**TÓM TẮT THÔNG TIN VỀ LUẬN ÁN**

Tên đề tài luận án: Tạo và đánh giá hoạt tính vắc xin bất hoạt phòng ngừa bệnh tay chân miệng do EV71 trên mô hình động vật.

Ngành: Vi sinh vật học

Mã số ngành: 62420107

Họ tên nghiên cứu sinh: Nguyễn Thị Yến Nhi

Khóa đào tạo: 2013

Người hướng dẫn khoa học: PGS. TS. Cao Thị Bảo Vân

Cơ sở đào tạo: Trường Đại học Khoa học Tự nhiên- ĐHQG.HCM

1. TÓM TẮT NỘI DUNG LUẬN ÁN:

Bệnh tay, chân, miệng (TCM) là một bệnh truyền nhiễm phổ biến ở trẻ em do một nhóm Enterovirus thuộc họ *Picornaviridae* gây ra trong đó Enterovirus 71 (EV71) là một tác nhân được quan tâm nhiều nhất do liên quan đến các bệnh cảnh nặng. Trong bối cảnh chưa có một phương thức điều trị hiệu quả với EV71 thì việc phát triển vắc xin phòng bệnh là nhu cầu cấp thiết. Hiện đã có một số vắc xin do Trung Quốc sản xuất đã được thương mại hoá nhưng hiệu quả bảo vệ của các vắc xin này đối với các chủng lưu hành tại Việt Nam hầu như chưa được ghi nhận. Trong khi đó, đặc điểm về dịch tễ học phân tử của virus EV71 tại Việt Nam có nhiều điểm khác biệt. Vì vậy, mục đích của luận án là nghiên cứu phát triển vắc xin phòng bệnh tay chân miệng do EV71 dựa trên chủng phân lập tại Việt Nam có khả năng trung hoá chéo với các chủng lưu hành tại Việt Nam thông qua quá trình chọn lọc chủng dựa trê phân tích xu hướng tiến hoá và dịch tễ học phân tử, thích ứng chủng trên hệ thống nuôi cấy, sản xuất kháng nguyên trên hệ thống nuôi cấy huyền phù Wave Bioreactor, tinh chế kháng nguyên bằng phương pháp sắc ký lọc gel, thử nghiệm tính sinh miễn dịch và hiệu quả bảo vệ trên mô hình chuột. Nghiên cứu đã chọn được chủng ứng cử cho vắc xin phòng bệnh TCM do EV71 là chủng có kiểu gen B5 và thích ứng chủng này trên dòng tế bào Vero tạo ra chủng sản xuất mang tên B5-203P-2013-P10.1 có hiệu giá trên 107 TCID50/ml và có tính ổn định di truyền do với chủng ban đầu sẵn sàng cho việc sản xuất vắc xin, đã xây dựng và chuẩn hoá quy trình sản xuất kháng nguyên vi rút EV71 trên hệ thống huyền phù wave bioreactor với hiệu giá kháng nguyên thu được >108 TCID50/ml; Xác định được liều tiêm là 1µg kháng nguyên kết hợp tá chất nhôm và lịch tiêm tối ưu giữa hai mũi tiêm là cách nhau 4 tuần thông qua kết quả đáp ứng miễn dịch; chứng minh được khả năng bảo vệ khả năng bảo vệ tốt trên mô hình miễn dịch thụ động ở chuột sơ sinh 1 ngày tuổi với khả năng bảo vệ đạt 100% khi gây đáp ứng miễn dịch cho chuột mẹ liều kháng nguyên 10µg kết hợp tá chất nhôm.

2. NHỮNG KẾT QUẢ MỚI CỦA LUẬN ÁN:

Nghiên cứu đã thành công trong việc chọn chủng ứng cử cho vắc xin phòng bệnh TCM do EV71 là chủng có kiểu gen B5, cũng như thích ứng thành công chủng này trên dòng tế bào Vero tạo ra chủng sản xuất có hiệu giá đạt trên 107 TCID50/ml, có khả năng bảo vệ chéo với các kiểu gen lưu hành tại Việt Nam như B5, C4, C5. Nghiên cứu cũng ứng dụng hệ thống huyền phù wave bioreactor cho việc nuôi cấy kháng nguyên EV71 đạt hiệu giá kháng nguyên thu được >108 TCID50/ml. Kháng nguyên được tinh chế qua hệ thống sắc ký lọc gel cho đáp ứng miễn dịch tối ưu ở hàm lượng 1µg và có khả năng bảo vệ 100% trên mô hình miễn dịch thụ động ở chuột sơ sinh 1 ngày tuổi khi gây đáp ứng miễn dịch cho chuột mẹ liều kháng nguyên 10µg.

3. CÁC ỨNG DỤNG/ KHẢ NĂNG ỨNG DỤNG TRONG THỰC TIỄN HAY NHỮNG VẤN ĐỀ CÒN BỎ NGỎ CẦN TIẾP TỤC NGHIÊN CỨU

Kết quả khả quan của nghiên cứu đã cho thấy khả năng ứng dụng mô hình này để phát triển vắc xin phòng bệnh TCM trong trường hợp cập nhật chủng mới lưu hành tại Việt Nam hoặc những chủng ngoài EV71 như Coxsackie A6, A10, A16 để tạo vắc xin đa giá giúp bảo vệ khỏi nhiều tác nhân TCM khác. Ngoài những kết quả đã đạt được, nghiên cứu vẫn còn những điểm hạn chế cần được bổ sung để hoàn thiện ở các nghiên cứu tiếp theo đó là hoàn thiện quy trình tinh chế và bổ sung các phương pháp đánh giá chất lượng kháng nguyên như độ tinh sạch và hàm lượng kháng nguyên đặc hiệu; đánh giá tính an toàn và thời gian tồn lưu kháng thể trên động vật thí nghiệm.

|  |  |
| --- | --- |
| **TẬP THỂ CÁN BỘ HƯỚNG DẪN** | **NGHIÊN CỨU SINH** |

**XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO**

**HIỆU TRƯỞNG**

**THESIS INFORMATION**

Thesis title: Development of Inactivated Hand Foot and Mouth Disease vaccine against Enterovirus 71, evaluation of the immunogenicity and the efficacy in animal model

Speciality: Microbiology

Code: 62420107

Name of PhD Student: Nguyen Thi Yen Nhi

Academic year: 2013

Supervisor: Asso. Prof. Dr. Cao Thi Bao Van

At: VNUHCM - University of Science

1. SUMMARY:

Hand, Foot, and Mouth Disease (HFMD) is a common infection that mostly affects young children. The causative agent are Enteroviruses of the family Picornaviridae but severe illness is often associated with Enterovirus 71 (EV71). In the context that there is no specific antiviral treatment for HFMD, the development of vaccine is one of the effective ways to control and prevent HFMD. At the present, there have been a numbers of EV71 vaccines manufactured in China that have been commercialized, but the efficacy of these vaccines against EV71 strains circulating in Vietnam is almost unknown. Meanwhile, the molecular epidemiology of EV71 virus is varied from country to country and the genotype of EV71 in Vietnam has many distinct charateristics. Therefore, the thesis was aimed to develop HFMD vaccine against EV71 based on the strain isolated from Vietnam that can elicit cross-genotype virus neutralizing antibody responses. The vaccine candidate was selected by the combination between evolutionary trend analysis of annual EV71 virus surveillance data of Pasteur Institute in HCMC from 2003 to 2013 and the sequences identity evaluating of the subgenogroups B5, C1, C4, C5 from GenBank database. The selected strain was followed by Vero cells adaptation through multiple passages, plaque isolation and then was determined genetic stability. The EV71 virus was produced from Vero cells grown in microcarrier suspension Wave Bioreactor system and the down-stream virus purification was carried out by size exclusion chromatography. The antigen production processes were investigated and optimized to establish the potential vaccine manufacturing process including the type of microcarrier used, rocking speed of the bioreactor, the multiplicity of infection, the virus harvest time, conditions for virus inactivation, gel type for the chromatography, the fractions that virus present and the antigen quality assessment. Finally, the antigen was formulated with aluminum adjuvant and evaluated the immunogenicity and efficacy in mice model. The study was obtained the following results: The EV71 clinical isolate B5-203P-2013-P10 that belong to B5 sub-genotype was selected as the candidate strain for HFMD vaccine since it exhibited cross-neutralization activities to the heterologous subtypes of EV71 such as B5, C1, C4, C5 in Vietnam, it’s VP1 sequence showed identiy with the original isolate and can growth to high titer in Vero cell. The procedure of the virus production in Wave bioreactor system using Cytodex 1 was optimized, and the virus titer reached over 108 TCID50/ml. The immunogenicity assessment including screening for the optimum immunogenic dose, determination of the interval between the primary and booster dose, studying the effect of the adjuvant have showed that the vaccine dose of 1 µg of antigen-formulated with aluminum adjuvant induced strong virus neutralizing antibody responses in mice, two injections at 4-week intervals obtained the optimum immune responses and aluminium using stimulated both humoral and cellular immunity. The challenge experiment showed that maternal antigen specific antibodies protected the neonatal mice against the lethal EV71 infection up to 100% in the mother mice group immunized with dose of 10µg antigen formulated with aluminum.

2. NOVELTY OF THESIS:

The study has selected candidate strain from clinical isolates in Vietnam for HFMD vaccine that exhibited cross-neutralization activities to the heterologous subtypes of EV71 such as B5, C1, C4, C5 in Vietnam, genetic stability in passages and yielded high titer (over 107 TCID50/ml) in Vero cell. The thesis has also applied the suspension Wave bioreactor system using Cytodex 1 in the procedure of EV71 virus cultivation for vaccine production with the virus titer over 108 TCID50/ml. The antigen purified by size exclusion chromatography technology has induced strong neutralizing antibody reponses in mice model at antigen dose of 1µg formulated with aluminum adjuvant. The purified antigen has also demonstrated protective effect on the neonatal mice against the lethal EV71 infection in challenge experiments.

3. APPLICATIONS/ APPLICABILITY/ PERSPECTINE

The positive results of the study have indicated applicability of the EV71 vaccine platform to develop HFMD vaccines for updating strains and multivalent vaccine with other HFMD agents such as Coxsackie A6, A10, A16 to broaden prevention spectrum. The development of multivalent vaccine will be implemented more simply via the combination of potent monovalent vaccines. Besides the positive results, the study has still had certain limitations that need to be supplemented in the later studies such as complete the purification process; implementation of antigen purity assessment methods and quantifying the specific antigen content; evaluating the vaccine safety and the retention time of antibodies in animals model.

|  |  |
| --- | --- |
| **SUPERVISOR** | **PhD STUDENT** |

**CONFIRMATION**

**UNIVERSITY OF SCIENCE**

**PRESIDENT**