

Nâng cao - tham khảo

CÁC PHƯƠNG PHÁP TIẾP CẬN ĐỂ SẢN XUẤT VACCIN DỊCH TẢ LỢN CHÂU PHI

Marisa Arias^{1,}, Ana De la Torre¹, Linda Dixon², Carmina Gallardo¹,
Ferran Jori³, Alberto Laddomada⁴, Carlos Martins⁵, R. Michael Parkhouse⁶,
Yolanda Revilla⁷, Fernando, Jose-Manuel Rodriguez⁸ và Sanchez-Vizcaino⁹*

¹ European Union Reference Laboratory for ASF, Centro de Investigación en Sanidad Animal (INIA-CISA), 28015 Madrid, Spain

² The Pirbright Institute (TPI), Surrey GU24 0NF, UK

³ ASTRE, University of Montpellier, CIRAD, INRA, F-34398 Montpellier, France

⁴ Instituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna (IZS-Sardegna), 07100 Sassari, Sardinia, Italy

⁵ Faculdade de Medicina Veterinária (FMV-ULisboa), 1300-477 Lisbon, Portugal

⁶ Instituto Gulbenkian de Ciência (IGC), Rua Quinta Grande 6, 2780-156 Oeiras, Portugal

⁷ Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CBMSO-CSIC-UAM), C/Nicolás Cabrera nº 1, Campus de Cantoblanco, 28049 Madrid, Spain

⁸ Institute for Research and Technology Food and Agriculture (IRTA), Centre de Recerca en Sanitat Animal (CRESA, IRTA-UAB), Campus de la Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Spain

⁹ OIE Reference Laboratory for ASF, Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET), Universidad Complutense de Madrid, Avda. Puerta del Hierro, 28040 Madrid, Spain

1. Đáp ứng miễn dịch chống lại ASFV

Hiểu được sự phức tạp về khả năng miễn dịch chống lại ASFV là rất quan trọng để phát triển vaccin, tuy nhiên điều đó hiện vẫn còn khiếm tốn. Có một bằng chứng rõ ràng là những lợn sống sót sau khi bị nhiễm bệnh có khả năng chống lại một số chủng virus phân lập được, cho thấy những con vật này có thể đáp ứng miễn dịch bảo hộ.

Virus mã hóa hơn 160 polypeptide khác nhau, nhiều trong số đó có thể trốn tránh hệ thống miễn dịch. Cùng với sự biến đổi của virus phân lập được cho đến nay đã làm phức tạp nhiệm vụ này.

Các ASFV nhược độc thu được từ sự thích nghi nuôi cấy tế bào đã bảo hộ chống lại virus độc lực, nhưng không tạo ra sự bảo hộ chống lại các virus dị hợp, bao gồm cả các chủng ASFV được tìm thấy ở khu vực gần kề. Tương tự như vậy, một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng gia súc sống sót sau khi bị nhiễm virus phân lập có độc

lực thấp hơn có thể bảo hộ chống lại thử thách với các virus có độc lực liên quan. Phạm vi bảo hộ chéo chống lại các kiểu gen khác nhau ít được nghiên cứu, mặc dù có những báo cáo về bảo hộ chéo giữa các kiểu gen nhất định. Hiện tại, các kháng nguyên quan trọng có vai trò trong miễn dịch bảo hộ chéo chưa được nghiên cứu đầy đủ, mặc dù các protein này giống như CD2v đã được đề xuất là một ứng viên cho sản xuất vaccin.

Những khó khăn đáng kể đang gặp phải trong khi tìm kiếm các mối tương quan miễn dịch bảo hộ. Tuy nhiên, dường như rõ ràng rằng đáp ứng miễn dịch bảo hộ bao gồm cả miễn dịch tế bào và miễn dịch dịch thể. Một số phát hiện, chẳng hạn như việc thiếu các kháng thể trung hòa, vẫn còn gây tranh cãi. Tuy nhiên, bằng chứng cho vai trò của miễn dịch qua trung gian kháng thể trong bảo hộ đã được thu thập. Do đó, việc truyền huyết thanh thụ động từ lợn bị nhiễm ASFV và lợn đã hồi phục đã bảo hộ được lợn chống lại thử thách với ASFV tương đồng và giảm tử vong do làm

chậm lại các dấu hiệu lâm sàng của ASF và giảm mức độ nhiễm virus máu.

Một loạt các nghiên cứu *in vivo* và *in vitro* cho thấy vai trò bảo hộ tiềm năng của kháng thể bằng các cơ chế bổ sung bao gồm ly giải tế bào qua trung gian bổ sung hoặc độc tế bào qua trung gian tế bào phụ thuộc kháng thể. Một mối tương quan đã được thiết lập giữa sự hiện diện của kháng thể ức chế hấp thụ lên hồng cầu (HAD) trong huyết thanh với khả năng ức chế nhiễm ASFV *in vitro* và bảo hộ chống lại thử thách ASFV *in vivo*.

Bằng chứng cũng chỉ ra vai trò chính đối với các tế bào NK và các phản ứng của tế bào T trong bảo hộ. Sử dụng lợn đã phục hồi sau khi bị nhiễm bệnh thực nghiệm với virus nhược độc tự nhiên chủng Bồ Đào Nha 68 (NHP68) như là một mô hình thí nghiệm, vai trò bảo hộ chính của tế bào CD8-T trong việc loại bỏ virus là kết quả của hoạt động gây độc tế bào đã được quan sát. Sự suy giảm kháng thể của quần thể tế bào CD8+ đã loại bỏ sự bảo hộ bởi chủng nhược độc tự nhiên OURT88/3, chứng minh vai trò thiết yếu đối với những tế bào này trong bảo hộ. Tóm lại, bằng chứng chỉ ra rằng bảo hộ miễn dịch bao gồm các cơ chế qua trung gian kháng thể dịch thể và qua trung gian kháng thể tế bào.

2. Các protein liên quan tới trốn tránh miễn dịch và độc lực

Một sự hiểu biết tốt hơn về mối tương tác giữa động vật chủ và virus gây bệnh là cần thiết để phát triển vaccin. Các mục tiêu quan trọng giúp xác định cách tiếp cận vaccin hợp lý là xác định các thụ thể tế bào chủ và các protein virus tương tác với chúng, cải thiện hiểu biết về cơ chế để virus vượt qua hàng rào bảo vệ vật chủ, ngăn chặn sự nhân lên của virus và cơ chế miễn dịch của vật chủ liên quan đến bảo hộ.

Mục tiêu của ASFV chủ yếu là các đại thực bào. Những tế bào này có vai trò cực kỳ quan trọng trong việc kích hoạt và điều phối đáp ứng miễn dịch chống lại nhiễm bệnh. ASFV sử dụng một số phương cách để trốn tránh các hệ thống miễn dịch của vật chủ, bao gồm các cơ chế miễn dịch bẩm sinh và nội tại như interferon loại I

(IFN), apoptosis, viêm và kích hoạt các gen mục tiêu cụ thể trong nhiễm ASFV. Việc xác định các gen chính và các protein tương ứng của chúng làm trung gian cho các quá trình như vậy có tầm quan trọng rất lớn trong việc tìm hiểu các tương tác của vật chủ và virus, và là cơ sở để thiết kế vaccin nhược độc hiệu quả.

Một số tiến bộ trong việc mô tả đặc tính của các loại virus chứa gen như vậy đã được thực hiện. Ví dụ, protein A238Lp không thiết yếu, chúng ngăn chặn sự kích hoạt phiên mã của các gen đáp ứng miễn dịch của vật chủ bằng cách ức chế các yếu tố phiên mã của vật chủ. Một số protein virus được biết là để điều chỉnh và ức chế các cách thức gây chết tế bào được lập trình tại thời điểm nhiễm bệnh sớm. Chúng bao gồm các protein không thiết yếu A179Lp, một thành viên gia đình Bcl-2, A224Lp, thành viên ức chế apoptosis (IAP), và lectin type C EP153Rp. Điều này cho phép nhân lên và sản sinh virus con cháu. Ngược lại, các protein khác như protein cấu trúc thiết yếu p54/E183Lp, có thể điều chỉnh việc sản sinh các hạt virus và cơ chế giải phóng bằng cách gây ra apoptosis vào thời điểm nhiễm trùng muộn. Protein DP71Lp chứa protein phosphatase 1 để khử yếu tố khởi tạo dịch mã eIF2 và khôi phục tổng hợp protein. Một số protein có liên quan đến việc ức chế IFN bao gồm các gen được mã hóa bởi họ đa gen (MGF) 360 và 505 và các gen I329L, K205R và A276R.

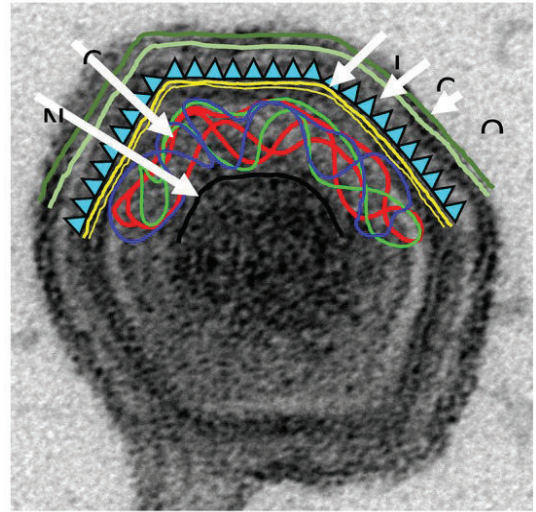
Protein I329Lp được đặc trưng là định vị glycoprotein trong màng bề mặt tế bào chủ và là protein ASFV đầu tiên được chứng minh là có tác dụng ức chế phản ứng IFN thông qua con đường truyền tín hiệu giống như Toll 3 (TLR3). Ngoài ra, I329Lp cũng ức chế tín hiệu TLR4. Protein K205Rp đã được hiển thị để bản địa hóa trong tế bào chất và ức chế kích hoạt IFN. Protein A276Rp cũng được xác định là chất ức chế kích hoạt IFN và không xuất hiện để nhắm vào mục tiêu IRF-7. Do hậu quả của việc ức chế IFN α β , biểu hiện của hàng trăm gen kích thích IFN bị ức chế. Chúng có chức năng rộng liên quan đến việc kích hoạt trạng thái chống virus trong các tế bào bị nhiễm, gây bệnh và kích hoạt đáp ứng miễn dịch của vật chủ. Protein D96Rp cũng là một

gen trốn tránh miễn dịch tiềm năng, mặc dù cơ chế hoạt động của nó không rõ ràng. Các protein điều biến khác bao gồm protein hemmagglutinin CD2v/E402Rp có trên bề mặt của virion ngoại bào và ức chế kích hoạt tế bào lympho. Những gen được đề cập này là mục tiêu ứng cử tốt cho sự phát triển của một loại virus đột biến loại bỏ gen để phát triển vaccin.

Cuối cùng, một số protein ASFV thiết yếu đã được xác định, bao gồm ASFV-Topoisomerase II, một protein giống histone và enzyme liên hợp Ubiquitin ASFV-E2, mở ra con đường mới để tạo vaccin đột biến chu trình đơn có hiệu quả sử dụng các dòng tế bào trợ giúp biểu hiện các protein thiết yếu này. Cách tiếp cận tương tự cũng đã được báo cáo đối với bệnh Blue-tongue và bệnh ốm ngựa châu Phi. Cả hai loại virus cắt bỏ gen và giảm độc đều có ưu điểm là biểu lộ gần như toàn bộ các cách thức virus thông qua các phức hợp tương hợp mô (MHC) loại I và II đến CD8 và CD4, do đó kích thích cả miễn dịch tế bào và miễn dịch dịch thể.

3. Các protein quan trọng tạo ra kháng thể bảo hộ

Xác định các protein virus có thể là mục tiêu của tạo kháng thể trung hòa hoặc loại bỏ vẫn cần được nghiên cứu nhiều hơn. Các protein virus hiện diện trên bề mặt của cả virion trưởng thành nội bào và ngoại bào và bề mặt của các tế bào bị nhiễm bệnh được cho là các protein quan trọng để bảo hộ qua trung gian kháng thể. Các protein mục tiêu của virus cho trung hòa đã được xác định bao gồm p72/B646Lp, p54/E183Lp và p30/CP204Lp. Các kháng thể chống lại p72/B646Lp và p54/E183Lp ức chế virus gắn với các tế bào, trong khi đó các kháng thể chống lại p30/CP204Lp ức chế virus xâm nhập. Các protein virion khác có trên bề mặt của các hạt virus trưởng thành nội bào hoặc ngoại bào có thể là mục tiêu để trung hòa bằng cách ngăn chặn sự xâm nhập hoặc lây lan của virus. Chúng bao gồm protein CD2v/EP402R, protein p12/O61Rp, D117L.



Cấu trúc virus dịch tả lợn châu Phi (ASFV)

Hình ảnh vi điện tử của hạt ASFV ngoại bào vừa chớm nở qua màng plasma tế bào được hiển thị. Hạt này lớn (~ 200nm) có chứa hơn 50 protein. Lõi nucleoprotein (NU) được bao quanh bởi lớp vỏ lõi (CS) và lớp vỏ bên trong (IE), trên đó một icosahedral capsid được lắp ráp (CA). Hạt trưởng thành nội bào này được tập hợp trong các tế bào chất. Các hạt virus ngoại bào thu được một lớp vỏ ngoài (OE) vừa chớm nở qua màng tế bào plasma. OE chứa protein ASFV, CD2v/EP402Rp, p12/O61Rp và protein tế bào được thiết kế p24; CA chứa protein chính p72/B646Lp và E120Rp, B438Lp; IE chứa p17/D117Lp, p54/E183Lp, E248Rp và p12/O61Rp; CS chứa các sản phẩm phân cắt của polyprotein pp220/CP2485Lp (p150, p37, p34, p14) và pp62/CP530Rp (p35, p15) và S273Rp; NU chứa p10/K78Rp, 104Lp, protein và enzyme cần thiết để bắt đầu lây nhiễm bao gồm cả RNA polymerase của virus cũng như bộ gen của virus.

Đặc tính của các thụ thể tế bào trên các đại thực bào ở lợn là mối quan tâm để xác định virus và các phân tử vật chủ liên quan đến sự xâm nhập của virus như là mục tiêu để ức chế quá trình này. Những phân tử này cũng có thể bao gồm các protein vật chủ nội bào. Ví dụ, các protein tế bào liên quan đến việc giải phóng virus từ nội nhũ đến tế bào chất hoặc vận chuyển trong tế

bào chất có thể rất quan trọng. Tương tác CD2v/EP402Rp với bộ điều hợp tế bào AP-1 có thể liên quan đến sự di chuyển của hạt virus, và đó là hậu quả đối với độc lực và thoát khỏi miễn dịch.

Các kháng thể ức chế sự phát tán virus cũng sẽ hữu ích. Các nghiên cứu về cơ chế xâm nhập của virus cho thấy ASFV sử dụng macropinocytosis và các cơ chế khác, bao gồm cả endocytosis qua trung gian clathrin để xâm nhập vào đại thực bào của lợn.

Xác định tính hợp lý các yếu tố quyết định trong huyết thanh miễn dịch bảo hộ (bằng cách sàng lọc virus với kháng huyết thanh đa kháng từ lợn sống sót sau khi bị nhiễm virus độc lực) đã xác định được 14 loại thành tố trong huyết thanh miễn dịch, bao gồm cả protein virus B602Lp, C44 K145Rp, và K205Rp, cũng như các protein cấu trúc A104Rp, p10/K78Rp, p30/CP204Lp, p54/E183Lp, p72/B646Lp và các protein phi cấu trúc ribonucleotide reductase (F34, lp Thymidine kinase (K169Rp).

4. Phương pháp tiếp cận phát triển vaccin ASFV

4.1. Tiếp cận hướng tới các protein quan trọng thúc đẩy miễn dịch qua trung gian tế bào T

Có bằng chứng mạnh mẽ cho vai trò quan trọng đối với các tế bào T CD8 + chuyên biệt trong bảo hộ. Bằng cách tiêm chủng DNA cho lợn, sự bảo hộ chống lại ASFV đã được chứng minh trong trường hợp không có kháng thể đặc hiệu, tương quan với việc tạo ra các tế bào T CD8 + chuyên biệt chống lại CD2v (hemagglutinin). Tiêm vaccin DNA với nhiều plasmid đã xác định nhiều epitopes tế bào lympho T (cytotoxic T lymphocyte - CTL) có khả năng bảo hộ. Công việc tiếp theo là cần thiết để làm rõ đặc điểm của các epitopes kháng nguyên có liên quan và sự phức tạp phát sinh từ sự biến thái của các peptides MHC có mặt trong quần thể lợn ngoại.

Các yếu tố quyết định CTL đã được mô tả trước đây trong protein G1340Lp và trong protein cấu trúc ASFV p30/CP204Lp và p72/B646Lp, nhưng vai trò của chúng trong bảo hộ chưa được chứng minh. Xác định các epitopes

ASFV CTL có liên quan trong bảo hộ là một vấn đề phức tạp do tính không đồng nhất của quần thể tế bào T.

Ngoài các tế bào T CD8, các tập hợp con khác của các tế bào T có thể đóng một vai trò quan trọng trong việc bảo hộ. Hiểu sâu hơn về vai trò của các tế bào T cũng như NK và các tế bào khác từ hệ thống miễn dịch bẩm sinh sẽ tạo điều kiện cho việc xây dựng các công thức vaccin tiểu đơn vị tối ưu trong tương lai.

4.2. Phát triển vaccin ASF đã được nghiên cứu từ những năm 1960

Các phương pháp tiếp cận được sử dụng bao gồm vaccin virus bất hoạt, protein/peptide tái tổ hợp, vec-tơ virus và vaccin nhược độc sống. Cho đến nay, chưa có cách tiếp cận thử nghiệm nào được đưa ra để đánh giá tiềm năng của chúng đối với sản xuất thương mại.

4.2.1. Vaccin vô hoạt

Cho đến nay, các vaccin ASFV vẫn chưa bảo hộ được lợn ngay cả khi có chất bổ trợ. Một phát hiện không hoàn toàn đáng ngạc nhiên cho thấy khả năng miễn dịch tế bào là cần thiết để bảo hộ. Ngoài ra, khả năng tăng cường qua trung gian kháng thể đã được quan sát. Sự phức tạp của hạt virus chứa hơn 50 protein trong một số lớp và thực tế là có hai dạng lây nhiễm, dạng ngoại bào và nội bào trưởng thành, cũng có thể góp phần vào điều đó.

4.2.2. Vaccin tiểu đơn vị

ASFV mã hóa tới 167 protein, khiến cho việc lựa chọn các kháng nguyên ứng cử viên có thể tạo ra sự bảo hộ để kết hợp trong vaccin tiểu đơn vị rất khó khăn. Như đã mô tả ở trên, một số protein ASFV đã được báo cáo là mục tiêu để trung hòa virus và khả năng các protein này tạo ra sự bảo hộ đã được thử nghiệm.

Mặc dù protein p54 và p30 được biểu hiện trong baculovirus đã tạo ra sự bảo hộ đáng kể chống lại thử thách gây chết với E75, một sự kết hợp của protein p54 + p30 + p72 biểu hiện trong baculovirus đã không bảo hộ chống lại thử thách gây chết với chủng virus gây bệnh ở

Pennsylvania. Những kết quả trái ngược này có thể được giải thích một phần bởi chủng virus được sử dụng, mặc dù công việc gần đây hơn với vaccin DNA mã hóa p54 và p30 không tạo ra kháng thể trung hòa hoặc cho thấy bất kỳ sự bảo hộ nào chống lại nhiễm virus gây chết với E75. Tuy nhiên, những kết quả này rất khó để so sánh do bản chất rất khác nhau của protein so với các giao thức miễn dịch DNA. Trong một nghiên cứu khác, protein CD2v/EP402R, khi được biểu hiện trong hệ thống baculovirus, đã tạo ra một số mức độ bảo hộ chống lại thử thách với virus độc lực. Điều này tương quan với việc tạo ra các kháng thể ức chế sự xuất huyết (HAD) và nhiễm trùng tạm thời bị ức chế. Bằng chứng gần đây chỉ ra rằng protein CD2v/EP402R và/hoặc loại C/EP153R có thể quan trọng để bảo hộ chống nhiễm ASFV.

Tiêm vaccin DNA cũng đã được sử dụng để xác định các kháng nguyên có khả năng bảo hộ. Tiêm vaccin cho lợn bằng sự hợp nhất các gen p30/CP204L và p54/E183L, với gen đoạn đơn biến của một kháng thể đặc hiệu chống lại kháng nguyên bạch cầu lợn II, tạo ra các tế bào T đặc hiệu ASFV. Tuy nhiên, không có kháng thể trung hòa cũng như bảo hộ chống lại thử thách với virus độc lực đã được báo cáo. Sự kết hợp của đoạn gen mã hóa cho miền ngoại bào của HA (CD2v/EP402R) đã hợp nhất với gen Lp30/CP204L và p54/E183L đã tăng cường cả đáp ứng miễn dịch thể và miễn dịch tế bào ở lợn, mà không có sự bảo hộ. Tuy nhiên, sự hợp nhất của 3 gen ASFV này (CD2v/EP402R, p54/E183L và p30/CP204L) với gen ubiquitin, tạo ra phản ứng CTL mạnh mẽ và tạo ra sự bảo hộ trong trường hợp không có kháng thể cụ thể. Sự bảo hộ này tương quan với sự tăng sinh của các tế bào T CD8 + đặc hiệu HA (CD2v/EP402R). Miễn dịch với biểu hiện DNA có chứa một số ORF virus khác được hợp nhất với ubiquitin cũng tạo được bảo hộ một phần chống lại thử thách với virus độc lực. Một lần nữa, sự bảo hộ này tương quan với việc tạo ra các tế bào T đặc hiệu ASFV và sự vắng mặt của kháng thể được phát hiện, làm nổi bật vai trò của đáp ứng tế bào T trong bảo hộ và cho thấy sự tồn tại của nhiều kháng nguyên ASFV có khả năng

bảo hộ tiềm năng. Mặc dù các tiện ích mà các chiến lược này có thể có trong tương lai để phân tích cả cơ chế miễn dịch và kháng nguyên ASFV liên quan đến bảo hộ, nhưng ngày nay chúng còn xa mới đạt độ bảo hộ cần thiết trong lĩnh vực này.

4.2.3. Vaccin sống giảm độc lực (LAV - Live Attenuated Vaccines)

a. Các LAV thu được từ phân lập ASFV có độc lực thấp tự nhiên

Việc sử dụng LAV được tạo ra bởi sự làm yếu của các chủng độc lực tự nhiên đã bị giới hạn trong 1 thí nghiệm trên diện rộng ở Bồ Đào Nha và Tây Ban Nha trong những năm đầu thập niên 1960. Vào thời điểm đó, một số lượng lớn động vật đã được tiêm vaccin LAV trong diện rộng, trong đó động vật phơi nhiễm với nhiều bệnh truyền nhiễm và tái nhiễm với virus lưu hành bởi các con đường khác nhau và có thể bao gồm cả việc tiếp xúc với ve mềm. Tiêm vaccin trong những điều kiện này dẫn đến sự xuất hiện của các dạng ASF mạn tính. Từ thí nghiệm diện rộng tại Tây Ban Nha, một số động vật biểu hiện các dấu hiệu lâm sàng mạn tính. Những vaccin này không được sử dụng nữa chủ yếu do các vấn đề an toàn bắt nguồn từ bản chất truyền nhiễm vốn có của chúng.

Các chiến lược thử nghiệm khác có liên quan đến miễn dịch ở lợn bằng các chủng ASFV suy yếu tự nhiên OURT88/3 hoặc NH/P68. Lợn đã được tiêm phòng đã bảo hộ chống lại thử thách với các chủng độc lực liên quan và bảo hộ chéo đã được chứng minh chống lại các virus dị hợp. Mức độ bảo hộ thay đổi từ 66% đến 100% phụ thuộc vào lợn và virus thử thách, cũng như đường tiêm chủng và liều dùng.

Như được mô tả đối với vaccin tiểu đơn vị, cả kháng thể đặc hiệu và tế bào T CD8 + dường như đóng một vai trò quan trọng trong việc bảo hộ bởi các LAV. Sự bảo hộ chéo tạo ra bởi chủng phân lập OURT88/3 chống lại thử thách với các chủng phân lập độc lực từ các kiểu gen khác nhau có liên quan đến khả năng của các phân lập này để kích thích tế bào lympho sản xuất IFN từ lợn được tiêm chủng. Mặc dù có mối tương quan giữa việc tạo ra các đáp ứng tế bào T và bảo hộ,

đây không phải là một dự đoán đã được xác nhận và các cơ chế miễn dịch khác đang được điều tra để xác định những vai trò chính trong bảo hộ. Tuy nhiên, những nỗ lực sử dụng các chủng ASFV suy yếu tự nhiên cho sản xuất vacxin cho đến nay đã chứng minh một số ảnh hưởng phụ, ít nhất là ở một số liều nhất định, vì một tỷ lệ đáng kể lợn đã được tiêm phòng đã phát triển các phản ứng sau tiêm chủng không thể chấp nhận bao gồm viêm phổi, rối loạn vận động, hoại tử, sảy thai, và chết. Trong kịch bản tốt nhất, lợn không có dấu hiệu lâm sàng đáng kể ngoại trừ sốt thoáng qua và nhiễm virus thấp cùng với lượng virus thấp ở một số lợn đã được tiêm phòng.

b. Các LAV tái tổ hợp thu được từ các virus độc lực

Các ASFV tái tổ hợp có chứa các gen đặc biệt bị loại bỏ, chẳng hạn như gen thymidine kinase (TK), có thể tạo ra các virus không gây bệnh. Ngoài ra, sự loại bỏ của các gen liên quan đến việc trốn tránh đáp ứng miễn dịch, gen NL (tên thay thế DP71L) và nhiều thành viên của các họ đa gen 360 và 505 (MGF 360/505), hoặc các gen liên quan đến sự nhân lên của virus hoặc hình thái và gen 9GL (gen B119L), đã dẫn đến làm yếu độc lực của các chủng phân lập và tạo ra đáp ứng miễn dịch bảo hộ chống lại thử thách với virus có độc lực, nhưng với mức độ khác nhau. Tuy nhiên, ảnh hưởng của việc loại bỏ gen đối với sự làm yếu virus và đáp ứng miễn dịch bảo hộ có thể phụ thuộc vào chủng và trong một số trường hợp các virus bị loại bỏ gen biểu hiện một kiểu hình độc lực không thể phân biệt được với virus gốc. Ví dụ, việc loại bỏ gen NL (DP71L) từ các chủng độc lực làm yếu hoàn toàn chủng E70 châu Âu ở động vật nhưng không có tác dụng với hai chủng ASFV châu Phi. Ngoài ra, các chủng ASFV ở Malaysia và Georgia đều bị suy yếu do loại bỏ gen thymidine kinase (TK), nhưng chỉ có chủng virus Ma-rốc đã loại TK có khả năng tạo ra đáp ứng miễn dịch bảo hộ ở động vật bị nhiễm bệnh.

Các nghiên cứu gần đây đã chứng minh rằng đột biến đa gen trong ASFV có thể ảnh hưởng đến gen gây miễn dịch của virus. Việc loại bỏ nhiều thành phần trong 6 thành phần MGF360 và 505 kết hợp với gen 9GL đã tạo ra một chủng

nhược độc Georgia ASFV làm cho khả năng an toàn được cải thiện, nhưng không thể có được sự bảo hộ cho động vật khi bị thử thách với virus có độc lực cao. Ngược lại, virus độc lực Georgia được sửa đổi bằng cách loại bỏ các yếu tố độc lực 9GL và DP96R/UK cho thấy sự an toàn và bảo hộ được cải thiện so với việc chỉ loại bỏ 9GL. Những kết quả này đã chứng minh rõ ràng rằng việc loại bỏ hàng loạt yếu tố độc lực có thể tạo ra vacxin ASF tái tổ hợp sống an toàn hơn, do đó mở ra hy vọng cho công việc trong tương lai.

Gen BA71 thuộc genotype I phân lập được với gen CD2v/EP402R (HA) đã bị loại bỏ tạo ra sự bảo hộ ở lợn khi thử thách với đồng chủng độc lực cao ASFV BA71 và chống lại chủng dị chủng độc lực E75, genotype I và Georgia 07, genotype II. Cho đến nay, kết hợp một số đột biến khác nhau như đã được mô tả có thể tạo ra một prototyp vaccine với các ứng dụng tiềm năng.

c. Các LAV tái tổ hợp thu được từ các virus bị làm yếu

Một số biện pháp để cải thiện tính an toàn của các chủng nhược độc (OURT88/3 hoặc NH/P68) bằng cách loại bỏ một số gen đã cho những kết quả khác nhau. Việc loại bỏ các gen như DP71L và DP96R (liên quan đến độc lực và các biểu hiện lâm sàng), hoặc A276R (chất ức chế IFN), làm giảm khả năng của các virus bị suy yếu để bảo hộ chống lại thử thách. Ngược lại, một số đột biến này cho thấy mức độ bảo hộ tốt (60% - 100%) khi thử thách với chủng độc lực Armenia 2007. Tuy nhiên, cùng với các nghiên cứu trước đây, các chủng vaccine có kết quả nhiễm virus máu thấp và tác dụng phụ như viêm khớp và các ổ hoại tử ở hầu hết những con lợn đã được tiêm phòng, điều này sẽ ngăn cản việc sử dụng thương mại của chúng. Đáp ứng chống lại virus type I, IFN được đánh giá đối với sự giảm độc của virus và phòng vệ. Tuy nhiên, điều quan trọng là phải xem xét để đạt được sự cân bằng sao cho sự nhân lên của virus để tạo ra đáp ứng miễn dịch có hiệu quả nhưng tránh các dấu hiệu lâm sàng.

GS.TS. Đậu Ngọc Hà - Hội Thú y Việt Nam lược dịch.