

# TÍNH AN TOÀN VÀ ĐÁP ỨNG MIỄN DỊCH CỦA VẮC XIN *HAEMOPHILUS INFLUENZAE* TYPE B (HIB) CỘNG HỢP TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

VŨ VÂN QUỲNH, ĐỖ TUẤN ĐẠT, ĐỖ THỦY NGÂN,  
LÊ HOÀNG LONG, NGUYỄN THU VÂN,  
Công ty Vắc xin và Sinh phẩm số 1, Hà Nội

## TÓM TẮT

Hai dạng vắc xin Hib cộng hợp khác nhau do Công ty Vắc xin và sinh phẩm số 1 sản xuất, dạng đông khô (LYOHIBVAX) và dạng hấp phụ với nhôm phosphate (ALHIBVAX) đã được đánh giá về tính an toàn và đáp ứng miễn dịch trên động vật thực nghiệm. Kết quả cho thấy, cả hai dạng vắc xin này đều đạt được yêu cầu về tính an toàn và cho đáp ứng miễn dịch cao tương đương với sản phẩm vắc xin Hib cộng hợp đã được thương mại hóa đang lưu hành trên thị trường khi thử nghiệm trên động vật.

Từ khoá: Tính an toàn, đáp ứng miễn dịch, vắc xin Hib cộng hợp, động vật thực nghiệm

## SUMMARY

Two different formulations of Hib conjugate vaccine produced by Company for Vaccine and Biological Production No1 (VABIOTECH), lyophilized (LYOHIBVAXX) and aluminum phosphate absorbed (ALHIBVAX) formulation have been evaluated the safety and immunogenicity in animal testing. Obtained results shown that both formulations meet to safety requirements and induced immune respond as high as commercial Hib conjugate vaccine in the market while testing in animals.

Keywords: Hib, animal testing.

## ĐẶT VẤN ĐỀ

*Haemophilus influenzae* type b (Hib) là nguyên nhân gây nên ít nhất 3 triệu ca mắc và gần 400 nghìn ca chết mỗi năm. Các biểu hiện bệnh lý chủ yếu do nhiễm Hib là viêm phổi, viêm màng não và các bệnh lý xâm nhập khác xảy ra ở trẻ nhỏ dưới 5 tuổi. Vắc xin là phương cách duy nhất trong lĩnh vực sức khỏe cộng đồng có khả năng phòng chống được hầu hết các trường hợp bệnh lý Hib nguy hiểm [1]. Hiện nay, trên thế giới đã có nhiều loại vắc xin Hib cộng hợp được phát triển, sản xuất và lưu hành. Thành phần của các vắc xin này đều chứa polysaccharide vỏ (PRP) của Hib được liên kết đồng hóa trị với protein tải. Các loại vắc xin khác nhau sẽ khác nhau về độ dài của polysaccharide, bản chất của protein tải và phương pháp để liên kết hai thành phần này với nhau [1]. Công nghệ sản xuất vắc xin Hib cộng hợp đã được nghiên cứu và phát triển tại Công ty Vắc xin và sinh phẩm số 1 (VABIOTECH) và đã cho ra đời những sản phẩm đầu tiên được sản xuất ở quy mô phòng thí nghiệm. Những đánh giá về đặc tính an toàn và đáp ứng miễn dịch của vắc xin này cần được tiến hành để làm tiền đề cho vắc xin tuyển chọn có thể được đánh giá sâu hơn trên người.

## PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vắc xin Hib cộng hợp được sử dụng trong nghiên cứu là vắc xin được sản xuất ở quy mô phòng thí nghiệm tại Công ty Vắc xin và sinh phẩm số 1 dưới 2 dạng thành phẩm khác nhau là vắc xin đông khô (LYOHIBVAX) và vắc xin hấp phụ với nhôm phosphate (ALHIBVAX). Các vắc xin này được đánh giá so sánh về đáp ứng miễn dịch với các nhóm chứng tiêm nước muối sinh lý, tiêm đơn thuần polysaccharide của Hib (PRP) không cộng hợp và tiêm một vắc xin Hib cộng hợp đã được thương mại hóa (Act-Hib của Sanofi-Pasteur, Pháp).

### 1. Phương pháp đánh giá tính an toàn trên động vật thực nghiệm

Tính an toàn của vắc xin Hib cộng hợp trên động vật thực nghiệm được đánh giá bằng các phương pháp:

+ Phương pháp kiểm tra tính an toàn chung trên chuột lang và chuột nhắt trắng: chuột được tiêm vắc xin theo đường phúc mạc và theo dõi phần trăm tăng trọng trong vòng 7 ngày sau tiêm. Kết quả được đánh giá là đạt yêu cầu nếu chuột tăng cân và không có chuột nào bị chết trong thời gian theo dõi.

+ Phương pháp kiểm tra chỉ nhiệt tổ trên thỏ: thỏ được tiêm vắc xin theo đường tĩnh mạch và theo dõi nhiệt độ vào thời điểm 3 giờ sau tiêm. Kết quả được đánh giá là đạt yêu cầu nếu tổng nhiệt độ của 3 thỏ sau 3 giờ theo dõi  $<1,4^{\circ}\text{C}$  và nhiệt độ tăng của từng thỏ  $<0,6^{\circ}\text{C}$ .

### 2. Phương pháp đánh giá đáp ứng miễn dịch trên động vật thực nghiệm

Đáp ứng miễn dịch của vắc xin Hib trên động vật thực nghiệm được đánh giá bằng các phương pháp gây miễn dịch trên chuột nhắt trắng ICR sau đó lấy máu xét nghiệm kháng thể kháng polysaccharide của Hib (anti-PRP) bằng phương pháp ELISA. Ở các nhóm chuột tiêm vắc xin và polysaccharide (PRP), tiêm dưới da vùng bụng dưới 2,5  $\mu\text{g}$  PRP/0,125 ml/chuột theo lịch tiêm 3 mũi cách nhau 2 tuần. Ở nhóm chuột tiêm mẫu chứng âm, tiêm 0,125 ml nước muối sinh lý /chuột theo đường tiêm và lịch tiêm như trên. Lấy máu xét nghiệm vào thời điểm tuần thứ 2 (ngay trước mũi tiêm 2), tuần thứ 5 và tuần thứ 7 (1 tuần sau mũi tiêm 2 và 3). Hiệu giá kháng thể anti-PRP được quy đổi theo đơn vị ELISA (EL.U) xác định bằng tỷ số giữa giá trị OD của mẫu thử trên giá trị OD ngưỡng (giá trị OD ngưỡng bằng 5 lần giá trị OD trung bình của các mẫu chứng âm). Mẫu có kết quả về anti-PRP dương tính khi hiệu giá kháng thể anti-PRP có giá trị trên 1 EL.U và chuột cũng

được xem là có đáp ứng miễn dịch đối với Hib. Các nhóm chuột được so sánh về hiệu quả đáp ứng miễn dịch thông qua tỷ lệ có đáp ứng miễn dịch và mức độ đáp ứng miễn dịch.

## KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

### 1. Tính an toàn của vắc xin Hib cộng hợp trên động vật thực nghiệm

Bảng 1. Kết quả kiểm tra tính an toàn chung của vắc xin Hib cộng hợp

Kết quả theo dõi sau 7 ngày	Chuột nhắt trắng		Chuột lang	
	LYOHIBVAX	ALHIBVAX	LYOHIBVAX	ALHIBVAX
Số chuột chết	0/5	0/5	0/2	0/2
Trung bình tăng trọng	140,8%	135,2%	120,6%	114,5%
Kết luận	Đạt yêu cầu	Đạt yêu cầu	Đạt yêu cầu	Đạt yêu cầu

Bảng 2. Kết quả kiểm tra chỉ nhiệt độ của vắc xin Hib cộng hợp

Sản phẩm	Nhiệt độ tăng của từng thỏ			Tổng nhiệt độ tăng	Kết luận
	Thỏ 1	Thỏ 2	Thỏ 3		
Tiêu chuẩn	<0,6 <sup>o</sup> C			<1,4 <sup>o</sup> C	Đạt yêu cầu
LYOHIBVAX	0,3 <sup>o</sup> C	0,4 <sup>o</sup> C	0,1 <sup>o</sup> C	0,8 <sup>o</sup> C	Đạt yêu cầu
ALHIBVAX	0 <sup>o</sup> C	0,1 <sup>o</sup> C	0 <sup>o</sup> C	0,1 <sup>o</sup> C	Đạt yêu cầu

Theo kết quả trong Bảng 1 và Bảng 2, vắc xin Hib cộng hợp ở cả 2 dạng đông khô và hấp phụ với nhôm phosphate đều đạt yêu cầu về tính an toàn khi kiểm tra trên động vật thực nghiệm.

### 2. Đáp ứng miễn dịch của vắc xin Hib cộng hợp trên động vật thực nghiệm

Kết quả về đáp ứng miễn dịch trên chuột đối với các vắc xin Hib cộng hợp và polysaccharide được trình bày trong bảng 3.

Chỉ số	Tỷ lệ*	LYOHIBVAX	ALHIBVAX	Act-Hib	PRP
		Đáp ứng miễn dịch sau mũi 1	3/15 (20%)	12/15 (80%)	12/15 (80%)
	Mức độ#	0,62	1,50	0,92	0,28
Đáp ứng miễn dịch sau mũi 2	12/15 (80%)	15/15 (100%)	15/15 (100%)	15/15 (100%)	0/15 (-)
	Mức độ#	2,76	4,83	3,06	0,32
Đáp ứng miễn dịch sau mũi 3	15/15 (100%)	15/15 (100%)	15/15 (100%)	15/15 (100%)	-
	Mức độ#	4,95	7,86	3,14	-

\*Tỷ lệ có đáp ứng miễn dịch là tỷ lệ giữa số chuột có kết quả xét nghiệm anti-PRP dương tính trên tổng số chuột được gây miễn dịch

#Mức độ đáp ứng miễn dịch được xác định bằng giá trị trung bình nhân (GMT) của các hiệu giá kháng thể anti-PRP tính theo đơn vị quy đổi EL.U.

Kết quả trong Bảng 3 cho thấy chuột nhắt trắng ICR là mô hình thực nghiệm thích hợp cho vắc xin Hib cộng hợp. Giống với đáp ứng có được ở trẻ em, mô hình thực nghiệm trên chuột không cho đáp ứng miễn dịch đối với polysaccharide (PRP) không cộng hợp và cho đáp ứng trí nhớ đối với các liều nhắc lại của vắc xin Hib cộng hợp [2,4]. Các liều tiêm sau đều cho đáp ứng cao hơn so với các liều tiêm trước [3,5]. Với các kết quả này, các vắc xin Hib cộng hợp do Công ty vắc xin và sinh phẩm số 1 sản xuất cho đáp ứng miễn dịch qua các liều tiêm đều tương đương hoặc cao hơn so với vắc xin đã được thương mại (Act-Hib). Đặc biệt, vắc xin dạng nước hấp phụ với nhôm phosphate cho đáp ứng miễn dịch rất cao. Điều này cho phép nghĩ đến việc phát triển vắc xin Hib cộng hợp dạng nước để có thể dễ dàng pha cùng với các vắc xin khác như bạch hầu, uốn ván, ho gà, viêm gan B và bại liệt bất hoạt để tạo thành dạng vắc xin phối hợp tiêm phòng cho trẻ em trong tương lai.

## KẾT LUẬN

Tất cả các dạng vắc xin Hib cộng hợp cả đông khô (LYOHIBVAX) và hấp phụ với nhôm phosphate (ALHIBVAX) do Công ty Vắc xin và sinh phẩm số 1 sản xuất đều đạt yêu cầu về tính an toàn và cho đáp ứng miễn dịch tốt trên động vật thực nghiệm.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. WHO. WHO position paper on *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccines. *Wkly. Epidemiol. Rec.*, 2006, 81, 445-452.
2. Madore DV, Strong N, Eby R. Use of animal testing for evaluating glycoconjugate vaccine immunogenicity. *Dev. Biol. Stand.*, 1999, 101, 40-56.
3. Chu C, Schneerson R, Robbins JB, Rastogi SC. Further studies on the immunogenicity of *Haemophilus influenzae* type b and Pneumococcal type 6A polysaccharide-protein conjugates. *Infect. Immune.*, 1983, 40(1): 245-256.
4. Siber GR, Anderson R, Habafy M, Gupta R. Development of a guinea pig model to assess immunogenicity of *Haemophilus influenzae* type b capsular polysaccharide conjugate vaccines. *Vaccine*, 1995, 13(6), 525-531.
5. Schneerson R, Barrera O, Sutton A, Robbins J. Preparation, characterization and immunogenicity of *Haemophilus influenzae* type b polysaccharide-protein conjugate. *J. Exper. Med.*, 1980, 152, 361-376.



