

**TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH**

**BỘ MÔN CÔNG NGHỆ SINH HỌC**

**LỚP DH06SH**

**MÔN CHUẨN ĐOÁN BỆNH GIA SÚC GIA CẦM**

*Chuyên đề:*

**VACCINE PHÒNG BỆNH *AUJESZKY***

GV: Nguyễn Ngọc Hải

SV: Dương Ngọc Kiều Thi

MSSV: 06126144

Thủ Đức, ngày 01/10/2009

## **I. Đặt vấn đề.**

### **Bệnh giả dại**

Bệnh giả dại có nguy cơ lây nhiễm cao trên heo và các thú nuôi khác, như gia súc, cừu, dê, do Herpesvirus suis gây ra ( còn gọi là “pseudorabies virus” hay “PRV”). Ở heo, bệnh gây ra các tổn thương đường hô hấp và viêm não và có thể dẫn đến chết. Các triệu chứng khác phổ biến trên heo như sảy thai, chết heo sơ sinh, giảm lứa đẻ, và tăng tỉ lệ chậm phát triển. Các đàn thú nuôi khác, hầu hết là các gia súc, nhiễm PRV hầu như luôn luôn dẫn đến chứng viêm não.

Bệnh giả dại đã trở thành nguồn đe dọa và là nguyên nhân chính gây thiệt hại về kinh tế cho ngành nuôi heo trên toàn thế giới. Sự lan rộng của bệnh giả dại trên gia súc và các thú nuôi trong trang trại khác cũng đáng báo động. Trong 10 năm gần đây, thiệt hại về kinh tế càng leo thang vì xuất hiện nhiều chủng virus PRV mới và ngày càng lan rộng. Ngày nay, ước lượng có khoảng 8% của 80 triệu con heo của Mỹ bị nhiễm bệnh này, thấp hơn 0,8% so với cách đây một thập kỷ.

Triệu chứng nhiễm bệnh và hậu quả nhiễm bệnh PRV có thể nhẹ hoặc ngăn chặn được nhờ các loại vaccine bao gồm cả bị giết hay chủng sống biến đổi như các chủng nhược độc của PRV. Tuy nhiên, hầu hết các chủng vaccine tồn tại đều khó kiểm soát sự lan rộng của bệnh giả dại vì đặc tính sinh học duy nhất của PRV và các loại virus alpha herpes khác, như virus herpes đơn type 1 và 2 ( còn gọi là “HSV-1” và “HSV-2” theo thứ tự), varicella-zoster, virus lây bệnh rhinotracheitis trên trâu bò, virus herpes trên khỉ đuôi sóc, và herpesvirus type 1 trên ngựa.

Cụ thể hơn, virus herpes alpha có 1 khả năng đặc biệt đó là trạng thái im lìm trong các mô thần kinh. Đó là, khi con thú bình phục từ lần nhiễm đầu tiên, herpes alpha rút lui đến 1 phần của hệ thần kinh nơi chúng có thể trở nên im lặng và trở với hàng rào miễn dịch của cơ thể. Trạng thái bất hoạt này, như sự tiềm tàng, có thể phục hồi một cách bất ngờ làm tái phát bệnh hay là 1 phương tiện truyền nhiễm bệnh, ở các thú bị nhiễm không có triệu chứng bên ngoài nhưng có thể truyền hay nhiễm virus alpha một cách không liên tục, gây nên bệnh truyền nhiễm và bộc phát thành dịch.

Sử dụng vaccine là biện pháp phòng bệnh đặc biệt hiệu quả đối với các bệnh do virus.

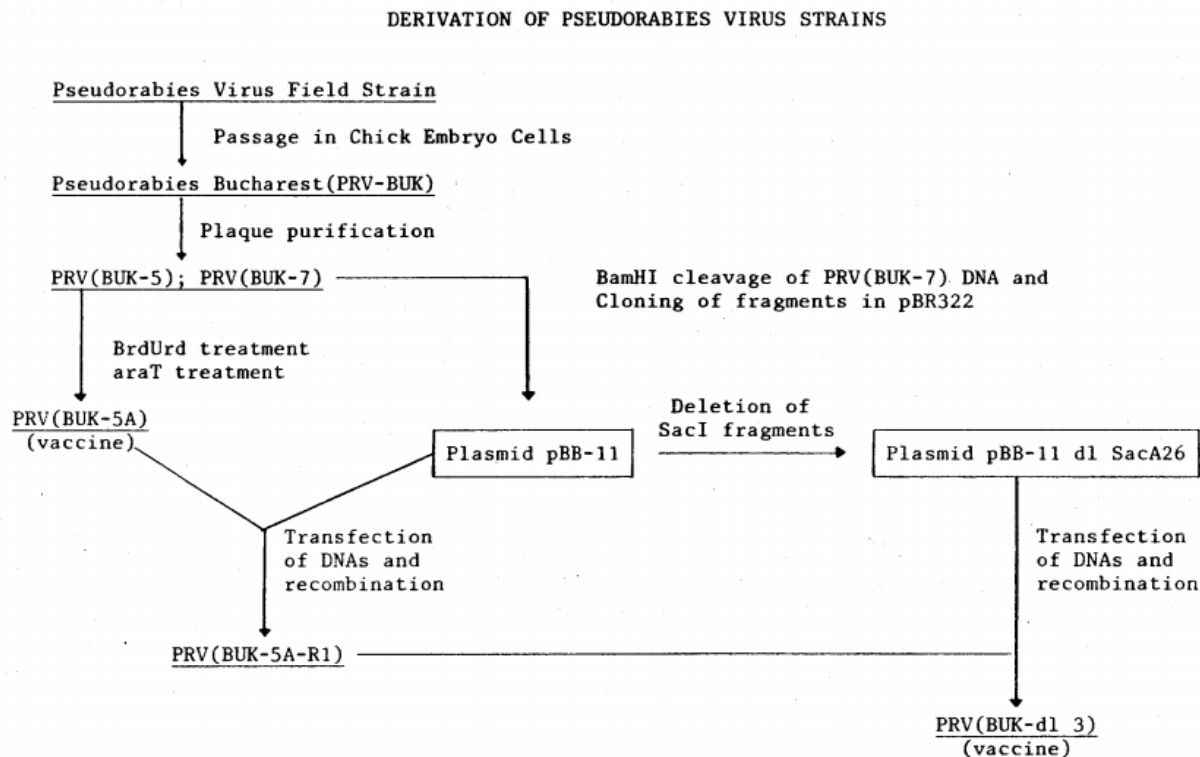
## **II. Tổng quan**

### **1. Sơ lược về herpes alpha**

Virus có đường kính khoảng 180nm, bộ gen của các chủng PRV dạng đường thẳng, xoắn kép, các phân tử DNA hoán vị không có dạng vòng, kích thước bộ gen khoảng 146 kbp.

Bộ gen của các chủng PRV được xếp vào loại phân tử DNA lớp D. Giống như các virus herpes khác, một vỏ capsid có 20 mặt được cấu thành từ 20 capsomers bao quanh bởi áo lipoprotein. Lớp đi lớp áo của virus bằng một loại bột không ion hóa, như Triton X-100 hay Nonidet P40, cho phép phân tách lớp áo ra nucleocapsid độc, chứa toàn bộ DNA và khoảng 1 nửa protein của virus. Nucleocapsid của virus gồm có 3 loại protein chính, khoảng 142000, 35000, 32000 daltons, 1 loại protein khác khoảng 62000 daltons, và 12 loại protein nhỏ hơn có kích thước từ 10,000 tới 115,000 daltons. Lớp vỏ bọc chứa các protein còn lại của virus, bao gồm ít nhất là 7 loại glycoprotein và 1 loại protein không glycosyl hóa. Cũng như những alpha herpes virus khác, như HSV-1, những vỏ bọc protein, và tiền thân của chúng, có quy luật chung là kích thích đáp ứng miễn dịch của tế bào hay dịch thể; đây là nhiệm vụ của chúng khi xâm nhập vào các tế bào bị nhiễm; và chúng điều khiển sự dung hợp của vi khuẩn và virus.

Virus bị diệt ở 60°C trong 50 phút, acid Phenic 5% trong 10-20 phút, Formol 0,5% trong 8 phút, NaOH 1% thì chết ngay. Trong xác thối rửa, virus sống được 11 ngày, trong thịt ướp muối khoảng 20 ngày,...Dùng glycerin nguyên hoặc 50% có thể bảo tồn được nhiều năm trong tủ lạnh.



Hình 1. Nguồn gốc của các chủng virus giả dại.

## 2. Các loại vaccine phòng ngừa bệnh giả dại:

### 2.1. Vaccine vô hoạt

Bất hoạt bằng quang động (purdue university 1982, india)

Virus PRV được chứng minh là nhạy cảm với ánh sáng. Do đó, dùng thuốc nhuộm Methylene Blue (MB), ánh sáng và dòng điện kết hợp với nhau có thể bất hoạt được virus này.

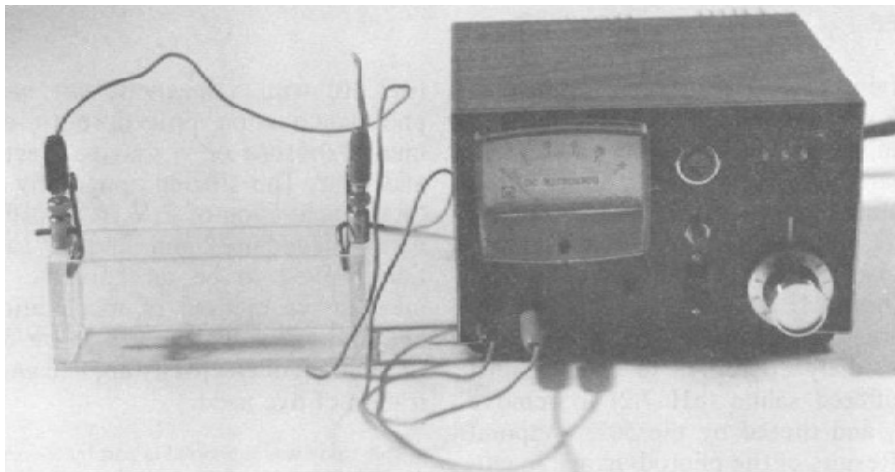
Tính kháng nguyên của virus được bảo tồn, dùng kiểm tra tín hiệu miễn dịch hay điện di miễn dịch để đo lượng kháng thể đặc hiệu.

Phương pháp này phù hợp với virus, rẻ tiền, dễ thực hiện, nhanh chóng.

Nồng độ MB thấp, chiếu sáng, dòng điện sẽ làm giảm sự có mặt của virus herpes simplex và bức xạ với ánh sáng nhìn thấy được sẽ làm mất khả năng hình thành tế bào lớp mỏng.

- Vật liệu

- Một hộp chứa methyl methacrylate gắn điện cực platinum được dùng cho quá trình bất hoạt quang động. Chỉ một lượng nhỏ ( khoảng 10 ml) virus bị bất hoạt mỗi lần. Kích thước hộp ( dài, cao ,rộng) là 11,95, 2,98 , 2,98,. Làm bằng nhựa acrylic trong suốt, để ánh sáng có thể xuyên qua, thể tích hộp khoảng 100ml.



Hình 2. Hộp nhựa và nguồn điện dùng để sản xuất vaccine.

- Nguồn sáng được cung cấp bởi đèn cao áp đặt trên hộp 20 cm.

- Nguồn điện xoay chiều 110V.
  - Các bước thực hiện
- Thêm nhiều lượng thuốc nhuộm MB khác nhau vào 100ml mẫu chứa virus.
- Hỗn hợp thuốc nhuộm và virus được đặt trong hộp acrylic.
- Cung cấp dòng điện 12  $\mu$ A, bước sóng ánh sáng biến đổi.

Người ta cũng thực hiện nhiều thí nghiệm như không cung cấp dòng điện, so sánh hiệu quả bất hoạt của MB, ánh sáng và MB, ánh sáng, dòng điện được kết hợp với nhau, hay chỉ dùng dòng điện kết hợp với ánh sáng mà không có MB.

Trong suốt quá trình bất hoạt, các mẫu virus được lấy ra trong các khoảng thời gian khác nhau, thẩm tách bằng dung dịch đệm phosphate saline trong 48 tới 72 giờ (pH=7,2) để lấy đi hết thuốc nhuộm MB.

Bảng 1. Kết quả của bất hoạt quang động PRV với nhiều nồng độ thuốc nhuộm khác nhau và dòng điện khác nhau

Thí nghiệm	MB (M)	Dòng điện ( $\mu$ A)	Thời gian (Min) <sup>a</sup>	Lượng virus gốc (TCID) <sub>50</sub>	Kết quả	
					Nồng độ (TCID) <sub>50</sub>	% sống sót
1	10 <sup>-5</sup>	12	8	4x10 <sup>7</sup>	8.0x10 <sup>2</sup>	0.010
			12			0.010
			16.5			0.001
2	10 <sup>-5</sup>	0	8	4x10 <sup>7</sup>	1.0x10 <sup>4</sup>	0.125
			12			0.158
			16.5			0.010
3	2x10 <sup>-5</sup>	12	8	1.1x10 <sup>6</sup>	1.4x10 <sup>3</sup>	0.131
			12			0.112
			16.5			<5.2x10 <sup>1b</sup>
4	2x10 <sup>-5</sup>	0	8	1.1x10 <sup>6</sup>	8.0x10 <sup>3</sup>	0.741
			12			0.074
			16.5			0.048
5	10 <sup>-4</sup>	12	8	1.2x10 <sup>5</sup>	<5.2x10 <sup>1b</sup>	<0.043 <sup>b</sup>
			12			0

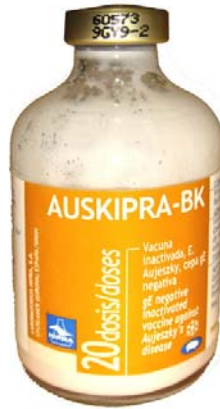
			16.5		0	0
<b>6</b>	$10^{-4}$	0	8	$1.2 \times 10^5$	$7.2 \times 10^2$	0.600
			12		$8.0 \times 10^2$	0.667
			16.5		$1.1 \times 10^3$	0.869
<b>7</b>	0	12	8	$1.3 \times 10^6$	$4.7 \times 10^5$	35.778
			12		$1.4 \times 10^5$	10.498
			16.5		$6.3 \times 10^5$	48.523
<b>8</b>	$10^{-4}$	12	8	$1.3 \times 10^6$	$8.0 \times 10^1$	0.006
			12		$5.2 \times 10^1$	0.004
			16.5		$< 5.2 \times 10^{1b}$	$< 0.004^b$
<b>9</b>	$10^{-4}$	0	8	$1.3 \times 10^6$	$1.4 \times 10^2$	0.011
			12		$8.8 \times 10^1$	0.007
			16.5		$1.3 \times 10^2$	0.009
<b>10</b>	$10^{-4}$	12	8	$1.7 \times 10^6$	$< 5.2 \times 10^{1b}$	$< 0.003^b$
			12		0	0
			16.5		0	0

<sup>a</sup>khoảng thời gian virus hay hỗn hợp virus phơi dưới dòng điện, hay ánh sáng, hay cả hai.

<sup>b</sup>hiệu quả gây bệnh cho tế bào thấp hơn 50% của giống nguyên chất.

Phương pháp bất hoạt quang động này được phát triển bởi tính hiệu quả, đơn giản, và rẻ tiền. Hiệu quả kháng nguyên của nó không bị ảnh hưởng bởi dòng điện cung cấp, nồng độ thuốc nhuộm sử dụng. ( nguồn : Agricultural Research Service U.S. )

Ngoài ra, người ta bất hoạt khả năng gây bệnh bằng tia UV hay xử lý với formaldehyde. Quy trình cơ bản như sau: giống virus gốc, rải đông, nuôi cấy tăng sinh qua nhiều cấp, đo và kiểm tra nồng độ, đến khi đạt yêu cầu, cho formadehyde vào, hòa đều, phối trộn với chất bổ trợ, đông khô, phân chai, đóng gói. Sau khi cấp vào thú, sẽ kích thích thú sinh kháng thể chống lại các glycoprotein của virus. Các thú có miễn dịch chống lại các vaccine này sau đó sẽ được bảo vệ khỏi bệnh.



Hình 3. Auskipra\_BK, chủng Bartha K61gI, bất hoạt, gE-.

Tuy nhiên, nhược điểm của phần lớn vaccine vô hoạt là gây đáp ứng miễn dịch không cao, thời gian ngắn, nên phải tiêm nhắc lại nhiều lần.

## 2.2 Vaccine virus sống biến đổi.



Hình 4. Auskipra\_GN, vaccine sống đông khô chủng Bartha K61, gE-.

### 2.2.1. Sản xuất vaccine nhược độc bằng nuôi cấy tế bào, cấy chuyển qua nhiều lần

Trước đây, vaccine PRV virus sống biến đổi đã được sản xuất thông qua nuôi cấy mô các virus trong tế bào của gà và/hay khỉ, thông qua việc nuôi cấy mô, các đột biến tích lũy như là các thể thích nghi của virus trong môi trường mới của nó. Những đột biến mơ hồ này ảnh hưởng bất lợi đến tái sản xuất của virus trong vật chủ tự nhiên, và tạo thành virus nhược độc.

Ví dụ : từ chủng PRV TK+ người ta sản xuất ra chủng BUK nhược độc bằng cách cấy chuyển trong môi trường tế bào phôi gà qua 800 lần.

Các chủng BUK-5, BUK-7, có nguồn gốc từ chủng BUK, được cấy chuyển qua các tế bào thận khỉ, thỏ, có bổ sung môi trường chọn lọc chọn lọc các chủng PRV TK-, tinh sạch để sản xuất vaccine.



Hình 5. Vaccine virus giả đại sống biến đổi.

### 2.2.2. Dùng hóa học trị liệu hay vaccine nhược độc xử lý đột biến 2 bước:

Gây đột biến Herpes virus bằng cách xử lý với Phosphono formic acid và 5-ethyl-2'-desoxyureidine. Bằng cách này, khả năng gây bệnh của herpes virus sẽ bị làm yếu đủ để được dùng làm vaccine. Chỉ làm mất khả năng gây bệnh, đặc tính kháng nguyên vẫn được duy trì.

- Nguyên liệu ban đầu:

- Thu nhận nguyên liệu ban đầu hay phân lập từ người và động vật (in vivo), cây hay làm giàu ở điều kiện in vivo hay in vitro.

- Chuẩn bị môi trường nhân giống phù hợp với virus herpes:

Tế bào nguyên xơ phôi gà, tế bào VERO( tế bào thận khỉ mặt xanh Châu Phi), các tế bào từ thỏ, các tế bào BHK-21'-(tế bào thận chuột Syrian Hamster con)

- Hóa chất

Phospho formic acid .

5-ethyl-2'-desoxyureidine.

- Nồng độ của virus herpes cũng phải đủ mạnh để gây nhiễm vào tế bào và cho phép virus được nhân giống lên nhiều lần. Tuy nhiên, không quá cao để toàn bộ tế bào bị diệt vong sau khi virus nhân lên một vài lần và làm hạn chế hoạt tính của việc gây đột biến trong suốt quá trình sản xuất.



Việc xử lý hóa chất thực hiện ở nhiệt độ khoảng 20-40<sup>0</sup> C, đặc biệt là từ 30 tới 37<sup>0</sup> C.

- Cách tiến hành:

Virus herpes type 1, chủng C42 được phân lập từ viêm giác mạc và trải qua 8 lần cấy chuyển trong môi trường tế bào thận chuột con Hamster (BHK), dùng môi trường Eagle bổ sung 7% huyết thanh thai bò. Lượng virus chuẩn được định rõ bằng kiểm tra bề mặt hay thông qua hiệu quả gây bệnh tích tế bào xơ phôi gà sơ cấp.

Virus đem gây nhiễm với nhiều liều lượng khác nhau cho đạt tới liều 100 ID<sub>50</sub> (lượng cần gây nhiễm cho thú là 50%, liều 50)

Thêm Phosphono formic acid hòa tan trong môi trường Eagle's Basal chứa 2% huyết thanh thai bò nồng độ 5-50 g/ml, thích hợp nhất là 20-50 g/ml. Khi tế bào biểu hiện bệnh tích, tế bào bị vỡ và ly giải, hút lấy 2 ml để nhiễm sang môi trường xơ phôi gà mới, lặp lại 5 lần.

Nồng độ phospho mỗi lần cấy chuyển:

Lần 1	20-50 µg /ml
Lần 2	20-50 µg/ml
Lần 3	20-50 µg/ml
Lần 4	20 µg/ml
Lần 5	10 µg/ml

Sau đó cấy chuyển từ 3 tới 5 lần với sự có mặt của alpha hay beta-5-ethyl-2'-desoxyureidin (EdU) nồng độ từ 5-20 µg /ml

Nồng độ EdU mỗi lần cấy chuyển từ

Lần 1	20 µg/ml
Lần 2	20 µg/ml
Lần 3	5 µg/ml

Kết quả là, virus có tính kháng nguyên gây miễn dịch chống lại herpes bị làm yếu.

Tiêm vào cơ

Bảng 2. Đánh giá tính bảo vệ của miễn dịch ở các độ chuẩn virus khác nhau sau 30 ngày sau khi tiêm chủng bằng chủng virus khởi đầu.

---

**Lượng herpes khởi đầu  
chuẩn gây nhiễm vào thú  
sau 30 ngày**

---

**Tỷ lệ chuột chết trên chuột tổng số**

---

	Chuột không được miễn dịch	Chuột được miễn dịch bằng vaccine.
$10^0$	3/3	0/3
$10^{-1}$	3/3	0/3
$10^{-2}$	1/2	0/2
$10^{-3}$	1/2	0/3
$10^{-4}$	<b>3/3</b>	<b>0/3</b>

Vaccine loại này có thể được dùng dưới dạng tiêm, uống, phun sương, hay dạng nhỏ giọt như nhỏ mắt, nhỏ mũi.

Tinh sạch các virus đột biến này được bằng những cách phổ biến như sản xuất vaccine thông thường (lọc, đặc biệt là lọc phân tử và lọc gel, phân tách, ly tâm theo gradient, hút và sau đó tách rửa, vv), ổn định bằng cách thêm các chất ổn định và bảo quản ở điều kiện nhiệt độ thích hợp (benzyl alcohol, chlorobutanol, thiomerosl, phenol, cresol.)

Hơn nữa, tính kháng nguyên của virus có thể được tăng cường bằng cách thêm các tá dược hay chất ổn định trong quá trình vận chuyển. Ví dụ như tá dược của hãng Freund, dầu và các tá dược hữu cơ khác. Tuy nhiên, các hợp chất nhôm chuyên biệt như oxyde nhôm, nhôm hydroxide và nhôm phosphate vẫn được ưa chuộng.

Các virus herpes như thế có thể được dùng như là thành phần của các hỗn hợp vaccine

Vấn đề của vaccine virus PRV biến đổi sống nói trên là thú thường trở thành 1 vật mang của virus vaccine nhược độc. Như vậy, sử dụng vaccine loại này có thể gây nên 2 tình huống rắc rối làm trở ngại đến tính an toàn và hiệu quả của chúng. Thứ nhất là, sẩy thai, chết non, truyền sang heo con mới sinh có thể do 1 vài virus vaccine gây ra khi chúng bị lây từ những con vật mang được chủng ngừa. Thứ hai, sự lưu hành lặp lại của virus vaccine trong đàn heo có thể đảo lộn quá trình nhược độc nghĩa là virus vaccine có thể trở lại dạng chủng bố mẹ gây bệnh ban đầu. Trong bối cảnh đó, việc chích vaccine phổ rộng sẽ gây rắc rối nghiêm trọng vì sự lan tràn của bệnh dịch.

Thêm vào những bất lợi được kể bên trên, các vaccine PRV được biết trước đây, trong thời gian giảm triệu chứng của bệnh đến mức tối thiểu thì không bảo vệ được thú tránh khỏi các chủng gây bệnh thực địa. Cho nên, dù có chích ngừa, một con thú vẫn có thể trở thành một vật mang bệnh và truyền bệnh và cho những con thú nhạy cảm khác. Những con vật mang bệnh này khi được chuyển từ nông trại ra chợ không chỉ lây các virus vaccine bất hoạt mà còn cả virus gây bệnh nữa. Điều này gây hậu quả phiền phức cho việc truyền bệnh thông qua các chương ngại địa lý và biên giới giữa các bang.

Tuy nhiên, tình trạng ngủ của PRV rất khó để trừ bệnh một cách hiệu quả thông qua các ứng dụng về cách ly được mong đợi là có khả năng hạn chế được sự lan rộng của mầm bệnh bằng cách cách ly các đàn thú bị nhiễm hay ngăn chặn sự giết mổ các thú nhiễm. Điều đó có nghĩa là, với các vaccine hiện diện như vậy, thì rất khó xác định rõ đâu là đặc trưng của thú mang không biểu hiện các triệu chứng bệnh, lại mang mầm bệnh PRV dạng tiềm tàng do sử dụng các loại vaccine hiện hành nguy trang dưới hình thức bị nhiễm bệnh. Vì lẽ đó, các thú có biểu hiện bên ngoài khỏe mạnh lại có thể là vật mang và truyền bá các PRV, điều này rất quan trọng, thậm chí sau khi tiêm vaccine, để phát hiện ra các con thú bị nhiễm và các đàn để có thể tiến hành cách ly giới hạn. Các vaccine hiện tại được sáng chế để đối mặt với những nhu cầu này.

Hơn thế nữa, các liên bang yêu cầu các heo được dùng cho mục đích thương mại trao đổi mua bán giữa các bang phải được kiểm tra và không có PRV trong cơ thể. ( như dương tính huyết thanh cho PRV). Với tất cả vaccine virus giả đại sống bị biến đổi hay bị giết chết, một nhà sản xuất khi gặp phải hoàn cảnh nhiễm PRV trong đàn chủng ngừa. Các thú nhạy cảm bị đặt vào một tình huống kinh tế ngặt nghèo vì sự chủng ngừa toàn đàn gia súc có thể là nguyên nhân gây nên phản ứng huyết thanh dương tính cho PRV. Thêm vào đó, tái chủng ngừa để tăng phạm vi bảo hộ cũng sẽ tăng lượng kháng thể PRV chuẩn. Vì vậy, khả năng bán đàn gia súc của các chủ trang trại bị giới hạn rất khắc khe.

Một loại vaccine có thể được quản lý một cách an toàn, bảo vệ đàn gia súc tránh khỏi bệnh tật và các sự nhiễm dạng tiềm sinh gây nên bởi 5 chủng PRV thực địa, chưa đủ, không sinh phản ứng dương tính trong kiểm tra PRV được cho phép trong chương trình chủng ngừa để không bị giới hạn bởi nỗi sợ hãi bại cách ly. Các nhà sản xuất như đã hạn chế thiệt hại trong đàn của họ, trong khi sức khỏe của thú vẫn được đảm bảo một cách hiệu quả, không còn dư thừa hay phải kiểm soát một cách có giới hạn nữa. Các vaccine hiện nay cũng được phát triển để đáp ứng các yêu cầu này.

### **2.3. Vaccine sản xuất bằng kỹ thuật cắt bỏ và/hay chèn gây đột biến gen gây bệnh**

Vaccine nhược độc được sản xuất theo quy trình cổ điển có thể phục hồi độc lực của chủng virus do gen giữ vai trò trong khả năng gây bệnh của virus không hoàn toàn bị mất đi. Một số lớn virus DNA, trong bộ gen của chúng có khá nhiều gen không hoàn toàn cần thiết cho quá trình nhân lên của chúng, nhất là trên môi trường nuôi cấy tế bào.

Công nghệ gen cho phép tạo nên những chủng virus mang đột biến do bị cắt bỏ gen gây bệnh và tính chất của chúng được giữ ổn định qua nhiều lần cấy truyền.

- Sơ lược một số gen của PRV
  - gI( trước gây gọi là gE), không bắt buộc cho sự nhiễm của PRV, nhưng nó đặc trưng cho tính độc của PRV. 3 loại vaccine nhược độc Bucharest, Bartha, NIA-4 thiếu hay mất đoạn BamHI-12 và BamHI7 không thể tổng hợp được gI. gE được nghiên cứu nhiều nhất được biết là biểu hiện ở tất cả các chủng thực địa đã được phân tích ở Châu Âu và Mỹ. Theo đó, các vaccine không có gE được sử dụng phổ biến nhất trong các loại vaccine ADV khác nhau. Cả

cộng đồng Mỹ và Châu Âu, các vaccine mất gE là loại vaccine duy nhất của các vaccine đánh dấu được chấp nhận một cách chính thức cho chương trình tiêu diệt tận gốc. Duy nhất ngoại trừ ở Nhật (nơi có nhiều hơn một loại vaccine làm khuyết được sử dụng ở nhiều quận khác nhau), cơ sở cho thế giới có vẻ như cũng ủng hộ sự sử dụng độc quyền của các vaccine khuyết gE.

Việc sử dụng các vaccine tái tổ hợp trực tiếp, các chủng ADV đột biến khuyết nhược độ đưa làm các nhà nghiên cứu gợi lên sự tái tổ hợp di truyền có thể xảy ra giữa các chủng khuyết bổ sung qua lại lẫn nhau để duy trì kiểu hình hoang dại của virus. Nhưng điều đó vẫn chưa xảy ra, người ta thừa nhận là các vaccine đột biến khuyết tái tổ hợp với các chủng thuộc địa có thể khởi đầu nên các chủng có kiểu hình gây độc nhưng dù sao mang một gen chỉ thị khuyết có thể giúp phát hiện được loại huyết thanh bị mất. Mỗi quan tâm đầu tiên được đặt ra là việc sử dụng phổ biến chỉ một loại đột biến tái tổ hợp trong toàn bộ một khu vực. Mặc dù sự tranh cãi thứ 2 là lý thuyết về khả năng tồn tại độc lập, tất cả các lý lẽ chống lại khả năng có thể xảy ra của sự kiện này và chỉ ra rằng điều này được xem như không đáng kể. Các chủng gE âm tính được sử dụng rất nhiều trong hơn 20 năm ở Mỹ và Châu Âu. Mặc dù vậy, không có chủng thực địa nào khuyết gE được tìm thấy trong khoảng thời gian này. Bên cạnh việc chứng minh sự khác biệt về khả năng phát sinh gE âm tính của các chủng gây độc, việc quan sát này còn khẳng định là gE, có thể bỏ qua khả năng tái sinh của các chủng vaccine, đây là bản chất thực sự của việc truyền phát của các chủng PRV trong cơ thể ngoài tự nhiên.

- TK trong môi trường nuôi cấy mô tế bào động vật bình thường không cần thiết cho sự tái sinh của virus nhưng rất quan trọng trong việc gây nên bệnh lý của thú. TK xúc tác phosphoryl hóa deoxythymidine thành deoxythymidine mono phosphate (dTMP), sau đó chuyển thành dạng dTTP, có vai trò chủ yếu trong hình thành nên khối DNA, ảnh hưởng gián tiếp tới sự tổng hợp các DNA khác như dCTP, dGTP, dATP. Virus alpha sẽ không tái sinh được chính nó nếu như không có các khối DNA này. Hầu hết trong mô của tế bào vật chủ chứa một lượng TK đủ cung cấp cho sự tổng hợp dTMP cần thiết cho sự tái sinh của virus. Như vậy, đột biến gen TK làm virus chỉ nhân lên trong tế bào chủ, nơi mà chứa đủ một lượng TK đủ cho sự tái sinh của virus mà không thể tồn tại ngoài môi trường khi không có TK.

- Gen HSV-1 gB là gen glycoprotein duy nhất được biết đóng vai trò chính trong sự sao chép và xâm nhập của virus. Đó là, các đột biến nhạy cảm với nhiệt độ tồn tại với sự biến đổi trong gen HSV-1 gB

- Glycoprotein xuất hiện ở bề mặt với trọng lượng phân tử 92,000 -98,000 daltons được mã hóa bởi gen g92.

Chủng Bartha K sản xuất ít glycoprotein g92, khoảng 10% glycoprotein g92 so với mức bình thường. Tuy nhiên, lượng glycoprotein này đủ để sinh ra kháng thể đối với glycoprotein g92 trong thú được tiêm loại vaccine này. Kết quả là, kháng thể có được từ thú tiêm vaccine chủng Bartha K vẫn phát hiện kháng nguyên như là kháng huyết thanh thu được từ heo được chích vaccine với các chủng PRV khác. Do đó, không thể phân biệt được thú được tiêm vaccine với các chủng Bartha K từ các thú bị nhiễm các chủng vaccine PRV khác hay bất cứ chủng PRV

thực địa nào. Hơn nữa, sự phục hồi của Bartha K trở lại sinh mức glycoprotein g92 cao thì không thể ngăn chặn được.

- Mục tiêu của các vaccine hiện tại :

- Cung cấp vaccine giả đại hiệu quả trong việc kiểm soát sự lan rộng của bệnh giả đại.
- Cung cấp vaccine giả đại mà trong cơ thể thú được chích vaccine hạn chế tối đa khả năng trở thành vật mang của chủng virus vaccine lẫn thực địa.
- Vaccine virus có thể phân biệt được với các chủng thực địa và các chủng virus vaccine khác.
- Thêm nữa, trong cơ thể thú được chích vaccine, có thể phân biệt được thú bị nhiễm chủng thực địa hay nhiễm từ các chủng vaccine khác.
- Các vaccine giả đại mất khả năng sinh chuỗi polypeptide kháng nguyên g92, đây là kết quả của việc gây đột biến làm mất và/hay chèn trong gen g92.
- Vaccine còn bị làm mất hoạt tính của enzyme thymidine kinase, kết quả từ việc gây đột biến trình tự mã hóa gen TK và làm mất khả năng sinh kháng nguyên polypeptide g92 như đã nói ở trên.
- Trong cơ thể thú được tiêm vaccine không phát triển kháng thể chống lại glycoprotein g92.
- Các chủng này không thể phục hồi TK dương tính, dễ dàng phân biệt với virus giả đại có TK dương tính, và cũng không thể phục hồi lại g92 dương tính.
- Chưa hết, các chủng giả đại có thể sao chép hiệu quả trong vùng nhiệt độ khoảng 30-40<sup>0</sup>C, đó là các virus kháng nhiệt.
- Thêm vào đó, các phát minh hiện tại còn cung cấp phương pháp sản xuất các chủng vaccine giả đại chứa các chủng đột biến cắt và/ hay chèn trong gen g92.
- Trong đó, PRV cũng mất đi khả năng sinh hoạt tính TK do việc đột biến gen TK.
- Thêm nữa, PRV không sinh glycoprotein gI, kết quả của việc đột biến gen gI.
- Sản xuất PRV kháng nhiệt. Việc kết hợp với các chủng chịu nhiệt cao rất thuận tiện cho những vùng thiếu các phương tiện để bảo quản lạnh vaccine. Các virus kháng nhiệt là các virus không nhạy nhiệt. Nên, các virus kháng nhiệt có khả năng sao chép, ở một nhiệt độ không cho phép, như khoảng 38,5 độ C tới 40 độ C, thích hợp là khoảng 39,1 độ C. Khi các chủng virus cha mẹ hay thực địa được phân lập sao chép ở nhiệt độ cho phép. Trái lại, các chủng PRV nhạy nhiệt chứa đột biến trong gen bản chất của sự sao mã, nhờ đó, chức năng sản phẩm của gen được sản sinh ở một nhiệt độ cho phép, như khoảng 32 độ C tới 37,5 độ C, tối thích 34,5 độ C, nhưng không phải ở các nhiệt độ không cho phép. Do đó, trong các virus nhạy nhiệt, việc sản xuất các phần của virus nhạy nhiệt thấp hơn từ 4 tới 7 lần ở nhiệt độ không cho phép so với việc sản xuất ở nhiệt độ cho phép. Với các chủng virus kháng nhiệt, việc sản xuất các phần của virus gây nhiễm là như nhau ở các nhiệt độ cho phép và không cho phép.

Các virus kháng nhiệt chịu đựng được giỏi hơn so với các chủng virus nhạy nhiệt khi biến đổi các vaccine virus nhược độc là kết quả từ thay đổi gen gây bệnh hơn là kỹ thuật tác động và do sự sao chép của virus, và các chủng virus kháng nhiệt có thể được quản lý an toàn

trong cơ, trong mũi hay trong tĩnh mạch và có thể sao chép sâu trong các mô của cơ thể để kích thích đáp ứng miễn dịch hoàn toàn và kéo dài.

Trái lại, các chủng virus nhạy với nhiệt chỉ sao chép ở các vị trí có nhiệt độ thấp trong cơ thể, như trên các ống hô hấp, và như vậy, chỉ có thể quản lý duy nhất trong mũi.

Các đột biến g92 PRV hiện tại có thể biến đổi các chủng PRV vaccine sống chống lại bệnh giả dại khi chứa các đột biến PRV nhược độc. Như thêm vào các đột biến bao gồm các đột biến TK hay/và GI.

- Quá trình sản xuất ra PRV mất khả năng sinh kháng nguyên g92, kết quả của việc gây đột biến chèn trong gen g92 bao gồm:
  - (1) Xây dựng plasmid lai gồm 1 vector tạo dòng và 1 đoạn DNA của PRV chứa căn bản tất cả các phần của gen g92 PRV và trình tự bên sườn.
  - (2) Chèn một đoạn DNA mã hóa cho chức năng của gen được chọn vào trong gen g92,
  - (3) Đồng biến nạp vào các tế bào vật chủ PRV phân tử plasmid lai của bước 2 với các DNA gây nhiễm từ các virus giả dại không có khả năng sinh sản phẩm từ các gen chọn lọc, và chọn lọc các PRV tái tổ hợp sinh các sản phẩm của gen chọn lọc như là các chủng PRV đột biến mất khả năng sinh kháng nguyên g92, kết quả của đột biến chèn trong gen g92.
- Quá trình sản xuất PRV mất khả năng sinh kháng nguyên g92 do gây đột biến mất đoạn, bao gồm:
  - (1) Thiết lập 1 plasmid lai bao gồm: 1 vector dòng hóa và 1 đoạn DNA của PRV chứa cơ bản hầu như toàn bộ gen g92 và vùng bên sườn.
  - (2) Chèn đoạn DNA mã hóa cho gen chức năng chọn lọc vào gen PRV g92 từ kết quả phân tử lai từ bước 1 để các gen chọn lọc ở bên sườn của trình tự PRV gen g92.
  - (3) Đồng biến nạp vào tế bào vật chủ PRV phân tử plasmid lai từ bước 2 với các DNA nhiễm từ virus giả dại mất khả năng sinh các sản phẩm của gen chọn lọc, và chọn lọc các PRV có khả năng sinh các sản phẩm của gen chọn lọc.
  - (4) Xóa trình tự DNA lai từ plasmid lai ở bước 1 về thực chất tất cả các gen g92 hiện diện, trong khi duy trì các trình tự DNA nằm kề trình tự bị xóa.
  - (5) Đồng biến nạp vào tế bào vật chủ của PRV plasmid lai ở bước 4 với các DNA nhiễm từ PRV chọn lọc ở bước 3, và chọn lọc các chủng PRV không sinh các sản phẩm của gen chọn lọc như là các PRV đột biến mất khả năng sinh kháng nguyên g92 từ việc gây đột biến mất đoạn trong gen g92.

Một loại vaccine khác, một đoạn DNA ngoại lai được chèn vào trình tự g92 bị xóa ở bước 4 để không sinh kháng nguyên g92 và để trình tự PRV DNA kế bên gen g92 bị xóa được giữ lại. Kết quả là, đột biến PRV của bước 5 không sinh kháng nguyên g92 là kết quả của việc gây đột biến xóa và chèn.

Một loại khác, bước 4 được thay bằng bước 4'. Chèn một trình tự ngoại lai vào plasmid của bước 1 để không sinh kháng nguyên g92 và để trình tự DNA kế bên đoạn được chèn được

giữ lại. Kết quả là, đột biến PRV bước 5 không sinh kháng nguyên g92 là kết quả của việc gây đột biến chèn trong gen g92.

Một phát minh được ưu đãi hơn, các DNA nhiễm ở bước 3 được lấy từ các PRV đột biến mất khả năng sinh thymidine kinase như là kết quả đột biến của bước 5 là cả đột biến TK và g92.

Một loại khác, DNA nhiễm của bước 3 được lấy từ các virus giả đại kháng nhiệt như là kết quả của việc gây đột biến bước 5 và cả kháng nhiệt và g92.

Một loại nữa, kết quả của bước 5, được cho nhân giống ở một nhiệt độ bất buộc cho các chủng nhạy nhiệt để chọn dòng sinh PRV kháng nhiệt không có khả năng sinh kháng nguyên g92.

- Sản xuất PRV mất chức năng TK bằng đột biến chèn gồm các bước sau:

- (1) Tạo plasmid lai gồm vector tạo dòng và đoạn DNA của PRV cơ bản chứa các toàn bộ gen TK và các trình tự trống.
- (2) Chèn vào đó một trình tự DNA ngoại lai vào vùng mã hóa gen TK của plasmid lai từ bước 1.
- (3) Đồng biến nạp vào trong tế bào vật chủ của PRV với các DNA nhiễm thu được từ các virus giả đại có TK +
- (4) Chọn lọc, trong các tế bào vật chủ có TK -, chọn các PRV có TK- từ các virus được sản xuất ở bước 3 các đột biến mất khả năng sinh TK do hậu quả của đột biến chèn.

Ở bước 2, người ta có thể chèn một đoạn gen khởi động vào gen TK của phân tử plasmid lai từ bước 1, và bước 2, người ta chèn thêm một gen của ngoại lai liền kề với gen khởi động của PRV nói trên để gen ngoại lai được biểu hiện ở bước 4. Như vậy PRV đột biến vừa mất khả năng sinh TK vừa biểu hiện gen ngoại lai. (gen ngoại lai có thể là lacZ của E.coli)

Các tế bào chủ được dùng để tăng số lượng các plasmid lai không gây ảnh hưởng đến vaccine. Các tế bào vật chủ bao gồm E.coli K12RR1. Là vật chủ được ưa chuộng vì chúng có kiểu hình F-hay R hay M.

Tương tự, hệ thống các vector biến đổi có thể được thao tác như các vector plasmid có thể phát triển trong cơ thể *E.coli*, nấm men *Saccharomyces cerevisiae*, hay cả hai, hay các vector plasmid phát triển trong *B.subtilis*, hay thậm chí các vector như virus papilloma của bò (ATCC No.37112) phát triển trong các tế bào động vật như chuột (ATCC No.RL1616).

Các gen chọn lọc là các trình tự DNA mã hóa cho các sản phẩm của gen mà sự có mặt hay vắng mặt của nó có thể được xác định một cách dễ dàng. Các gen chọn lọc được thao tác như ở bước 2 không gây hại tới cả sản phẩm hiện tại. Ví dụ về các gen chọn lọc như TK gen, gen nhảy Tn5 (neoR) và gen lacZ của E.coli.

Gen TK chuyên biệt được thao tác như là gen chọn lọc không gây ảnh hưởng đến các sản phẩm hiện tại. Các gen TK có nguồn gốc từ bất kỳ các chủng PRV có TK+ nào hoặc từ các chủng virus khác chứa gen TK chuyên biệt như HSV-1, HSV-2 và marmoset herpesvirus. Gen TK cũng có thể có nguồn gốc từ tế bào của gà hay người. Gen TK của chủng Bucharest, như

PRV(BUK-5), là gen được ưa thích trong việc thao tác tạo các sản phẩm hiện nay như là gen chọn lọc khi các DNA PRV TK- nhiễm được sử dụng có nguồn gốc từ các chủng Bucharest của PRV vì nó biểu hiện với hiệu quả cao. Các virus khác loại và các gen TK+ tế bào có thể biểu hiện ít hiệu quả trong các PRV tái tổ hợp lai DNA.

Chọn lọc các trình tự chuyên biệt có nghĩa là chọn lọc sự có mặt hay không chức năng của TK, như TK- hay TK+ không gây hại.

Ví dụ, sự chọn lọc virus TK+ bao gồm: môi trường phát triển bổ sung  $10^{-4}$  M hypoxanthine,  $10^{-6}$  M glycine và môi trường phát triển bổ sung  $6 \times 10^{-7}$  M methotrexate;  $1.6 \times 10^{-5}$  M thymidine,  $5 \times 10^{-5}$  M adenosine,  $5 \times 10^{-5}$  M thymidine,  $5 \times 10^{-5}$  M guanosine, và  $10^{-4}$  M glycine.

Ví dụ chọn lọc virus TK- gồm: môi trường phát triển chứa  $25 \mu\text{g/ml}$  5-bromodeoxyuridine, môi trường phát triển còn chứa  $25 \mu\text{g/ml}$  5-iododeoxyuridine hay  $100 \mu\text{g/ml}$  arabinosylthymine. Có nhiều biến đổi của các Nu tương tự cho các virus TK-. Ví dụ, virus nhiễm vào tế bào có thể phát triển được trong môi trường khoảng 2.5 tới  $25 \mu\text{g/ml}$  BrdUrd. Vì BrdUrd kết hợp chặt chẽ với virus DNA TK+ và BrdUrd chứa DNA có độ nhạy ánh sáng cao, các virus thu được có thể bị xử lý với  $0.5 \mu\text{M}$  hoechst 33258 để nâng cao tính nhạy sáng của DNA. Các DNA hiện ra là các đoạn màu trắng dưới đèn huỳnh quang. Virus TK+ nhiễm bị phá hủy một cách chọn lọc, trong khi virus TK- kháng với việc xử lý này.

Các tế bào vật chủ TK+ không gây ảnh hưởng khi chúng cho phép PRV phát triển. Ví dụ như tế bào vật chủ TK+ gồm RAB-9( các tế bào da thỏ) có ATCC No.1414; các tế bào thận thỏ sơ cấp, các tế bào thận thỏ thứ cấp, các tế bào khí, như CV-1 và OMK; các tế bào của người, như HeLa(S3) và các tế bào phôi thận người, các tế bào nguyên sơ phôi gà. RAB-9 là tế bào vật chủ được ưa chuộng để thao tác với TK+. Tuy nhiên, cần chú ý, việc sản xuất virus dùng cho vaccine thú trong các chủng thực địa, a United States Department of Agriculture cấp chứng nhận cho các dòng tế bào của PRV, chuẩn bị các mẫu loài như của thú được tiêm vaccine, và không nhiễm các yếu tố khác. Ví dụ dòng tế bào thích hợp cho lợn phải được chứng nhận là các tế bào lưỡng bội tinh hoàn lợn không có gen ung thư không có mycoplasma và các loại virus khác.





Hình 6 . Porcilis ad Begonia, chủng NIA-3, (TK-, gE-)

#### 2.4. Vaccine DNA

Nghiên cứu được thử nghiệm để tìm hiểu liệu sự đồng sinh DNA (co-delivery) mã hóa cho cytokines của heo có tăng cường tính sinh miễn dịch trong heo để chống lại virus Aujeszky hay không. Để đánh giá hiệu quả của cytokines, người ta thiết lập một vector biểu hiện từ eukaryote cho heo GM-CSF, IL-2 và IFN-gamma. cDNA cho mỗi cytokinines được chèn vào trong plasmid pcDNA3 dưới sự điều khiển của promoter CMV và cytokine được biểu hiện được xác định sau khi biến nạp DNA vào các dòng tế bào của thú hữu nhũ khác nhau bằng các xét nghiệm sinh học (GM-CSF và IL2) và ELISA ((IFN-gamma). Những con heo sẽ được tiêm vaccine bắp với duy nhất plasmid DNA mã hóa cho gB và gD của PRV với nhiều dạng nối kết của các plasmid cytokine. Huyết thanh heo sau đó đem đi kiểm tra kháng thể bằng isotype ELISA kháng PRV chuyên biệt. Sau đó, những con heo này bị thử nghiệm với chủng PRV NIA-3 độc tính cao sau 21 ngày chích vaccine. Tỷ lệ sống sót và phát triển của heo được theo dõi trong 7 ngày sau đó. Việc đồng thực hiện của plasmid GM-CSF tăng sự đáp ứng miễn dịch do bị kích thích bởi gB và gD trong vaccine DNA PRV. Sự hồi đáp miễn dịch được mô tả bằng sự xuất hiện sớm của kháng nguyên IgG2 chống lại PRV, một cải tiến đáng kể đáp ứng miễn dịch chống lại IgG1 và IgG2, giảm một cách đáng kể và rút ngắn sự tiết virus trong đường mũi và tăng tính bảo vệ chống lại virus. Trái lại, việc đồng thực hiện của IL2 hay IFN-gamma của heo không có hiệu quả tá dược. Như vậy, kết quả này chứng minh ứng dụng đầu tiên của gen GM-CSF trên heo trong việc hình thành vaccine DNA có thể ứng dụng tá dược miễn dịch và hiệu quả bảo vệ với vaccine đơn duy nhất trong vật chủ chống lại bệnh giả dại.

#### 2.5. Vaccine tiểu phần

Các chất chiết được tạo nên từ tế bào heo bị nhiễm virus PRV g92 đột biến, hay bị giết chết sẽ sinh ra các tiểu phần, những chất chiết này chứa tất cả các glycoprotein và các phi

glycoprotein được mã hóa bởi các chủng PRV ngoại trừ g92. Sau bước tinh sạch các glycoprotein, chúng được sử dụng như là các vaccine tiểu phần.

- Ưu điểm:

Do vaccine tiểu phần chỉ chứa một hoặc một vài protein chuyên biệt tinh sạch nên nó có nhiều ưu điểm như sau:

- Độ an toàn cao.
- Có thể kết hợp nhiều loại protein tương ứng với các yếu tố kháng nguyên khác nhau để phòng cùng lúc nhiều bệnh, giảm chi phí phân phối, tăng hiệu quả kinh tế.
- Tính hướng tới tế bào đích cao
- Cho phép phân biệt thú tiêm vaccine và thú nhiễm tự nhiên.

## 2.6. Vaccine đa giá

Là loại vaccine có chứa cùng lúc nhiều loại kháng nguyên khác nhau.

Vector tổ hợp mang gen của tác nhân gây miễn dịch phòng cùng lúc bệnh giả dại và bệnh dịch tả heo. Chủng virus phòng bệnh Aujeszky 783 được dùng như là hệ thống biểu hiện glycoprotein E2 của virus dịch tả heo. Đây thực chất là một vector ADV của chủng ADV nhược độc mang một số gen quy định một số loại glycoprotein cần thiết cho thú sinh miễn dịch chống lại virus giả dại, âm tính với gE có chứa gen quy định glycoprotein E1,2 của virus dịch tả heo. Đây là một triển vọng cho những quốc gia nơi mà sự chủng ngừa chống lại 2 bệnh này xảy ra. Như vậy, khi thú được tiêm loại vaccine DNA này, hệ thống miễn dịch sẽ đáp ứng cùng lúc với kháng nguyên của virus Aujeszky và virus dịch tả heo cổ điển, tạo nên miễn dịch chống lại 2 bệnh này.



Hình 7. MaxiVac-FLU, vaccine phòng bệnh cúm và bệnh giả dại trên heo

Một lượng dược chất hiệu quả của các virus được miêu tả bên trên có thể được cho kèm với các dược chất làm vật mang khác được chấp nhận như là các vaccine chống lại bệnh giả dại trong thú, như heo, trâu bò, cừu và dê.

Ví dụ về chất mang được lý được chấp nhận hay chất pha loãng hữu hiệu trong các sản phẩm hiện nay bao gồm bất kỳ môi trường đệm sinh lý nào, pH từ 7 tới 7,4, chứa 2,5 tới 15 huyết thanh mà không chứa kháng thể chống lại PRV, có nghĩa là có huyết thanh PRV âm tính. Huyết thanh không có gammaglobulin được ưa chuộng hơn là huyết thanh có chứa gammaglobulin. Ví dụ huyết thanh được dùng hiện nay bao gồm huyết thanh heo, huyết thanh bò, huyết thanh nhau thai bò, huyết thanh ngựa và huyết thanh cừu. Huyết thanh heo không chứa gammaglobulin từ các heo âm tính với huyết thanh PRV được ưa chuộng hơn trong chủng ngừa các vaccine cho heo và huyết thanh thai bò hay huyết thanh bò không có gammaglobulin cũng được ưa chuộng trong chủng ngừa cho bò.

Các protein huyết thanh như albumin heo, hay albumin huyết thanh bò trong khoảng từ 0,5 tới 3 % có thể được dùng như là các tiểu phần huyết thanh. Tuy nhiên, người ta mong muốn tránh được các protein ngoại lai trong thể mang hay dung dịch pha loãng vì nó có thể gây nên các phản ứng dị ứng trong cơ thể thú được tiêm vaccine. Trước tiên để đông khô, virus có thể được pha loãng bằng cách dùng bất kỳ dịch hòa tan quy định nào ổn định chứa đệm saline phosphate, glutamate, casitone hay lactose hydrolyzate, sucrose, sorbose, lactose, gelatin và các chất bảo quản như gentamicin, fungazone và amphotericinB.

Người ta ưa dùng các virus được trữ ở mức chuẩn thấp nhất 10<sup>5,5</sup> tới 10<sup>6,5</sup> pfu/ml ở trạng thái đông khô 4 độ C tới -20 độ C. Các virus đông khô có thể hồi phục để sử dụng bằng nước cất vô trùng chứa 1,0 % (V/V) glycerol.

Liều dùng được cấp rất khác nhau phụ thuộc vào tuổi, trọng lượng, và loài thú được tiêm và cách tiêm. Nếu là các virus vaccine sống bị biến đổi, liều dùng có thể là, ví dụ như khoảng 10<sup>4,5</sup> tới 10<sup>6,5</sup> pfu/ml, tối ưu khoảng 10<sup>5</sup> tới 10<sup>6</sup> pfu/ còn đối với vaccin bị giết, liều cấp có thể là nhiều hơn 10 lần so với các virus vaccine sống bị biến đổi.

Các vaccine hiện nay được tiêm vào trong cơ và dưới da. Tiêm trong cơ được ưa chuộng hơn. Các vaccine sống bị biến đổi có thể được cấp bằng đường mũi.

### **III. Kết luận**

Lịch sử của vaccine đã có từ lâu đời. Các vaccine truyền thống vẫn còn nhiều nhược điểm như đáp ứng miễn dịch không cao, số lần tiêm nhiều (vaccine vô hoạt), có thể phục hồi độc lực, chịu nhiệt kém (vaccine nhược độc). Mặt khác, kháng thể được hình thành do tiêm vaccine dạng cổ điển không thể phân biệt được so với kháng thể được hình thành do nhiễm virus tự nhiên nên không đánh giá được toàn diện hiệu quả của chương trình tiêm chủng.

Xã hội ngày càng phát triển kéo theo rất nhiều vấn đề về bệnh tật, sự lan rộng và độc tính của chúng ngày càng khó kiểm soát hơn. Do đó, cần phải có những biện pháp mới phù hợp. Những thành tựu của công nghệ gen ngày nay, với trang thiết bị ngày càng hiện đại và kiến thức về di truyền phân tử cho phép phát triển các loại vaccine kiểu mới nhằm khắc phục các nhược điểm trên.

Tuy nhiên, sử dụng công nghệ gen cũng để lại cho người ta nhiều lo lắng về sự lan truyền mầm bệnh hay biến đổi của các chủng gây bệnh cho nhau. Do đó, cần có các biện pháp bảo vệ nghiêm ngặt, để các chủng không lai với nhau, hay không thể lan truyền ra ngoài, và phải luôn sẵn sàng đối phó với các tình huống ngặt nghèo nhất.

#### IV. Tài liệu tham khảo

1. Nguyễn Ngọc Hải, Công nghệ sinh học trong thú y, NXB Nông nghiệp, 2007. Vaccine.149-170.
2. Janie A.Badylak, Gail Scherba, và Donald P.Gustafson. Department of Veterinary Microbiology, Pathology, và Public Health, School of Veterinary Medicine, Purdue University, West Lafayette, Indiana 47907.
3. Kit et al.United States Patent. Modified live pseudorabies viruses.
4. Kit et al.United States Patent. Thymidine Kinase negative insertion mutants of pseudorabies viruses and methods for the production of same.
5. Kit et al.United States Patent. Vaccine for pseudorabies disease and methods for use of same.
6. Berns et al. United States Patent. Deletion Mutant of herpes virus and vaccine containing said virus.
7. Peeters et al. United State Patent. Vaccine against Aujeszky's disease and other animal diseases containing pseudorabies virus mutant.
8. Gauri et al. United States Patent. Process for the production of new mutants of herpes simplex virus type 1 and 2.
9. Fernando A. Osorio, MV, MS, Ph.D. Pseudorabies / Aujeszky's disease Aujeszky's: vaccine and diagnostic support to the eradication efforts. Veterinary Diagnostic Center, Department of Veterinary & Biomedical Sciences University of Nebraska- Lincoln, NE 68583-0905, U.S.A.
10. Somasundaram C, Takamastu H, Andréoni C, Audonnet JC, Fischer L, Lefèvre F, Charley B.Enhanced protective response and immuno-adjuvant effects of porcine GM-CSF on DNA vaccination of pigs against Aujeszky's disease virus. Virologie et Immunologie moléculaires, INRA, Jouy en Josas, France.