

Nghiên cứu khoa học

SỬ DỤNG CHUỘT LANG ĐỂ KIỂM TRA HIỆU LỰC CỦA VACCIN LỞ MỒM LONG MÓNG

*Trần Xuân Hạnh, Nguyễn Văn Dung, Tô Thị Huệ,
Quách Võ Ngôn, Đỗ Thanh Thủy, Nguyễn Thiên Thu, Phạm Hào Quang
Công ty CP thuốc thú y Trung ương NAVETCO*

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu này là dùng chuột lang để kiểm tra hiệu lực của vaccin lở mồm long móng (LMLM) thông qua việc xác định liều bảo hộ 50% trên chuột lang ($GPPD_{50}$). 16 lô vaccin LMLM (bao gồm: vaccin nhập khẩu từ công ty Merial, vaccin sản xuất ở NAVETCO với kháng nguyên nhập từ công ty Merial và vaccin nghiên cứu chế tạo tại NAVETCO dùng chủng virus LMLM phân lập tại Việt Nam đã được thử nghiệm trên chuột lang để kiểm tra hiệu lực của các loại vaccin này.

Kết quả nghiên cứu cho thấy 16/16 lô vaccin kiểm tra đều đạt tiêu chuẩn về hiệu lực với giá trị $GPPD_{50} \geq 23 GPPD_{50}/liều$. Kiểm tra hiệu lực của các lô vaccin trên cả chuột lang và trên heo, bò đều cho kết quả tương tự. Với kết quả thu được ở nghiên cứu này thì chuột lang có thể dùng để kiểm tra hiệu lực của vaccin LMLM.

Từ khóa: chuột lang, hiệu lực, lở mồm long móng (LMLM)

Using the Guinea pig in potency test for the foot and mouth disease vaccines

*Tran Xuan Hanh, Nguyen Van Dung, To Thi Hue,
Quach Vo Ngon, Do Thanh Thuy, Nguyen Thien Thu, Pham Hao Quang*

SUMMARY

The objective of this study aimed at evaluating the use of Guinea pig to test the efficacy of Foot and Mouth Disease (FMD) vaccines by means of determining 50% protection dose ($GPPD_{50}$). The FMD vaccines used in this study were Aftopor type "O", imported vaccine from Merial company; Aftovax type "O" and type "O"+"A" formulated at NAVETCO using the antigens of the inactivated FMD virus from Merial company; and the FMD vaccine made by NAVETCO using the FMD virus isolated in Viet Nam.

A total of 16 vaccine lots were tested and the results indicated that all of the 16 vaccine lots reached the potency standards with the $GPPD_{50}$ value was $\geq 23 GPPD_{50}/dose$. It was also recognized that all the vaccine lots showed their efficacy in the test on the Guinea pigs with the value $\geq 23 GPPD_{50}/dose$, the same value also obtained when efficacy test was done using the target animals as pig or cattle. With the outcome of this study, it is suggested that the Guinea pigs can be used for potency test for FMD vaccines

Keywords: Guinea pig, efficacy, Foot and Mouth Disease (FMD)

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh lở mồm long móng (LMLM) là một bệnh truyền nhiễm nguy hiểm do virus, gây bệnh cho động vật móng guốc chẵn như: bò, heo, dê, cừu v.v..., với các triệu chứng và bệnh tích thường xuất hiện ở móng chân, mũi, miệng và lưỡi. Ở Việt Nam, virus gây bệnh LMLM trên gia súc được xác định thuộc các serotype O, A và Asia 1, trong đó chủ yếu là serotype "O" thuộc các topotype SEA và ME-SA.

Thực tế đã chứng minh hiệu quả phòng bệnh LMLM phụ thuộc vào chất lượng tiêm phòng và công tác vệ sinh phòng dịch, trong đó chất lượng tiêm phòng đóng vai trò rất quan trọng. Hiện nay vaccin LMLM dùng tiêm phòng cho đàn gia súc chủ yếu nhập từ nước ngoài và việc nghiên cứu vaccin này ở trong nước cũng đã được thực hiện, nhưng hiện tại vẫn ở quy mô phòng thí nghiệm.

Để đánh giá chất lượng vaccin LMLM nhập khẩu và vaccin LMLM nghiên cứu sản xuất trong nước, người ta thường sử dụng bản động vật (heo, bò) và kiểm tra đáp ứng miễn dịch thông qua phản ứng huyết thanh học với ngưỡng hiệu giá kháng thể được quy định theo kit của nhà sản xuất hoặc theo tiêu chuẩn của OIE. Rất ít các đánh giá công cường độc trực tiếp được thực hiện.

Một khó khăn nảy sinh khi thực hiện kiểm tra hiệu lực của vaccin LMLM ở nước ta là chúng ta chưa có trại nuôi động vật sạch thực sự đảm bảo chất lượng để đánh giá vaccin này hoặc việc cung ứng động vật đảm bảo yêu cầu cho kiểm nghiệm rất khó khăn, vì vậy việc kiểm tra vaccin này thường mất rất nhiều công sức, kính phí để tìm động vật và như là một kết quả tất yếu, công tác kiểm nghiệm gặp rất nhiều khó khăn để đạt được độ chính xác và thời gian có kết quả mong muốn.

Đã có nhiều báo cáo về việc sử dụng chuột lang để kiểm nghiệm hiệu lực vaccin LMLM. Trên cơ sở kết quả các nghiên cứu tham khảo, nhằm giải quyết các khó khăn nêu trên, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu sử dụng

chuột lang để đánh giá chất lượng của vaccin LMLM nhập khẩu cũng như vaccin LMLM được nghiên cứu với các chủng virus LMLM phân lập tại các ổ dịch LMLM ở Việt Nam.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP THÍ NGHIỆM

2.1. Nguyên vật liệu thí nghiệm

+ Vaccin LMLM

Vaccin Aftopor nhũ dầu nhập khẩu từ công ty Merial của Pháp. Vaccin Aftovax type O và O+A được sản xuất tại công ty NAVETCO dùng kháng nguyên virus LMLM vô hoạt nhập khẩu từ công ty Merial của Pháp.

Vaccin LMLM vô hoạt nhũ dầu sản xuất tại công ty NAVETCO dùng chủng virus LMLM do Cơ quan thú y vùng 6 (RAHO VI) cung cấp và chủng virus LMLM O/NAVETCO/NA09/11 (Topotype ME-SA) do công ty NAVETCO phân lập và chọn lọc.

+ Chủng virus công độc: Chủng virus LMLM cường độc ký hiệu O/NAVETCO/NA09/11.

+ Động vật: Chuột lang khỏe mạnh, P = 350 – 400 g, nhận được từ Viện vaccin Nha Trang.

2.2. Phương pháp thí nghiệm

Mỗi lô vaccin dùng 25 - 30 chuột lang, chia làm 5 nhóm, mỗi nhóm 5 - 6 chuột. Mỗi nhóm chuột được nhốt riêng rẽ và được gây miễn dịch bằng tiêm vaccin LMLM dưới da với các nồng độ (liều vaccin) khác nhau: 1/3, 1/9, 1/27, 1/81 và 1 nhóm không tiêm dùng làm đối chứng. Sau 4 tuần tiêm vaccin, chuột lang của các lô miễn dịch và đối chứng được thử thách với virus LMLM cường độc, liều $10^{3-3.5}$ GPID₅₀.

Chủng virus LMLM cường độc O/NAVETCO/NA09/11 dùng công có liều gây nhiễm trên chuột lang là $10^{-5.3}$ và liều gây chết (mLD₅₀) chuột bạch ỏ là $10^{-6.7}$. Liều công thử thách 0,2 ml/con chứa 10^3 - $10^{3.5}$ GPID₅₀, đường gây nhiễm: tiêm dưới gan bàn chân. Theo dõi 10 ngày sau công độc, ghi chép số bệnh, số chết và tính toán liều bảo hộ GPPD₅₀ theo công thức

Reed & Muench.

Tổng số 16 lô vaccin đã được lấy mẫu để kiểm nghiệm hiệu lực bằng phương pháp dùng chuột lang, trong đó có 7 lô được kiểm nghiệm bằng 2 phương pháp: Phương pháp dùng chuột lang và phương pháp kiểm tra trên bản động vật (heo và bò). Kiểm tra hiệu lực trên heo và bò được thực hiện tại Trung tâm kiểm nghiệm thuốc thú y TW 1 và kiểm tra trên chuột lang được tiến hành tại Trung tâm nghiên cứu thú y,

Công ty CP thuốc thú y TW NAVETCO.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hiệu lực của vaccin được kiểm tra trên chuột lang, thông qua xác định liều PD_{50} ($GPPD_{50}$). Vaccin được gây miễn dịch cho các nhóm chuột lang với các liều khác nhau. Sau 1 tháng gây miễn dịch, chuột miễn dịch và đối chứng được thử thách bằng virus LMLM cường độc type 'O' liều $10^{3-3,5} GPID_{50}$, kết quả trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Kết quả kiểm tra hiệu lực trên chuột lang

STT	Loại vaccin	Lô vaccin	Nơi sản xuất	Chủng vaccin	Kết quả $GPPD_{50}$ /liều ⁽¹⁾	Kết luận
1	Aftopor type O	O-531	Công ty Merial	O3039 +	60,9	Đạt
2		O-605		O1 Manisa	48,0	Đạt
3		122210/15			60,6	Đạt
4	Aftovax type O	020906/16		O3039 + O1 Manisa	47,9	Đạt
5		010704/16			47,9	Đạt
6		022403/16			60,3	Đạt
7		042605/16	NAVETCO*		38,0	Đạt
8		060707/16			38,0	Đạt
9		080610/16			27,0	Đạt
10	Aftovax type O+A	010303/16		O 3039 + O1 Manisa + A	71,3	Đạt
11		031205/16			38,0	Đạt
12		052306/16			37,0	Đạt
13		072209/16			25,0	Đạt
14		01 2015	NAVETCO**	O/Navet-co/09/11	37,5	Đạt
15		02 2015			30,1	Đạt
16	Vaccin LMLM type O	03 2016	NAVETCO***	RAHO 6	48,0	Đạt

*Kháng nguyên virus LMLM vô hoạt nhập từ công ty Merial, Pháp.

**Kháng nguyên virus LMLM do NAVETCO phân lập và chọn lựa

***Kháng nguyên nhận được từ RAHO VI

(1) $GPPD_{50} \geq 23$, lô vaccin đạt hiệu lực.

Kết quả thu được cho thấy tất cả các lô vaccin LMLM kiểm tra đều có giá trị $GPPD_{50}$ lớn hơn 23 $GPPD_{50}$ /liều, trong đó lô vaccin kiểm tra có giá trị $GPPD_{50}$ thấp nhất cũng đạt 25 $GPPD_{50}$ và lô vaccin có giá trị $GPPD_{50}$ cao nhất là 71,3 $GPPD_{50}$ (trung bình $43,6 \pm 12,6$). Để thí nghiệm

đạt chuẩn, yêu cầu động vật ở lô đối chứng sau khi công phải chết hoặc bị bệnh ít nhất 80% số chuột được công. Thực tế theo dõi chuột sau công độc ghi nhận 100% chuột đối chứng của các lô kiểm tra (16 lô) chết hoặc phát bệnh. Dấu hiệu bệnh thường bắt đầu xuất hiện vào ngày thứ 4 sau

khi công. Một số ít trường hợp có thể xuất hiện vào ngày thứ 3. Các biểu hiện bệnh thường gặp là: chuột ăn ít hoặc bỏ ăn, kêu nhiều, ít vận động. Bệnh tiến triển xuất hiện các triệu chứng: Chuột xù lông, chảy nước dãi rất nhiều từ miệng, mũi ướt, bàn chân sưng đỏ cả ở chân tiền và chân đối diện, cũng như xuất hiện các nốt trắng. Chuột bệnh thường chết trong vòng từ ngày thứ 4 đến ngày thứ 7 sau khi gây nhiễm.

Để có cơ sở xem xét khả năng áp dụng các phương pháp khác nhau để kiểm tra hiệu lực vaccin LMLM, chúng tôi tiến hành so sánh kết quả kiểm tra hiệu lực dùng chuột lang với phương pháp kiểm tra trên bản động vật (heo, bò) được thực hiện tại Trung tâm kiểm nghiệm thuốc thú y Trung ương I, kết quả trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Kết quả kiểm tra hiệu lực vaccin LMLM dùng bản động vật và động vật thí nghiệm – chuột lang

STT	Loại vaccin	Lô vaccin	Nơi sản xuất	Chủng vaccin	Kết quả GPPD ₅₀ /liều	Kết quả TTKN 1	
						Heo	Bò
1	Aftopor type O	O-531	Công ty Merial	O 3039, O1 Manisa	60,9	Đạt	Đạt
2		O-605			48,0	Đạt	Đạt
3	Aftovax type O	010704/16	NAVETCO*	O 3039, O1 Manisa	47,9	KL	Đạt
4		010303/16			71,3	KL	Đạt
5	Aftovax type O +A	031205/16		O 3039, O1 Manisa + A	38,0	KL	Đạt
6		052306/16			37,0	KL	Đạt
7		072209/16			25,0	KL	Đạt

*Kháng nguyên virus LMLM vô hoạt nhập từ công ty Merial, Pháp. KL: không làm

Kết quả ghi nhận tất cả các lô vaccin có giá trị GPPD₅₀ ≥ 23 đều cho kết quả đạt khi kiểm tra trên heo và bò đối với vaccin Aftopor type O và trên bò đối với vaccin Aftovax type O & type O+A. Mặc dù số lượng mẫu còn hạn chế nhưng với kết quả thu nhận từ nghiên cứu này, có thể sơ bộ nhận xét rằng: Có sự phù hợp về kết quả khi kiểm tra hiệu lực bằng phương pháp dùng chuột lang so sánh với phương pháp thử trên bản động vật (heo, bò) hiện đang được Trung tâm kiểm nghiệm thuốc thú y Trung ương I áp dụng.

Do khó khăn trong việc sử dụng động vật đích để kiểm nghiệm vaccin khi áp dụng trong sản xuất thường quy và do những hạn chế về kỹ thuật, điều kiện về an toàn sinh học và cả yếu tố về kinh tế, rất khó có thể thực hiện việc công cường độc khi kiểm nghiệm từng lô vaccin

LMLM trong sản xuất thực tế. Chính vì vậy, việc sử dụng một phương pháp kiểm nghiệm thay thế để kiểm tra hiệu lực của vaccin LMLM là một yêu cầu thực tế cần được xem xét tìm giải pháp để giải quyết.

Nhiều công trình nghiên cứu về vaccin LMLM, thậm chí trong sản xuất vaccin LMLM của một số công ty trên thế giới, người ta đã sử dụng chuột lang để kiểm tra hiệu lực vaccin thông qua xác định liều bảo hộ trên chuột lang (1,2,3,4,5). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi chỉ ra rằng tất cả các lô vaccin LMLM từ các nguồn sản xuất khác nhau khi kiểm tra hiệu lực trên chuột lang đều đạt yêu cầu về hiệu lực và cho kết quả ≥ 23 GPPD₅₀/liều. Đây là ngưỡng chỉ số bảo hộ trên chuột lang được xác định tương đương với giá trị ≥ 3 PD₅₀ khi kiểm tra trên bò, bê (Theo tài liệu “Federal center for

Animal Health (FGI ARRIAH) - Dossier for vaccine against foot and mouth disease cultural inactivated emulsified from strain type "O").

Hơn nữa, việc đồng thời kiểm tra hiệu lực của vaccin LMLM trên chuột lang và trên bò, heo và so sánh kết quả thu được cũng cho thấy tất cả các lô vaccin LMLM trong thí nghiệm này có giá trị bảo hộ 50% trên chuột lang $\geq 23 \text{ GPPD}_{50}/$ liều đều cho kết quả đạt khi kiểm tra hiệu lực bằng phương pháp dùng bản động vật (heo, bò).

Từ kết quả thu được trong thí nghiệm này, chúng tôi nhận xét rằng có thể dùng chuột lang như là một phương pháp thay thế để kiểm tra hiệu lực vaccin LMLM vô hoạt nhũ dầu hoặc keo phen. Phương pháp đã được chứng minh thuận lợi, đáp ứng được yêu cầu về thời gian trong sản xuất và đảm bảo tính chính xác như khi dùng heo hoặc bò để kiểm tra, như phương pháp hiện đang áp dụng để kiểm tra vaccin này. Để có thêm cơ sở áp dụng kiểm tra hiệu lực vaccin LMLM dùng chuột lang, một số thí nghiệm kiểm tra hiệu lực trên heo hoặc bò thực hiện song song với trên chuột lang có thể cũng cần thiết phải được tiến hành thêm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. D.Abaracon; N.Magallanes; E.G.Charles; L.A.Durini; E.Frick; G.Fernandez de Albarracin; E.Degiorgi de Burghi; T.Radisich. Shelf life of inactivated oil-adjuvanted Foot-and-mouth disease vaccine. Bol.Centr.Panam.Fiebre Aftosa 37-38:21-24, 1980.
2. Ehab El-Sayed, Wael Mossad Gamal El-Din, Sonia Ahmed Rizk, Magdi Abd El-Aty. Effect of different storage temperatures on the efficacy of the bivalent foot and mouth disease oil vaccine. Journal of Advanced Veterinary research. Vol 2 (2012) 198-205.
3. Hans G.Bahnmann & Julio A.Mesquita (1987). Oil-adjuvant against foot-and-mouth disease. Bol.Centr.Panam.Fiebre Aftosa 53:25-30, 1987.
4. Ivo Gomes; P. Auge de Mello; A.Aloson Fernandez; Kleise de Freitas Costa. Foot and mouth disease oil adjuvanted vaccines for pigs. III. Immune response of vaccines emulsified by ultrasonic or mechanical equipment. Bol.Centr.Panam.Fiebre Aftosa 35-36:27-33, 1979.
5. P. Auge de Mello; A.Aloson Fernandez; I. Gomes; M.S.Sondahi; A.R.Pollak; H.Tortora; A Millan; D.Pintos. Potency testing of oil adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine: PD50 assays of a semi-industrial water in oil type emulsion vaccine in guinea pigs and cattle. Bol.Centr.Panam.Fiebre Aftosa 29-30:61-65, 1978.
6. Trần Xuân Hạnh, Nguyễn Thị Lam Hương, Tô Thị Huệ, Đặng Hùng, Bùi Anh Thy, Kim Văn Phúc, Phạm Hào Quang, Huỳnh Khương Hữu Duyên, Nguyễn Văn Dung, Lê Thị Thu Phương. Kết quả bước đầu sản xuất vaccin lở mồm long móng type O, vô hoạt, nhũ dầu, dùng chủng virus LMLM phân lập tại Việt Nam. Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y số 2-2015.

Ngày nhận 20-2-2017

Ngày phản biện 18-3-2017

Ngày đăng 1-1-2018