

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
ĐẠI HỌC NÔNG LÂM TP. HỒ CHÍ MINH
BỘ MÔN CÔNG NGHỆ SINH HỌC**



BÀI TIỂU LUẬN

VACCINE PHÒNG BỆNH VIÊM NÃO NHẬT BẢN

Giáo viên hướng dẫn: Nguyễn Ngọc Hải

Sinh viên thực hiện: Nguyễn Thị Khánh Trang

MSSV: 061261

I. ĐẶT VẤN ĐỀ.

Viêm não Nhật Bản (Japanese encephalitis:JE) là bệnh do nhiễm Flavivirus của một vật mang là muỗi và cũng chính là nguyên nhân gây bệnh viêm não trẻ em ở Châu Á. Hàng năm, hàng ngàn trường hợp bệnh và chết được báo cáo. Tuy nhiên, ở nhiều khu vực bệnh không được giám sát theo hệ thống và không có các báo cáo của văn phòng đánh giá chắc chắn số lượng thật sự của các trường hợp bệnh.

JE lan truyền khắp châu Á, một vùng với hơn 3 tỉ người chiếm 60% dân số thế giới. Do sự lây nhiễm của JE có liên quan tới vùng nên có thể lan rộng khắp thế giới. Gánh nặng của bệnh hiện nay phần lớn là ở các nước đang phát triển ở châu Á.

Không kém phần quan trọng virus JE cũng gây thiệt hại đáng kể cho ngành chăn nuôi nhất là chăn nuôi heo. Virus JE xâm nhiễm ở heo, ngựa và các loại gia cầm và chính những động vật này là bộ máy khuếch đại và là nguồn lây nhiễm. Do đó, không chỉ kiểm soát JE ở heo để cho chăn nuôi heo công nghiệp mà còn có ý nghĩa lớn trong bảo vệ sức khỏe cho con người. Hiện nay, việc tiêm chủng vẫn là công tác phòng nhiễm bệnh và kiểm soát bệnh hiệu quả nhất, các vaccine hiện nay cả vaccine bất hoạt và vaccine nhược độc đều có một số hạn chế.

Chính vì vậy JE trở thành vấn đề đáng lo ngại cho tổ chức y tế. Việc kiểm soát và ngăn ngừa nó bằng vaccine trở nên cấp thiết ở cả người và thú. Do đó, việc nghiên cứu và sản xuất vaccine JE là tất yếu để chủ động kiểm soát và ngăn ngừa bệnh hiệu quả nhất.

II. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

II.1. Bệnh viêm não Nhật Bản (Japanese encephalitis: JE)

II.1.1. Lịch sử bệnh

Sự bùng phát bệnh viêm não vào mùa hè thu được ghi chép lại ở Nhật vào đầu 1871. Dịch lớn nhất vào 1924 lên tới hơn 6000 ca nhiễm, 60% trong số đó bị tử vong. Năm 1934 Hayasi qua thực nghiệm đã chuyển bệnh vào khi. Chẳng bao lâu sau, sự phân lập của JE và các virus viêm não St Louis có mối quan hệ với nhau (St.Louis encephalitis:SLE) và được xác nhận huyết thanh học từ mô bệnh của các trường hợp từ 1934 đến 1935 ở Beijing. Đầu tiên virus này được gọi là viêm não Nhật Bản B (B bị thay đổi, kể từ khi nhiều người bị thiệt mạng không dùng đến) để phân biệt bệnh từ viêm não type A của Von Economo, có sự khác nhau giữa các đặc tính dịch tễ học và bệnh lý. Phương thức của muỗi mang truyền JE được giải thích với sự phân lập virus JE từ muỗi *Culex tritaeniorhunchus* vào 1938. Sau đó những nghiên cứu đã thiết lập được vai trò của các loài chim nước và heo trong chu kì gây bệnh của virus. Các virus được phân lập từ các bệnh nhân ở Nhật vào 1935 và ở Beijing vào 1949 với các dòng đầu tiên là Nakayama, Beijing và P3. Hầu hết các dòng hoang dai đều được sử dụng trong sản xuất vaccine.

Hình: vòng xoắn bệnh lý của virus JE

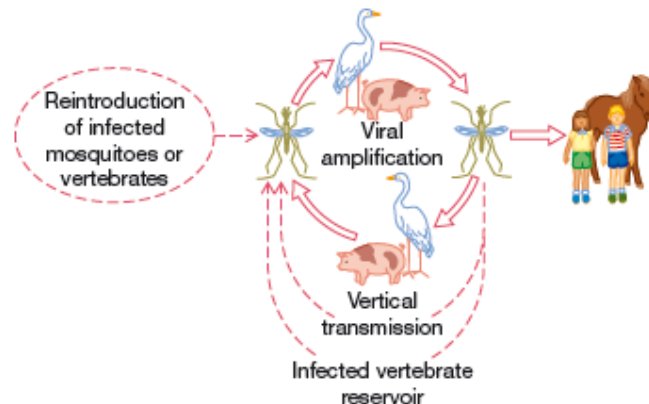
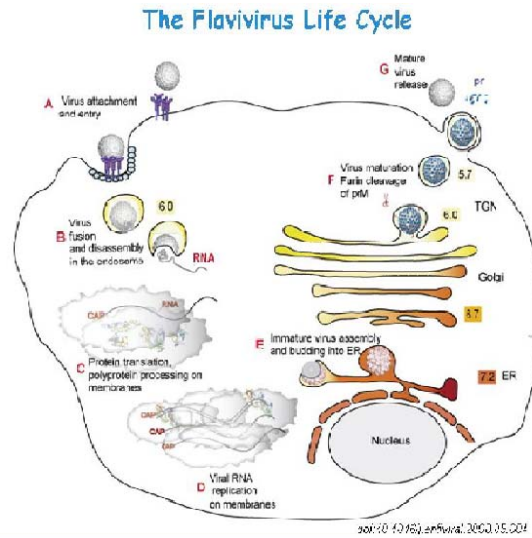


Figure 17-16 Transmission cycle of Japanese encephalitis (JE) virus. The *open arrows* indicate known portions of the cycle, and the *dashed arrows* indicate speculative portions. Infections and illnesses in humans and horses are incidental to the transmission cycle. The overwintering mechanism for JE virus is undefined, but experimental field observations suggest a role for vertical transmission in vector mosquitoes.

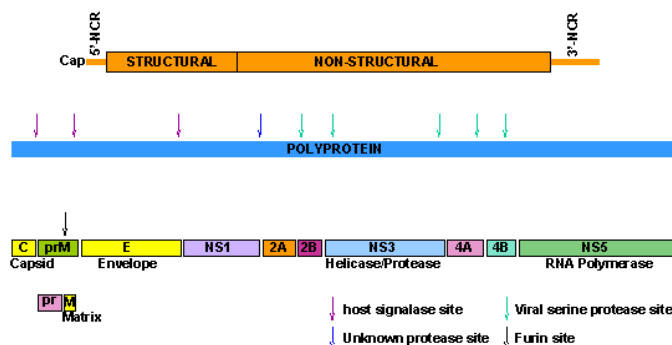
II.1.2. Virus JE

Virus JE là một trong 70 virus thuộc giống *flavivirus*, họ *flaviviridae*. Vaccine sốt vàng da, có thể điều trị toàn bộ siêu virus *flavivius*. Về mặt hình thái học, *flavivirus* là mạch đơn RNA có hình cầu, đường kính khoảng 40-50 nm, với màng lipid bao quanh lõi nhân nucleocapsid có cùng đường kính 30 nm. Nhô ra khỏi bề



mặt của màng gồm vỏ bao glycosylate E và màng protein M, một dạng trưởng thành của protein trước màng prM. RNA của virus JE có chiều dài 10,976 base, mã hóa cho một khung đọc mở liên tục (open reading frame: ORF), nằm ở bên sườn trước 95 và 585 base các vùng không phiên mã ở đầu 5' và 3' theo thứ tự. Thứ tự của các protein mã hóa trong ORF của virus JE, như với Flavivirus là 5'-C-prM-E- NS1- NS2A-NS2B-NS3-NS4A-NS4B-NS5-3'. Các Flavivirus sao chép ở một loại của các tế bào nuôi cấy có nguồn gốc từ động vật có sương sống và động vật chân đốt.

Japanese Encephalitis Virus Genome and Proteins



Sự tiếp nhận virus xảy ra nhờ sự thực bào qua thụ thể trung gian, với thông tin của các khoang áo ngoài hoặc bởi sự hòa hợp trực tiếp vào màng tế bào của virus và màng nhân, RNA bộ gen được phóng thích vào tế bào chất. Polyprotein được dịch mã là tiền trình sau đó và lắp ráp lại thành phức hợp bản sao chuyên biệt của virus. Điểm cuối của carboxyl hydrophobic của protein E qui định một neo nối với màng, trong khi mở rộng phạm vi bên ngoài được ổn định nhờ cầu nối disulfua xoắn tạo cấu trúc bậc ba và các vùng kháng thể(I,II và III) là có thể biến đổi có liên quan đến các yếu tố quyết định tương ứng với các nhóm, phân nhóm và các epitope chuyên biệt virus và các chức năng sinh học. Nối các hạt virus JE với vài tế bào của hệ thần kinh trung ương (CNS: central nervous system) có thể liên quan tới sự hiện diện của các thụ thể truyền tín hiệu thần kinh chuyên biệt. Virus gây bệnh sốt xuất huyết dựa trên heparin sulfate tế bào của dòng glycosaminoglycan (GAG) thông qua các motif gắn GAG với protein trong phần cuối carboxyl và bên ngoài các vùng có thể vào được của vùng I và III . Cơ chế tương tự có thể áp dụng với JE và các *flavivirus* khác .Virus chuyên biệt và các epitope trung hòa phản ứng chéo được lập bản đồ các vùng chuyên biệt của glycoprotein E của *flavivirus*. Các nghiên cứu sự trung hòa chéo hoàn chỉnh chỉ ra mối quan hệ kháng nguyên kháng thể mật thiết của Virus JE với virus SLC, West Nile, Koutangu và Usutu và một số flavivirus được tìm thấy ở Australia(e.g., Murray Valley encephalitis và Kunjin, Alfuy, Stratford và Kokobera viruses) và sự phân lớp của chúng tạo thành một phức hợp kháng thể, kháng nguyên duy nhất. Không có các tương tác chéo của huyết thanh với virus viêm gan C được khảo sát. Mối quan hệ hóa sinh, kháng nguyên và di truyền của virus JE được phân lập từ các vùng địa lý khác nhau và ở các thời điểm khác nhau được so sánh bằng cách sử dụng các kháng thể đơn dòng và đa dòng, điện di hai chiều trên gel của RNA hạt virus được phân hủy nhờ ribonuclease và trình tự bộ gen. Sự phát sinh loài của virus JE dựa trên trình tự nucleotide 240 base của prM của virus, sự phân chia JE phân lập thành 5 genotype phân biệt, với sự phân kì tối đa của 21% giữa các sự phân tách. Kiểu gen lớn nhất gồm có các virus từ Nhật , Okinawa, Trung Quốc, Đài Loan, Vietnam, Philippines, Sri Lanka, Ấn Độ và Nepal. Kiểu gen lớn thứ hai được phân lập từ miền bắc Thái Lan, Malaysia, Sarawak, Australia và Indonesia. Ở Indonesia phân lập được năm loại, hai từ Java, hai từ Bali và một từ Flores tương tự

với nhau và phân biệt các phân lập khác của Indonesia. Không phải tất cả các phương pháp đều phân chia virus thành các dòng genotype giống nhau. Một phân tích kháng nguyên sử dụng năm kháng thể đơn dòng chuyên biệt cho virus phân lớp các dòng thành bốn kiểu kháng nguyên, không phù hợp với các genotype trên. Virus JE phân lập từ các vùng giống nhau nhưng từ nhiều năm khác nhau đưa đến mức độ tương đồng cao của nucleotide. 16 dòng ở Việt Nam, 23 dòng ở Okinawa của JE được phân lập giữa 1964 và 1988 và giữa 1968 và 1991 khác nhau bởi chỉ 3.2% và 4% theo thứ tự. Tuy nhiên, các virus có thể được phân biệt theo thứ tự thời gian trước và sau 1968 ở Okinawa và trước và sau 1975 ở Việt Nam. Sai sót trong sao chép RNA và hiện tượng tạo cổ chai (ví dụ sự sống sót của một dòng duy nhất trong suốt điều kiện sinh thái khắc nghiệt) xuất hiện những cơ chế chính để virus JE tiếp tục tiến hóa, mặc dù sự đưa vào virus mới đã được chứng minh bằng tài liệu, chỉ ra tiềm năng cho việc chuyển đổi kiểu genotype. Tuy nhiên khi 92 bộ gen với các trình tự vô hoàn chỉnh trong Genbank đã được phân tích mức độ đa dạng hội nhập kiểu gen thì thấp hơn được khảo sát qua kiểu huyết thanh của virus gây bệnh tủy xám và sốt vàng. Phân tích kiểu gen này đã chứng minh sự tranh cãi rằng tất cả các virus JE đã biết phân lập có một kiểu huyết thanh duy nhất. Thông tin này là quan trọng để xây dựng vaccine JE.

II.2. Vaccine phòng bệnh JE

II.2.1. Vaccine JE cho người

Trên thế giới, có ba loại vaccine JE là đang được sản xuất phổ biến và sử dụng. Tuy nhiên, chỉ có vaccine JE bất hoạt được tạo ra trong não chuột đã được dùng ở các nước phát triển. Vaccine SA 14-14-2 nhược độc, được sản xuất ở Trung Quốc, là có thể dùng được ở Hàn Quốc và được các nước ở phía nam Châu Á lựa chọn. Vaccin JE bất hoạt được phát triển ở tế bào thận chuột sơ cấp (PHK) được sản xuất và chỉ được phân phối ở Trung Quốc. Hơn 1 triệu liều của vaccine PHK bất hoạt và 50 triệu liều vaccine nhược độc được sản xuất và phân phối mỗi năm ở Trung Quốc ngược lại tất cả các nhà sản xuất Nhật sản xuất khoảng 11 triệu liều vaccine được tách từ não chuột cho sử dụng trong nước Nhật. Biken nhà sản xuất hàng đầu của Nhật sản xuất vaccine não chuột bất hoạt, phân phối khoảng 2 triệu liều cho nước

ngoài; tuy nhiên, sự sản xuất của vaccine này đã bị gián đoạn vào tháng 12-2005 để phát triển vaccine thế hệ thứ hai. Vaccine được cấp giấy phép như JE-VAX ở các nước như Mỹ, Canada, Israel và vài nước châu Á, nhưng được phân phối dưới sự miễn thuế đặc biệt của hầu hết các nước Châu Âu.

II.2.1.1. Vaccine JE thu từ não chuột bị bất hoạt

Vaccine JE thu nhận từ não chuột bất hoạt được sản xuất ở Nga và Nhật vào 1930s và trước đó đã tỏ ra hiệu quả chống lại viêm não mùa đông của người Nga (tương tự như JE). Trong suốt thế chiến thứ II, dịch nổi 10% không được ly tâm của não chuột bị nhiễm, bị bất hoạt với Fomalin, được sản xuất ở Mỹ như một vaccine cho quân đội. Vaccine gây miễn dịch hay thay đổi nhưng thử nghiệm phạm vi hiệu lực không thể hoàn chỉnh.

Vaccine thu được từ phôi gà bị bất hoạt ổn định hơn, cũng được phát triển bởi quân đội Mỹ, có hiệu lực 80% ở trẻ em Nhật đã cho kết hợp vaccine thu nhận từ não chuột và vaccine thu được từ phôi gà. Tuy nhiên, vaccine sau đó thì gây miễn dịch thấp hơn ở người trưởng thành và hiệu lực của nó ở người lính là không được đánh giá. Dù vậy, vaccine này được đưa vào tất cả những người lính Mỹ có mặt ở Châu Á từ 1948 đến 1951, sử dụng bị ngưng lại 1952 sau khi xem xét lại dữ liệu có hiệu lực không đủ khả năng để đưa ra bằng chứng thuyết phục của sự gây miễn dịch và hiệu lực.

Giống Nakayama của virus JE, được phân lập từ CSF của một bệnh nhân vào

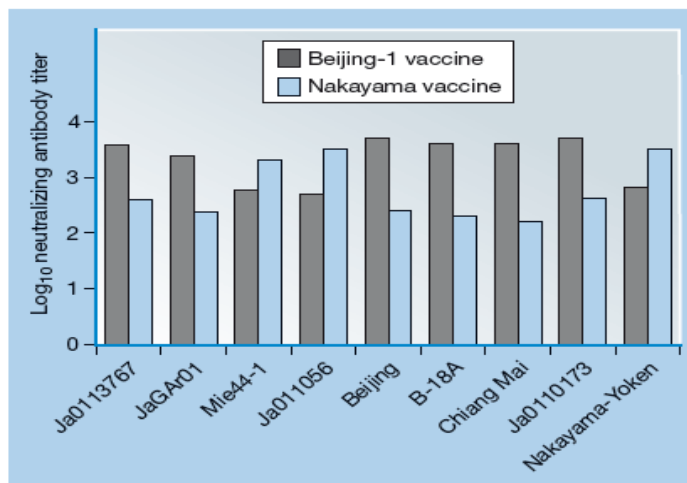


Figure 17-21 Neutralizing antibody response to various Japanese encephalitis (JE) viral strains in mice immunized with inactivated Nakayama or Beijing strains of JE vaccines. The latter conferred a broader heterologous response in immunized mice, but evidence of better protective efficacy in humans is lacking. (Adapted from Japanese encephalitis vaccine lyophilized, 'Biken.' Unpublished report, Research Foundation for Microbial Diseases of Osaka University, Osaka, Japan, 1991, 1-149.)

1935 và được nuôi dưỡng tiếp tục nhờ chuyển qua não chuột, được sử dụng làm giống chủ yếu trong sản xuất vaccine thu nhận từ não chuột ở khắp châu Á. Giống Beijing -1 phát triển đạt hiệu giá cao hơn và vaccine tạo ra hiệu giá kháng thể khác loại cao ở chuột được chứng ngừa hơn là vaccine giống Nakayama, vaccine Beijing-1 đưa vào công thức với một nửa thể tích. Biken, nhà sản xuất vaccine JE hàng đầu Nhật Bản đã sử dụng giống Beijing từ 1989 trong sản xuất vaccine cho tiêu thụ trong nước, ngược lại giống Nakayama được sử dụng trong vaccine phân phối trên quốc tế.

➤ Sản xuất vaccine

Vaccine thu nhận từ não chuột được sản xuất ở Nhật và cũng như một số nơi ở Châu Á nhờ tiêm chủng vào trong não chuột 3 tuần tuổi. Khi chuột có dấu hiệu biểu hiện của bệnh não thì thu hoạch máu, dịch não. Vaccine được làm sử dụng sự phối hợp tương tự của li tâm, lọc, kết tủa bằng protamin sulfate và bất hoạt bằng formalin trong điều kiện lạnh, tiếp theo tinh sạch bằng lọc qua máy lọc, kết tủa bằng ammonium sulfate và tiếp tục li tâm phân tách trên gradient mật độ sucrose. Tiêu chuẩn quốc tế ở Nhật chỉ định rõ gây đáp ứng miễn dịch tối thiểu và hiệu nghiệm ở chuột (đã so sánh với một vaccine chuẩn) và protein tổng số lớn nhất (80µg/ml) và protein cơ bản myelin (MBP) hàm lượng 2ng/ml, bao gồm các chỉ định rõ khác. Thành phần chính của vaccine được pha loãng với 199 môi trường và đệm phosphate để đạt hiệu lực tiêu chuẩn. Mặc dù số lượng của protein E của JE là không kiểm soát được, trong một nghiên cứu, một liều ước tính có chứa khoảng 50µg. Vaccine được ổn định với gelatin và sodium glutamate và bảo quản với thimerosal.

➤ Kết hợp với các vaccine phòng bệnh khác.

Ở Nhật, vaccine được phân phối chủ yếu ở dạng lỏng, cho phân phối quốc tế, nó được làm khô lạnh và tái tạo lại với nước vô trùng. Ở một nghiên cứu của trẻ 15 tháng tuổi, cấp đồng thời vaccine JE bị bất hoạt với vaccine bệnh sởi, quai bị và rubella không làm miễn dịch giảm và không có các tác dụng phụ.

➤ Liều và đường cấp.

Ở hầu hết các khu vực châu Á, sản xuất vaccine từ giống Nakayama đưa vào dưới da 2 liều 0.5 ml cách nhau 1 đến 4 tuần (1.0ml cho người >3 tuổi) thường bắt đầu ở 12-36 tháng tuổi, với một liều nhắc lại lúc 1 năm và thêm một liều nhắc lại sau đó

khoảng 1-3 năm. Vaccine được thu nhận từ giống Beijing-1 được đưa vào công thức với nồng độ kháng nguyên cao hơn và liều khuyến cáo là 0.5 ml (0.25ml cho trẻ em dưới 3 tuổi). Đợt cấp đầu tiên cho trẻ em dưới 7 tuổi cùng với vaccine chủng ngừa bệnh bạch hầu, uốn ván và ho gà (diphtheria, tetanus toxoids and pertussis :DTP).

➤ Ổn định của vaccine.

Vaccine Biken làm khô lạnh được ổn định ở 4⁰C tối thiểu là 1 năm và giữ lại được hơn 90% hoạt lực của nó sau 28 tuần ở 22⁰C. Ở 37⁰ C vaccine làm khô lạnh giữ được 95% hoạt lực gốc của nó sau 4 tuần. Sau khi khôi phục lại, vaccine JE làm ở Ấn Độ được ổn định ở 22⁰C tối thiểu là 2 tuần, nhưng ở 37⁰C , hoạt lực giảm xuống 85%.

II.2.1.2. Vaccine JE từ tế bào thận chuột đồng sơ cấp bị bất hoạt.

Vaccine JE bất hoạt được chuẩn bị từ dòng P3 ở tế bào thận chuột sơ cấp (primary hamster kidney: PHK) được sản xuất dành riêng cho Trung Quốc và là vaccine JE chủ yếu của đất nước đó từ 1968 đến 2000. Sản xuất cao điểm khoảng 70 triệu liều được phân phối hàng năm. Các nỗ lực để tạo ra vaccine JE thu nhận từ nuôi cấy tế bào đã được thúc đẩy bởi sự lo lắng về khả năng nhiễm các kháng nguyên trung hoà và phản ứng dị ứng có liên quan với vaccine thô và cũng bởi sự mong muốn để cải thiện gây miễn dịch và không bị ràng buộc của sản xuất . Trong một số lượng lớn các hệ thống nuôi cấy tế bào liên tục và sơ cấp được kiểm tra, tế bào PHK được khám phá tạo thuận lợi cho sự xâm nhiễm cao nhất.

Giống P3 của virus JE được khám phá vào 1949 từ não của một người bệnh trong thời gian bệnh dịch dòng P1(Beijing-1). Virus trải qua 70 lần trong não chuột và nó được duy trì ở học viện quốc gia để kiểm soát sản phẩm sinh học và dược liệu (the National Institute for Control of Pharmaceutical and Biological Products: NICPBP) ở Beijing. Vaccine nuôi cấy thu nhận từ tế bào PHK bị bất hoạt được làm từ giống P3 là gây miễn dịch nhiều hơn và gây đáp ứng kháng thể khác loại tốt hơn (so với virus Nakayama) và tạo bảo hộ chéo ở chuột tốt hơn vaccine của dòng Nakayama được thu nhận từ não chuột được chế tạo bởi Biken.

➤ Sản xuất vaccine.

Vaccine được chuẩn bị trong nuôi cấy tế bào sơ cấp thu nhận từ thận của chuột đồng Syrian có màu vàng. Tế bào một lớp rửa sạch được nhiễm với virus JE và được thu hoạch 3 ngày sau đó. Dịch lỏng nuôi cấy tế bào nổi trên mặt được lây nhiễm bị bất hoạt với formalin 0.05% , được ổn định với albumin người 0.1% và được kiểm tra cho tính lây nhiễm còn dư và hoạt lực. Vaccine lỏng giữ được hoạt lực hơn 2 năm ở 4-8⁰C.

- Kết hợp với các vaccine phòng bệnh khác.

Vaccine là dạng lỏng có đỏ - vàng thấy rõ với 2.0, 5.0 hoặc 10.0ml trên một lọ. Sản phẩm kết hợp là không có.

- Liều và đường cấp.

Vaccine được cấp dưới da 2 liều 0.5ml, cách nhau 1 tuần, với trẻ em 12 tháng tuổi. Ba liều nhắc lại được đưa vào 1 năm sau đó (0.5 ml) và lúc 6 tuổi và lặp lại lúc 10 tuổi(1.0 ml). Ở một số tỉnh, liều nhắc lại được tiêm hàng năm cho đến 10 tuổi.

Lịch cấp thường hơn ở 2 liều đầu tiên được đưa vào lúc 1 đến 2.5 tháng cho thấy tạo miễn dịch ở 94-100% của trẻ em tuổi đến trường được chủng ngừa.

- Ổn định của vaccine.

Vaccine được ổn định cho một tuần ở 37⁰C. Vaccine nên được cất trữ và vận chuyển ở 2-8⁰C , được bảo vệ khỏi ánh sáng và sử dụng được trong 24 tháng của nghiên cứu kỳ hạn hiệu lực là hoàn toàn thành công.

II.2.1.3. Vaccine viêm não Nhật Bản nhược độc, sống

Dòng virus JE làm yếu được tìm kiếm thông qua các dòng hoang dại được cấy truyền trong các hệ thống nuôi cấy tế bào khác nhau, bao gồm PHK, phôi gà và tế bào da phôi chuột. Mất tính độc gây độc cho tế bào thần kinh ở chuột, chuột đồng hoặc heo hoặc phối hợp của cả ba, được đề xuất đầu tiên có thể sử dụng an toàn cho người. Việc làm yếu đi có thể liên quan tới giảm gắn kết với thụ thể tế bào não chuột.

Ở Trung Quốc, giống bố mẹ vaccine SA14 được phân lập năm 1954 từ ấu trùng *Culex pipiens* được thu nhận ở Xian. Sau khi phân lập và cấy truyền 11 lần ở chuột thối bú, virus được làm yếu qua 100 lần cấy truyền ở tế bào PHK ở 36-37⁰C. Gây độc thần kinh ở khi đã bị mất ở mức cấy truyền này. Thêm nữa chọn lọc các điểm (vết tan do vi rút gây ra) và tạo dòng trong tế bào phôi gà và cấy truyền trong chuột

và chuột đồng nhờ tiến hành nhiễm ngoại biên và nhiễm ở miệng đem lại kết quả ổn định virus không gây độc thần kinh. Kết quả dòng SA 14-5-3 không trở lại nguyên thể lâu gây độc thần kinh sau khi cấy chuyển vào trong não ở chuột đang bú trong khi hiệu lực vẫn duy trì trong các nghiên cứu kích thích miễn dịch của chuột. Virus SA 14-5-3 không giết chết chuột 3 tuần tuổi nhờ tiêm chủng trực tiếp trong não cũng như dưới da. Tiêm chủng trực tiếp virus vào trong xương sống hoặc vào trong đối thị ở khi, khi không chết hoặc chết và mức độ tối thiểu của chứng viêm CNS giới hạn xung quanh vị trí nhiễm.

Vaccine SA 14-5-3 được đưa ra là an toàn cho người và sự kiểm tra thử nghiệm ở những khu vực bệnh đã đưa ra tỉ lệ chuyển đổi của huyết thanh lớn hơn 85%. Tuy nhiên, tỉ lệ này chỉ còn 61% thu được ở các đối tượng từ những khu vực không bệnh. Để gia tăng gây miễn dịch, virus SA 14-5-3 được cấy truyền qua 5 lần dưới da của chuột đang bú; sử dụng da, mô dưới da và hạch lympho ngoại vi cục bộ như là nguyên liệu cho cấy truyền. Sau khi lựa chọn vệt và tạo dòng 2 lần trong tế bào PHK, thu được giống SA 14-14-2. Virus SA 14-14-2 được làm yếu tương tự nhưng gây miễn dịch hơn ở chuột, heo và người, tạo ra tỉ lệ chuyển đổi huyết thanh lớn hơn 90% ở đối tượng không được miễn dịch.

Những công nhân ở NICPBP ở Beijing đã chứng minh rằng SA14-14-2 giống JE được cấy chuyển nhờ PHK là an toàn và gây miễn dịch ở động vật và người. Hiệu lực của vaccine được chứng minh trong các kiểm tra thử nghiệm và vaccine được cấp phép ở Trung Quốc vào 1988. Hiện tại, 50 triệu liều được phân phối hàng năm ở tây nam và tây Trung Quốc. Trình tự nucleotide của virus SA14 bố mẹ gây độc thần kinh không giống của SA14-14-2 và hai virus vaccine được thu nhận từ SA14-14-2 bị làm yếu khác ở 7 acid amin được thay thế tìm thấy ở cả 3 giống bị làm yếu. 4 trong protein vỏ (E138, E176, E315 và E439), 1 trong NS protein 2B(NS2B63), 1 trong NS3 (NS3105) và 1 trong NS4B (NS4B106). Những đột biến này được biểu hiện rất ổn định. Sự thay đổi amino acid ở E-138 ở virus SA 14-14-2 được biểu hiện đầy đủ để làm yếu thần kinh chuột khi đưa vào các dòng nhiễm cDNA của JE tip hoang dại. Trình tự nucleotide của các protein cấu trúc mà các virus được làm yếu biểu hiện và virus cha mẹ không giống do sự đột biến của 8 và 9 amino acid. Virus làm yếu cũng

thu được nhờ các biến thể thoát khỏi sự trung hòa chọn lọc. Sự làm yếu có liên quan tới các thay đổi base duy nhất mang đến kết quả thay đổi amino acid của protein E duy nhất và liên kết với thay đổi tương tác tế bào-virus.

Sự gây độc thần kinh giảm của giống SA 14-14-2 được xác nhận chuột ba tuần tuổi và khỉ. So với giống SA 14 bố mẹ, cái mà giết chết chuột đang còn bú do tiêm vào não hoặc dưới da với liều trung bình gây chết (LD50) trong giới hạn 105.5 tới 108,3 LD50/ml, virus SA 14-14-2 không gây chết và chỉ có dấu hiệu bệnh lý nhỏ ở vài động vật được tiêm vào não. Kết hợp tiêm vào trong xương sống và trong vùng đồi thị của khỉ nâu không gây ra dấu hiệu bệnh lý mà chỉ có phản ứng viêm nhỏ ở dây thần kinh tủy sống thuộc vùng cổ và chất có màu đen. Chuột thì nhạy cảm hơn so với khỉ để nhiễm vào trong não, với một số động vật biểu hiện các thương tổn thần kinh nhẹ trong vỏ não, vùng cá ngựa và hạch cơ bản. So với các thương tổn mô bệnh được tạo ra do virus SA 14 bố mẹ, phản ứng viêm do virus SA14-14-2 lớn hơn và hoại tử tế bào thần kinh thì ít hơn.

Bằng chứng xa hơn của sự giảm kích thích thần kinh của dòng từ các nghiên cứu thí nghiệm trên chuột trần tuyến ức. Không chết hoặc bất thường mô bệnh được khảo sát sau khi tiêm vào trong bụng và tiêm vào dưới da tăng tính nhạy cảm của chuột

Table 17-8 Comparative Neurovirulence of Attenuated SA14-14-2 and Parent SA14 Japanese Encephalitis Viruses in 3-Week-Old Mice and Adult Rhesus Monkeys

Virus Strain (Virus Titer, PFU/mL)	Inoculation Route	Mice			Rhesus Monkey	
		Dilution	Died/Tested	Histopathologic Score (Neuronal Lesions)*	Died/Tested	Histopathologic Score (Neuronal Lesions)*†
SA14 parent (6.15 × 10 ⁸)	IC	10 ⁻¹	ND	ND	2/2	2-4
		10 ⁻⁴	8/8	2-4	0/1	2-3
		10 ⁻⁵	ND	ND	2/2	2-4
		10 ⁻⁶	8/8	2-3	2/2	2-4
		10 ⁻⁷	8/8	2-4	2/2	2-4
		10 ⁻⁸	8/8	2-4	ND	ND
	SC	10 ⁻¹	30/30	2-4 (day 5)	ND	ND
SA14-14-2 (8 × 10 ⁶)	IC	1:5	0/30 [§]	0-2	0/4	0-1
	SC	1:5	0/30 [§]	0 (1) [§]	ND	ND

*0 = No lesion; 1 = ≤5%, 2 = 6% to 20%, 3 = 21% to 50% and 4 = >50% of neurons died.

†Inoculation in thalami bilaterally (each 0.5 mL) and lumbar spinal cord (0.2 mL).

‡No clinical illness in mice inoculated subcutaneously; only a few minor clinical signs in intracerebrally inoculated mice.

§One mouse showed a few dead nerve cells.

IC, intracerebral; ND, no data; SC, subcutaneous.

Data from Ling JP, Zhu YG, Du GZ, et al. Comparative susceptibilities of rhesus monkeys and mice to Japanese encephalitis virus. Unpublished report, Institute for Control of Pharmaceutical and Biological Products, Beijing, China, 1996.

với virus JE gây độc, ngăn cản miễn dịch với Cyclophosphamide không dẫn tới viêm

não ở chuột được tiêm chủng ngoại vi với virus SA 14-14-2. Chủng này cũng không giết chết chuột đồng đang bú được tiêm vào trong não. Đặc điểm của giống vaccine (PHK8) như là một vệt kích thước nhỏ, làm giảm gây độc thần kinh chuột và đặc tính di truyền được ổn định qua ít nhất 10 lần cấy truyền trên tế bào PHK.

Virus huyết SA 14-14-2 không được nghiên cứu trong vaccine mặc dù những nghiên cứu được thực hiện và vaccine dùng được vào cuối 2006. Nhân giống SA 14-14-2 trong tế bào thận chó sơ cấp (PDK) có thể được phân lập từ máu rút ra từ vaccine, nhưng ở độ chuẩn xâm nhiễm dưới ngưỡng nhiễm ở miệng thông thường của muỗi. Kết luận từ một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng khả năng không đáng kể cho sự truyền của muỗi của virus JE bị làm yếu từ heo hay người được chủng ngừa; tuy nhiên, các thí nghiệm cuối cùng là cần thiết. Giống SA14-14-8 có liên quan mật thiết với SA14-14-2, nhân giống tốt ở muỗi *Culex tritaeniorhynchus* sau khi cấy vào trong ngực nhưng không thể chuyển. Ở những thí nghiệm xâm nhiễm ở miệng, chỉ có 11% của muỗi *Cx tritaeniorhynchus* theo đường ăn uống chủng ngừa trở thành nhiễm được so sánh với 100% với JE tip hoang dại. Virus không trở lại phenotype gây độc thần kinh sau khi truyền qua muỗi.

➤ Sản xuất vaccine.

Hạt virus được chuẩn bị từ mức độ cấy truyền lần thứ 6 của virus SA 14-14-2, được duy trì ở NICPBP ở Beijing. Virus hạt được làm khô lạnh (PHK5) được cung cấp để viện sản xuất, nơi mà nó được cấy truyền một lần cho sản xuất hạt (PHK6). Tế bào BHK thu được từ chuột Syrian vàng 10-12 ngày tuổi được duy trì ở dạng colony ở viện Chengdu và Wuhan Production. Tế bào một lớp được tiêm chủng với virus được pha loãng và tế bào được cung cấp dinh dưỡng với dung dịch thiết yếu rất nhỏ có chứa albumin người, gentamicin và kanamycin. Dòng tế bào nuôi cấy được nhiễm với độ chuẩn (hiệu giá) nhiễm xấp xỉ 107,2 đơn vị tạo hình vệt (điểm) (PFU)/ml được thu hoạch ở 78-96 giờ và được lọc thô và mang lại kết quả vaccine dịch lỏng được làm khô lạnh. Gelatin (1%) và sucrose (5%) được thêm vào như là chất ổn định. Vaccine được làm khô lạnh được tái tạo lại và pha loãng với nước vô trùng cho thuốc tiêm. Vaccine tái tạo nên là dịch lỏng cam-đỏ thấy rõ. PFU của vaccine không thấp hơn 105,7 PFU trong vaccine tái tạo.

- Kết hợp với các vaccine phòng bệnh khác.

Cấp vaccine JE đồng thời với vaccine Bacille Calmette-Guérin (BCG), bệnh sởi hoặc DTP ở 6-10 tháng tuổi thì không làm tăng khả năng gây hại và so với vaccine JE được cấp một mình. Cấp vaccine JE hiện nay không dẫn tới các thay đổi đáng kể trong đáp ứng hiệu giá kháng thể DTP hoặc bệnh sởi hoặc phạm vi của phản ứng BCG. Ở Trung Quốc không có sự khác nhau trong khả năng gây phản ứng liên hệ miễn dịch (reactogenicity) của vaccine ở trẻ em nhận vaccine sởi, JE hoặc JE và sởi kết hợp.

- Liều dùng và đường cấp.

Ở Trung Quốc, vaccine được cấp phép cho liều 0.5 ml cấp dưới da cho trẻ 8 tháng tuổi và liều lặp lại lần hai thích hợp lúc hai năm. Ở một vài khu vực, liều nhắc lại được đưa vào khoảng 7 năm. Giống như vaccine thu từ tế bào PHK bị bất hoạt, vaccine SA 14-14-2 được phân phối vào chiến dịch mùa xuân hàng năm hơn là

Table 17-6 Immune Response to One Dose of SA14-14-2 Attenuated Japanese Encephalitis Vaccine by Vaccine Infectious Titer

Year	Vaccine Titer*	Seroconversion Rate (%) [†]	GMT	Reference
1979	6.7 (5.7 PFU)	12/13 (92)	29	238
	5.7 (4.7 PFU)	12/17 (71)	10	
	4.7 (3.7 PFU)	10/16 (62)	10	
1985	>7.0 (6.0 PFU)	23/23 (100)	>32	239
	6.0 (5.0 PFU)	10/12 (83)	23	
1987	7.0 (6.0 PFU)	33/39 (85)	23	303
1992	6.0-6.5	18/19 (95)	25	
1994	6.8	29/29 (100)	31	
	6.5	24/26 (92)	27	

*Log₁₀ median tissue culture infective dose (TCID₅₀) per milliliter.

†Greater than 1:10 neutralizing antibody titer.

[‡]Log (plaque-forming units/milliliter).

GMT, geometric mean antibody titer.

chương trình dựa trên tuổi.

- Ổn định vaccine.

Hiệu giá nhiễm của vaccine làm khô lạnh là không thay đổi đáng kể sau khi trữ ở 37⁰C để 7-10 ngày, ở nhiệt độ phòng trong 4 tháng hoặc 2-8⁰C để được ít nhất là 1.5 năm. Sau khi khôi phục lại với nước được chưng cất hoặc nước muối vô trùng và trữ ở 23⁰C, hiệu giá nhiễm của vaccine ổn định trong 2-4 h hoặc 2h. Vaccine nên được

dự trữ và vận chuyển ở 8⁰C, tránh ánh sáng mặt trời và sử dụng trong vòng 18 tháng sau khi kiểm tra hiệu lực hoàn chỉnh.

II.2.1.4. Một số vaccine cải tiến

Một số vaccine JE đang phát triển, bao gồm cả những virus bị bất hoạt, vaccine DNA và vaccine kỹ thuật di truyền. Các ứng cử viên mà đưa ra hứa hẹn nhất và xa nhất trong sự phát triển đơn giản là vaccine bất hoạt với 3 nhà sản xuất ở thử nghiệm giai đoạn ba và vaccine Chimeric sửa đổi cũng đang trong giai đoạn 3.

a. Vaccine bất hoạt.

Một số nhóm làm thí nghiệm với vaccine hạt virus bất hoạt từ nuôi cấy tế bào Vero bị nhiễm. Dịch nuôi cấy tế bào với độ chuẩn nhiễm virus cao, liên tục thu hoạch từ giá thể nuôi cấy, bất hoạt với formalin và cô đặc, mang lại các vaccine ứng cử viên với các tiêu chuẩn hiệu lực bảo hộ chuột được đưa vào trong vaccine não chuột bất hoạt. Vaccine IC52 đang được phát triển bởi Intercell, công ty kỹ thuật bố trí ở Vienna, Austria, là dựa trên dòng virus vaccine SA 14-14-2. Nó được tinh sạch, bất hoạt và đưa vào công thức với phen. Một phần của phase mở rộng tế bào, quy trình là sử dụng huyết thanh dê bào thai. Chỉ dẫn cho người trưởng thành, các nghiên cứu phase I và phase II được hướng dẫn của Investigational New Drug (IND) ở Mỹ thông qua Walter Reed Army Institute of Research (WRAIR). Dữ liệu chứng minh sự gia tăng của tỉ lệ chuyển đổi huyết thanh với các liều bậc thang của vaccine. Nghiên cứu trong phase I, các liều 0.4 -2 µg được đưa ra với 2-3 liều uống. Các nghiên cứu trong phase II, các liều 6-12 µg cho kết quả tỉ lệ chuyển đổi huyết thanh cao trong một tháng với sự bền vững của kháng thể trung hòa của các dòng tương đồng khoảng 2 năm trong 85% ở các đối tượng. Sử dụng cho người trưởng thành sẽ chứng minh là không thấp hơn dựa trên tỉ lệ chuyển đổi huyết thanh và độ chuẩn kháng thể. Công ty đang xin được cấp bằng sớm ở Mỹ và Châu Âu. Thêm vào đó, sự cộng tác của Biological E sẽ dẫn tới điều kiện thuận lợi cho sản xuất ở Ấn Độ và các nghiên cứu phase II và III ở em bé và trẻ em dưới 7 tuổi ở các địa phương bệnh.

Cơ sở nghiên cứu bệnh vi sinh vật của trường đại học Tokyo, Biken đã sản xuất vaccine Biken BK-VJE dựa trên tế bào vero làm thành công thức có phen và sử dụng

dòng Beijing -1 JE. 2001 nghiên cứu phase I của hai liều uống đưa ra vaccine để dự trữ tốt, chỉ tăng nhẹ chức năng của gan và gây miễn dịch, với các chuyển đổi huyết thanh kháng thể trung hòa được quan sát ở các đối tượng huyết thanh âm tính. Thử nghiệm 2 liều ở phase III ở 110 đứa trẻ nhạy cảm với flavivirus đã tạo được kháng thể trung hòa ở 100% đối tượng không có các điều kiện bất lợi. Lần thứ hai phase III mở rộng thử nghiệm đánh dấu kết quả mức độ cao kháng thể trung hòa trong tất cả các đứa trẻ được chủng ngừa trước đó với vaccine não chuột và đưa vào một liều BK-VJE.

Kakestunken, một nhà sản xuất vaccine JE thu từ não chuột người Nhật đã sản xuất được vaccine từ tế bào Vero không có tá dược tinh sạch làm thành công thức không có gelatin và thimersol. Nồng độ DNA và protein Vero là vài picogram trên một liều trong sản phẩm cuối cùng. Ở phase I, 30 người trưởng thành nhạy cảm bệnh được đưa vào 3 liều vaccine ở 0.4 tuần và 6 tháng được khảo sát không có các trường hợp chống lại nghiêm trọng và tất cả các đối tượng đều phát triển kháng thể trung hòa JE. Nghiên cứu phase II bao gồm 200 đứa trẻ từ 6-90 tháng tuổi đã nhận 3 liều với 100% huyết thanh chuyển đổi. Các trường hợp chống lại nhẹ được ghi chú là 45% sau lần cấp đầu tiên. Tương tự, vaccine bất hoạt tế bào Vero hiện đang được sản xuất tại Trung Quốc bởi viện sản phẩm sinh học Beijing.

b. Vaccine Chimeric.

Rất xa định hướng di truyền hứa hẹn nhất được xây dựng của chimeric flavivirus trong bộ gene của YF 17D đóng góp của gene NS và SA 14-14-2 đóng góp của gene prM và E (ChimeriVax-JE; Acambis, Cambridge, MA, USA). Chimera được xây dựng từ cDNA, phiên mã ngược từ RNA và dùng điện trường nhiễm vào tế bào

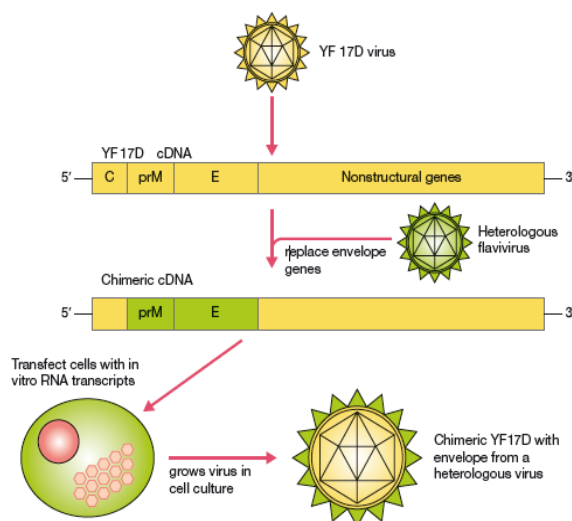


Figure 17-30 The ChimeriVax concept. ChimeriVax-JE results from the insertion of the prM and E structural genes from SA 14-14-2 virus into the nonstructural genes of yellow fever vaccine 17D (YF-17D). (Data from Acambis, Inc.)

Vero. Kết quả các dòng nhiễm có thành phần trung hòa độc tố của SA 14-14-2, nhưng sự phát triển của tế bào Vero đặc trưng của 17D. Sự làm yếu virus chimeric được thực hiện dựa trên các mô bất định của protein E JE có tối thiểu 3-6 acid amin bị thay đổi. Chimera YF/JE chứng minh gây miễn dịch cao hơn ở khỉ rhesus và bảo vệ chống lại các nguy cơ nhiễm vào trong não và trong mũi sử dụng dòng virus hoang dại. Chimera không thể truyền bằng vật truyền muỗi của virus JE hoặc YF. Hyderabad, Ấn Độ sẽ hoàn chỉnh vaccine đầy đủ và hoàn thiện ở Good Manufacturing Practices (GMP). Các thử nghiệm bệnh lý của bệnh nhi dự định Ấn Độ sẽ ước định an toàn và khả năng tồn trữ của ChimeriVax-JE ở trẻ em tăng lên từ nhóm tuổi lớn hơn tới nhóm tuổi nhỏ hơn. Những nghiên cứu cấp phát đồng thời vaccine sởi với ChimeriVax-JE được dự định.

c.Vaccine DNA.

Một định hướng khác đang được thăm dò tiêm vào trong cơ hoặc trong da các plasmid DNA trần mã hóa cho protein M và E dưới sự kiểm soát của promoter ngay cạnh virus cự bào. Sử dụng plasmid JE chuột được miễn dịch bảo vệ chống lại các thách thức của chủng virus hoang dại. Ở heo con, hai liều tiêm vào cơ tạo hiệu giá kháng thể cao và đáp ứng kí ức bệnh cao để kích thích vaccine nhược độc sống. Vaccine khác đang phát triển bao gồm tạo ra trình tự tín hiệu kích thích tiết các chất hoạt hóa plasminogen từ mô nối với một phần gen protein vỏ JEV hoặc một gen có chiều dài đầy đủ. Các tế bào được chuyển sau đó xây dựng tạo protein E và gây ra bảo hộ tốt hơn chống lại các kích thích não chuột.

d.Vaccine nhược độc sống.

Tiêm tàn các tác nhân ngẫu nhiên trong chất nền tế bào PHK của vaccine nhược độc SA14-14-2 yêu cầu mở rộng kiểm tra thăm dò sự phóng thích. Kết quả, đây là kích thích cố gắng để lắp virus vào hệ thống tế bào. Dòng virus được lắp vào tế bào PDK và sau đó chuyển virus gây độc thần kinh vào khỉ và làm các kiểm tra an toàn khác, được tạo ra dưới GMP chuyển qua tế bào PDK 19 của nó nhờ WRAIR như là vaccine ứng cử. Vaccine IND có chứa độ chuẩn nhiễm hơn 105.5 PFU/ml, đưa vào an toàn cho người trưởng thành và trẻ em trong các thử nghiệm phase I ở người, nhưng đáp ứng kháng thể trung hòa với một liều duy nhất được phát hiện trong chỉ 2

của 4 và 14 của 45 (31%), với hiệu giá kháng thể trung bình nhân (GMTs) thay đổi từ 7 tới 40 (YX Yu, personal communication, 1997). Thấy được bên ngoài các đáp ứng miễn dịch kém, dòng được chuyển PDK được xem xét qua sự suy yếu và phát triển không được tiếp tục. Sau đó, virus được kết hợp với tế bào Vero và nó tiềm tàng như là virus sống hoặc bất hoạt cả hạt virion đang được khảo sát.

e. Vaccine vector đậu mùa.

Virus đậu mùa thiếu khả năng sao chép (Replication-deficient canary pox :ALVAC) và virus đậu mùa nhược độc cao (highly attenuated vaccinia viruses: NYVAC) được sử dụng như một vector mang gene prM-E và prM-E-NS1. Các ứng cử viên vaccine tái tổ hợp được xây dựng nhờ chèn 4 gene prM, E, NS1 và NS2 vào virus vaccine đậu mùa NYVAC hoặc virus đậu mùa hoang yển ALVAC được đánh giá rộng rãi. Cả hai thể tái tổ hợp được biểu hiện mã hóa các sản phẩm gene NS và gene cấu trúc JE và kích thích kháng thể bảo hộ JE trong chuột; hai liều trước cũng bảo vệ khi rhesus chống lại thách thức của các virus gây chết. Trong các thử nghiệm phase I ở người, vaccine gây phản ứng hơn vaccine não chuột một ít nhưng an toàn. Hai liều của vaccine tái tổ hợp NYVAC-JE gần như gây miễn dịch bằng ba liều của vaccine não chuột bất hoạt, nhưng chỉ ở những người tình nguyện chưa bị đậu mùa. Mặc dù virus tái tổ hợp NYVAC-JE được chứng minh là an toàn và có hiệu lực với các đối tượng không miễn dịch đậu mùa, sự thất bại của bố mẹ đẻ sao chép trong các đối tượng miễn dịch đậu mùa đã đặt ra vài giới hạn có lợi.

II.2.2. Một số nghiên cứu phát triển vaccine JE cho động vật

a. Phát triển triển giống nhược độc để làm vaccine virus JE sống cho heo.

Phát triển triển giống nhược độc làm vaccine virus JE sống để ngăn ngừa heo chết khi sinh, một nỗ lực để tạo ra virus nhược độc. Nuôi cấy tế bào thận bò sơ cấp để tiến hành cấy truyền giống ở 30⁰C trong một thời gian dài. Trong quá trình cấy truyền tạo dòng này được lặp lại với đặc tính của khả năng tái sinh ở nhiệt độ đưa vào (rct) và kích thước vết như là marker. Kết quả, giống S nhược độc được tạo thành công. Nó là rct/37 và rct/40 (rct: ở nhiệt độ vẫn còn khả năng sinh sản) và hình thành các điểm nhỏ. Ở giống này sự làm yếu đánh dấu được thấy gây nhiễm ở ngoại vi chuột còn bú và gây nhiễm bên trong chuột trưởng thành. Khi được tiêm với giống này những con heo con mới sinh không biểu hiện dấu hiệu bệnh lý bất thường hoặc thay đổi bệnh lý của mô não. Một thời gian ngắn một số virus được tìm thấy ở

các nốt bạch huyết và máu. Một ít virus còn được phát hiện ở các cơ quan khác nhau. Không có virus huyết được phát hiện từ heo con hơn là heo một tháng tuổi được tiêm với virus được phục hồi. Không có sự nhiễm ở nhau hoặc bào thai được phát hiện ở heo nái mang thai được tiêm với virus hồi phục. Heo nái được tiêm sinh ra heo con bình thường. Từ những kết quả này, có thể nói rằng giống S có đủ an toàn để sử dụng như một virus vaccine sống cho heo.

b. Ứng cử viên vaccine DNA JE biểu hiện gen vỏ và gen tiền màng tạo thành tế bào B nhớ chuyên biệt virus và tạo kháng thể bền vững ở heo.

Heo là một bộ máy khuếch đại của virus JE trong môi trường vật nuôi. Ở nghiên cứu này, hai ứng cử viên vaccine DNA được đánh giá gây miễn dịch cho heo. Cả hai plasmid vaccine mã hóa một ca xét gồm có tín hiệu của vùng mã hóa cho protein tiền màng prM và protein vỏ E của virus JE. Một plasmid được thiết kế pcJEME dựa trên vector thương mại pcDNA3 và một plasmid khác được thiết kế pNJEME dựa trên vector pNBVL4a. Không có sự khác nhau được phát hiện trong việc gây miễn dịch của 2 plasmid này ở chuột và heo. Heo được miễn dịch với vaccine DNA với một liều 100-400 μ g khoảng 3 tuần phát triển hiệu giá kháng thể trung hòa và hiệu giá kháng thể HAI (hemagglutination-inhibitory) của 1:40 và 1:160 một tuần sau khi tiêm chủng lần hai. Tuy nhiên, heo được cấp hai liều vaccine JE thương mại (chuẩn bị virus bị bất hoạt bằng formalin; JEVAX-A) tăng thấp 1:10 hoặc đáp ứng kháng thể dưới khả năng có thể phát hiện sau tiêm nhắc lại chúng. Thú vị là hiệu giá kháng thể của huyết thanh gây ra nhờ vaccine DNA ở heo cao hơn được phát hiện ở chuột. Sau 8 ngày tiêm nhắc lại với kháng nguyên virus (JEVAX-A) để phát hiện đáp ứng kí ức bệnh, heo được chủng ngừa hai lần với vaccine DNA biểu hiện tăng gấp >100 lần trong độ chuẩn HAI, chỉ ra khả năng nhớ mạnh mẽ của đáp ứng kháng thể. Heo duy trì mức có thể phát hiện của kháng thể HAI tối thiểu là 245 ngày sau 2 lần chủng ngừa với vaccine DNA. Các kết quả này chỉ ra các vaccine DNA này có thể làm tăng tế bào B nhớ chuyên biệt cho virus và tạo kháng thể bền vững trong thời gian dài ở heo, mức độ bảo hộ cao hơn so với vaccine JE bất hoạt bằng formalin thương mại.

III. KẾT LUẬN

Như vậy có thể nói dưới sự nỗ lực không ngừng của các nhà khoa học thì bệnh viêm não Nhật Bản ở cả người và động vật đều đã được chủ động kiểm soát bằng vaccine. Hiện nay, trên thị trường cũng có nhiều loại vaccine chủng ngừa viêm não Nhật Bản để người và động vật được tiêm chủng có được hiệu quả bảo hộ cao nhất.

Dưới sự phát triển không ngừng của khoa học kỹ thuật thì vaccine viêm não Nhật Bản cũng đang ngày càng được hoàn thiện hơn. Kết hợp với kỹ thuật di truyền, kỹ thuật sản xuất vaccine DNA, vaccine tái tổ hợp... đang mở ra một hướng mới để sản xuất vaccine phòng bệnh viêm não Nhật Bản hiệu quả cao với chỉ một liều duy nhất.

Tuy vậy, trong quá trình nghiên cứu và xây dựng các loại vaccine bằng công nghệ mới cũng mang đến một số rủi ro có thể làm thay đổi serotype của virus JE làm chúng trở nên nguy hiểm hơn.

Bên cạnh đó, ở các nước đang phát triển ở Châu Á vẫn chưa chủ động sản xuất vaccine JE đủ đáp ứng cho nhu cầu trong nước mà còn phải nhập từ nước ngoài. Vì vậy giá thành cũng cao hơn gây ảnh hưởng lớn đến hiệu quả của ngành chăn nuôi cũng như sức khỏe con người.

Tài liệu tham khảo.

©The Medical Journal of Australia 2004 www.mja.com.au

Journal of clinical microbiology, Jan. 1975, p. 96-101

www.thelancet.com

<http://www.lunwentianxia.com/product.sf.3138068.1/>

<http://www.jimmunol.org>

<http://jcm.asm.org/cgi/reprint/1/1/96.pdf>

<http://jcm.asm.org>

<http://www.sciencedirect.com>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC111940/>

<http://idsc.nih.go.jp/yosoku/index-E.html>

http://www.path.org/projects/JE_in_depth.php

<http://www.ozonetherapycentre.com>

MỤC LỤC

I. ĐẶT VẤN ĐỀ	2
II. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
II.1. Bệnh viêm não Nhật Bản (Japanese encephalitis: JE).....	3
II.1.1. Lịch sử bệnh	3
II.1.2. Virus JE	4
II.2. Vaccine phòng bệnh JE	6
II.2.1. Vaccine JE cho người.....	6
II.2.1.1. Vaccine JE thu từ não chuột bị bất hoạt	7
II.2.1.2. Vaccine JE từ tế bào thận chuột đồng sơ cấp bị bất hoạt.	9
II.2.1.3. Vaccine viêm não Nhật Bản nhược độc, sống.....	10
II.2.1.4. Một số vaccine cải tiến.....	15
II.2.2. Một số nghiên cứu phát triển vaccine JE cho động vật	18
III. KẾT LUẬN.....	20