sở dữ liệu thông tin về sức khỏe động vật thế giới (WAHID), 2019). Năm 2016, căn bệnh này đã xuất hiện ở nhiều nơi ở châu Âu và châu Á, bao gồm Bulgaria, Serbia, Albania và Kazakhstan (Tuppurainen *et al.*, 2017). Trong năm 2019, không có đợt bùng phát LSD nào xảy ra ở đông nam châu Âu, tuy nhiên dịch bệnh này đã được báo cáo lần đầu tiên ở Ấn Độ, Trung Quốc và Bangladesh (Cơ sở dữ liệu thông tin về sức khỏe động vật thế giới (WAHID), 2019).

Do nguy cơ lây lan LSDV sang các vùng lãnh thổ mới rất cao, Cơ quan An toàn thực phẩm châu Âu (EFSA) đã khuyến nghị sử dụng một loại vaccin bất hoạt an toàn và hiệu quả (hay vaccin DIVA) để phòng ngừa ở các nước chưa xuất hiện dịch bệnh này (EFSA, 2015). Vaccin LSD sống đã được báo cáo gây ra tình trạng viêm cục bộ, giảm sản lượng sữa và đôi khi gây triệu chứng toàn thân nhẹ với các tổn thương ở da gọi là “bệnh Neethling” (Ben-Gera và *et al.*, 2015; Abutarbush và *et al.*, 2016; Katsoulos và *et al.*, 2017; Bedekovic và *et al.*, 2017; Hovari và Beltran-Alcrudo, 2018). Vaccin sống cũng tiềm ẩn nguy cơ lây truyền các tác nhân ngoại lai, tuy nhiên đây là loại vaccin duy nhất hiện nay được sử dụng để ngăn ngừa LSD.

Việc sử dụng các sản phẩm vô trùng đã được khử hoạt tính có ưu điểm là an toàn, không có sự sao chép, không lây lan ở động vật đồng sinh sống chưa được tiêm chủng và không có sự đảo ngược độc lực. Ngoài ra, không gây hậu quả nào đối với tình trạng dịch bệnh của 1 quốc gia, cấp phép cho các hoạt động thương mại và vận chuyển động vật.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã phát triển một loại vaccin bất hoạt bổ trợ nhũ dầu dựa trên chủng LSD Neethling được nuôi cấy trong tế bào. Vaccin đã được thử nghiệm về tính an toàn, tính sinh miễn dịch và hiệu lực trên gia súc, so với các động vật đối chứng chưa được tiêm vaccin. Chúng tôi báo cáo trong bài báo này kết quả thử nghiệm trên các loài động vật và thảo luận về các cơ hội sử dụng vaccin LSD bất hoạt trên quy mô lớn để kiểm soát sự lây lan toàn cầu của bệnh.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Thực hành sản xuất tốt (GMP)

Tất cả các quy trình, ghi chép và lưu trữ dữ liệu liên quan đến nghiên cứu này được thực hiện theo GMP tại cơ sở MCI Santé Animale ở Mohammedia (Maroc) - nơi đã nhận được chứng nhận ba lần về Môi trường-Chất lượng-An toàn (QSE) theo ISO9001, OHSAS 18001 và ISO 14001.

2.2. Chuẩn bị chủng virus vaccin

Chủng LSD Neethling giảm độc lực có nguồn gốc từ Nam Phi đã được sử dụng để điều chế vaccin bất hoạt. Virus này đã bị suy giảm độc lực bằng cách cấy truyền 61 đời trên màng đệm và được sử dụng như một chủng vaccin trong nhiều thập kỷ ở châu Phi, Trung Đông và châu Âu (Davies, 1991; Klement, 2018). Chủng virus này có thể bảo hộ động vật chống lại được bệnh mặc dù đã có những báo cáo về phản ứng sau tiêm chủng ở một số quần thể được tiêm (Ben-Gera *et al.*, 2015).

Virus này được truyền một lần vào 8 bê cái có huyết thanh âm tính, từ 4 - 6 tháng tuổi, bằng cách tiêm dưới da $10^{5.0}$ TCID₅₀/con. Chủng virus được phân lập lại từ một con gia súc có biểu hiện các nốt ban nhẹ toàn thân với biểu hiện viêm ở chỗ tiêm. Việc phục hồi virus từ các nốt sần được thực hiện bằng cách nuôi cấy dịch đồng nhất mô da tổn thương trên tế bào tinh hoàn sơ cấp. Đời cấy chuyên đầu tiên được coi là giống gốc và được kiểm tra độ vô trùng, nhận dạng và độ tinh khiết theo khuyến cáo của các tiêu chuẩn quốc tế (Hướng dẫn sử dụng của OIE).

2.3. Chuẩn bị vaccin sống bất hoạt

Để chuẩn bị kháng nguyên, chủng giống gốc được cấy truyền ba lần trên các tế bào tinh hoàn sơ cấp trong môi trường DMEM với 10% huyết thanh bào thai bê. Liều tiêm được xác định dựa trên 0,01 liều gây nhiễm (MOI). Hỗn dịch virus được thu hoạch sau 5 ngày ủ ở 35°C. Độ vô trùng, nhận dạng, độ tinh khiết và chuẩn độ virus được thực hiện như một phần của việc kiểm tra chất lượng của bán thành phẩm. Quá trình bất hoạt được tiến hành bằng cách sử dụng Biethylimine bromure (BEI) và bất hoạt hoàn toàn được kết thúc sau 3 lần cấy truyền trên các tế bào nhạy cảm.