

GIỐNG GỐC VÀ GIỐNG SẢN XUẤT TRONG VIỆC CHẾ TẠO VACXIN (Bài tổng hợp)

Thanh Hà

Lời nói đầu

Trong sản xuất vaccin, việc có giống gốc và giống sản xuất (tiếng Anh là master seed - MS và working seed - WS) trở thành một yêu cầu bắt buộc không những về mặt kỹ thuật mà còn về mặt pháp lý ở nhiều nước. Thậm chí sau khi được công nhận có MS và WS kèm theo với việc các hãng sản xuất thực thi ISO hay GMP thì việc kiểm nghiệm vaccin không còn nặng nề, tốn kém thậm chí không cần thiết nữa. Tại Việt Nam chúng ta, việc công nhận và áp dụng công nghệ MS và WS chưa được thực hiện, mặc dù trong nhiều công trình nghiên cứu vấn đề này đã được đặt ra nhưng thực tế thì ngay cả việc hiểu MS và WS cũng chưa thật cận kẽ. Bài viết này nhằm giới thiệu về hai khái niệm trên và cách thức để tạo ra MS và WS nhằm giúp độc giả hiểu rõ và Việt Nam có thể nhanh chóng thực thi công nghệ này trong quá trình hội nhập vào thị trường chung của thế giới.

Sự ra đời của MS và WS

Jenner là người đầu tiên dùng virut đậu bò để làm vaccin (bản thân chũ vaccin có nghĩa là: thuộc về con bò) phòng chống bệnh đậu mùa cho người. Ông dùng virut đậu bò, tiêm cho một con bê. Sau đó, giết bê lấy dung dịch trong các hạch của nó để trích cho người. Virut đậu bò được sử dụng trích liên tục cho bê để giữ giống và sản xuất vaccin. Nói cách khác cứ cấy truyền như thế nhiều lần trên bê để giữ giống (thời đó chưa có điều kiện lạnh để cất giữ giống). Cách làm như vậy tiếp tục được sử dụng về sau này không chỉ cho việc sản xuất vaccin đậu mùa mà cho hầu hết các loại vaccin khác. Tại Việt Nam trong các năm kháng chiến chống Pháp các cán bộ thú y tiền bối chúng ta cũng cấy truyền nhiều lần virut dịch tả trâu bò trên bê để giữ giống và cũng để sản xuất. Trong cuộc kháng chiến chống Mỹ, Chi cục thú y các tỉnh cũng phải tự sản xuất vaccin dịch tả lợn và vấn đề giữ giống cũng tiến hành bằng cách định kỳ cấy truyền trên thỏ một cách liên tục. Hệ lụy của cách làm trên là (Jenner đã gặp phải) vấn đề tạp khuẩn và chưa có cách kiểm tra (khi vi sinh vật học còn chưa phát triển) nên nhiều khi trong hạch bê không có hoặc có ít virut đậu bò. Do vậy, trong nhiều trường hợp vaccin của ông không có tác dụng hoặc tạp khuẩn ở bê gây bệnh cho người được trích ngừa. Mặt khác, trong thú y, vaccin dịch tả lợn nhiều khi không có hiệu lực do giống virut không đảm bảo. Cũng như vậy, các loại vaccin virut nhược độc khác liên tục có vấn đề và người ta phải đề ra cách kiểm nghiệm từng lô vaccin một cách tốn kém và vaccin được kiểm nghiệm cũng không đảm bảo hoàn toàn là có tác dụng. Trong khi cấy truyền nhiều lần như vậy, ngoài vấn đề tạp khuẩn còn có các khả năng xảy ra là (i) virut bị biến đổi tính di truyền trong quá trình sao chép nên có thể sinh ra một loại virut khác không còn có tính kháng nguyên ban đầu hoặc sinh ra tính gây bệnh mới. Điều này dẫn đến mất tác dụng của vaccin được sản xuất ra. (ii) Trong quá trình cấy truyền như vậy, khả năng nhân lên của virut có thể thay đổi, thông thường dẫn đến hiệu giá (năng suất thu hoạch) virut rất thấp. Điều này cũng dẫn đến giảm hiệu lực của vaccin. (iii) Cấy truyền nhiều lần dễ dẫn đến sự tạp nhiễm làm cho vaccin không còn an toàn nữa.

Chính vì lý do trên ngoài việc áp dụng GMP người ta đưa ra khái niệm MS và WS với mục đích hạn chế sự cấy truyền liên tục virut trong khi chế tạo vaccin nhằm làm cho virut thế hệ sau vẫn giữ được tính di truyền của thế hệ trước. Thật vậy, thông tin di truyền của sinh vật nói chung không thay đổi nếu không có sự sao chép acid nucleic. Chính quá trình nhân giống liên tục nhiều đời đã làm cho khả năng thay đổi gien xuất hiện cao hơn và không thể kiểm soát được.

Sự ra đời của khái niệm MS và WS còn bắt nguồn từ sự cạnh tranh lẫn nhau và sự bảo hộ bản quyền của các hãng sản xuất vacxin. Sự cạnh tranh làm cho mỗi hãng phải có riêng MS cho mình để đảm bảo rằng giống này (i) cho năng suất cao khi nhân virus trên các ký chủ và (ii) virus trong sản phẩm cuối cùng đưa ra thị trường khó có thể dùng để làm WS được nữa hoặc nếu có dùng thì cũng không có năng suất cao như MS. Mặt khác sau khi đăng ký MS thì bản quyền sử dụng giống này đã được pháp luật bảo hộ.

Như vậy sự ra đời của MS trong sản xuất vacxin là nhu cầu khách quan về lợi ích trùng lặp của người sản xuất, người quản lý và người sử dụng. Do vậy, khái niệm này càng ngày càng được sử dụng và chấp nhận một cách rộng rãi.

Bản chất của giống gốc

MS là một lượng vi rút cụ thể đủ lớn mà sự thuần khiết, an toàn và tính kháng nguyên của chính nó và của các thế hệ sau đã được thử nghiệm, chứng minh và được dùng làm giống để chế tạo vacxin. Vacxin được sản xuất từ giống này sau khi được nhân lên với số lần ít nhất để đảm bảo thế hệ virus trong vacxin giữ được đặc tính của giống gốc. Nói cách khác MS là virus mà thế hệ sau của chúng đã được khảo sát và biết trước là hội tụ đầy đủ tính chất của một virus vacxin.

Một cách hiểu khác về hệ thống giống MS là chất lượng vacxin đã được tiền kiểm (biết trước chất lượng vacxin sẽ được sản xuất ra do đã được thử nghiệm trước) thay cho việc hậu kiểm như trước đây (vacxin sản xuất ra mới được kiểm nghiệm) thông qua việc sử dụng giống đã được khảo sát và đăng ký trước khi sản xuất.

Hình thức của hệ thống MS và WS

Về mặt quản lý nhà nước, một cơ sở sản xuất vacxin đăng ký có (ví dụ) 300 ml MS của virus Dịch tả lợn đốm trong các lọ chứa 1 ml mỗi lọ. Mỗi lọ MS như vậy, thông thường chỉ được cấy truyền 2-3 lần nữa để tạo ra WS. Giả sử theo quy trình đăng ký tạo WS, cơ sở này mỗi lần cấy truyền thường thu hoạch 1 lít hỗn dịch virus (vì là nhân giống, người ta thường sản xuất một lượng nhỏ để có thể không chế các điều kiện nhân lên của virus). Vậy từ 1 ml sau 3 lần cấy truyền sẽ có (1 ml X 1 lít X 1 lít) một ngàn lít WS. Người ta dùng một ngàn lít này làm giống WS để cấy truyền một lần nữa trong khi sản xuất vacxin (thông thường đủ để sản xuất trong một năm). Các lọ giống khi đăng ký làm MS sẽ được cơ quan quản lý nhà nước kiểm tra chủ yếu về độ thuần khiết (chỉ có một loại vi sinh vật trong đó) và độ an toàn khi tiêm cho gia súc. Mỗi lọ MS được đánh số để biết từng lô vacxin được sản xuất ra từ lọ MS nào. Như vậy, từ MS người ta chỉ được cấy truyền 4 lần nữa và sản phẩm cuối cùng chỉ để làm vacxin chứ không phải để làm giống nữa. Sự khác biệt là: trước đây (như Jenner đã làm) sau khi nhân virus để làm vacxin người ta giữ lại một ít để làm giống. Với cách làm và hình thức MS như trên người ta loại được khả năng virus bị thay đổi cũng như khả năng tạp nhiễm do cấy truyền nhiều lần dẫn đến lô vacxin nào cũng phải kiểm nghiệm (cả giống lẫn vacxin) mà chưa chắc sự kiểm nghiệm phản ánh đúng thực chất của vacxin.

Đối với nhà sản xuất, hệ thống MS và WS này có lợi ích là đảm bảo sự đồng đều của các lô vacxin (về an toàn, hiệu lực và độ thuần khiết). Tuy nhiên, khác với quản lý nhà nước, cơ sở có MS này còn phải khảo sát và chọn lựa sao cho MS và WS có tính kháng nguyên (khả năng tạo miễn dịch) cao và khả năng nhân lên tốt (năng suất trong sản xuất vacxin). Do đã được không chế số lần cấy truyền cũng như thử nghiệm trước về giống nên việc kiểm nghiệm từng lô vacxin nhất là về hiệu lực (công cường độ) trở nên không nhất thiết phải thực hiện nữa.

Quản lý giống gốc trên thế giới

Các nước phương tây đi đầu trong việc đưa ra khái niệm giống gốc và quản lý giống gốc. Việc này bắt nguồn từ phương pháp quản lý trên căn bản của sở hữu tư nhân và kéo theo nó là việc đăng ký bản quyền. Nói cách khác, việc sản xuất vacxin là của các hãng tư nhân và chính họ đòi hỏi nhà nước sự bảo hộ bản quyền cho họ. Như vậy, các hãng tư nhân hoặc mua giống gốc từ các nhà khoa học hoặc tự mình tạo ra giống gốc và sau đó đăng kí với nhà nước về giống gốc của mình. Về phía nhà quản lý (nhà nước) chỉ quan tâm đến sự an toàn khi sử dụng virus làm vacxin để sử dụng rộng rãi. Do đó, ngoài việc xem xét và chứng nhận lượng giống MS kí, dấu hiệu, cách sử dụng (hồ sơ)... cơ quan quản lý nhà nước thường chỉ quan tâm đến sự an toàn, sự ổn định di truyền và sự thuần khiết của giống gốc mà thôi. Còn việc năng suất và tính kháng nguyên thường để cho các nhà sản xuất chịu trách nhiệm do có sự cạnh tranh về vacxin.

Tại Việt Nam, trước đây các xí nghiệp sản xuất vacxin thường phải lấy giống từ cơ quan trung ương (phòng giống và sau này là trung tâm giống và kiểm nghiệm vacxin). Nói cách khác, các Trung tâm giống và kiểm nghiệm vacxin trước đây chịu trách nhiệm giữ giống nhưng không theo cách giữ giống gốc như trình bày trên đây. Mặt khác, cách quản lý như vậy triệt tiêu sự cạnh tranh bằng kỹ thuật giữa các nhà sản xuất và gián tiếp triệt tiêu sự sáng tạo trong khoa học. Chúng ta đã thay đổi cách quản lý nhưng vẫn chưa hoàn thiện cách quản lý giống gốc theo phương pháp hiện đại. Trong khi đó một số nước (như Trung Quốc) hiện vẫn đang quản lý theo cách cũ mà chưa cho phép các hãng sản xuất vacxin chế tạo và giữ giống gốc.

Chế tạo giống gốc

Việc chế tạo giống gốc tùy thuộc vào từng loại virus, vào cách quản lý của mỗi quốc gia, phương pháp chế tạo vacxin và vào sự sáng tạo của các nhà khoa học. Về lý thuyết, bất kỳ virus nào cũng có thể dùng để chế tạo giống gốc. Tuy nhiên, virus đó phải đạt yêu cầu về mặt quản lý nhà nước. Đó là;

- Thuần khiết (không chứa loại vi sinh vật nào khác ngoài virus đề cập),
- An toàn khi gây nhiễm cho động vật nói chung.
- Ổn định di truyền (không thay đổi tính di truyền sau 5-6 lần cấy chuyển)

Mặt khác đối với nhà chế tạo vacxin, virus này phải đảm bảo có:

- Tính kháng nguyên cao, sinh miễn dịch tốt trên ký chủ,
- Có tính tương đồng với kháng nguyên với virus gây bệnh đang lưu hành
- Có năng suất cao khi chế tạo.

Vấn đề thường gây tranh cãi (và cũng là chỗ lách cho các hãng vacxin) đó là (i) sự tương đồng kháng nguyên giữa virus vacxin và virus gây bệnh và (ii) khả năng gây miễn dịch. Một số nước đưa các tiêu chí này vào mục quản lý và kiểm tra nhà nước trong khi các nước khác lại không như vậy. Điều đó có nghĩa là người tiêu dùng cần phải biết về vấn đề này, tránh mua và sử dụng vacxin không có tính tương đồng kháng nguyên với virus hiện đang gây bệnh hoặc không gây được miễn dịch cần thiết.

Về kỹ thuật cách tạo giống MS và WS như sau:

Xuất phát từ một chủng virus, người ta nuôi cấy để có một lượng lớn (2-3 lít) hỗn dịch virus bằng cách nhân giống với độ pha loãng cao nhất (hàm ý rằng hỗn dịch này xuất phát từ một hạt virus). Hỗn dịch này tạm coi là giống ban đầu. Từ hỗn dịch này, người ta cấy truyền 5 lần. Sản phẩm của mỗi lần cấy truyền như vậy đều được kiểm tra (i) tính độc của virus, (ii) tính kháng nguyên của virus- khả năng sinh miễn dịch, (iii) đặc tính di truyền của virus, (iv) năng suất của mỗi lần cấy truyền, (v) độ thuần khiết và (vi) chế thử nghiệm vacxin và kiểm nghiệm vacxin chế thử. Khi kết quả kiểm tra cho thấy đạt yêu cầu thì hỗn dịch giống ban đầu được coi là giống

gốc – MS. Các kết quả trên đây được tập hợp lại làm tài liệu để đăng ký giống gốc. Sau khi đăng ký giống gốc thì mới được sản xuất vaccin.

Theo như ví dụ trên đây thì lần cấy thứ 5 được coi là cấy virus để sản xuất vaccin. Như vậy, lần cấy truyền thứ 4 được coi là chế tạo giống sản xuất (WS) để chế tạo vaccin. Với cách làm như vậy, với 1 lít giống gốc người ta có thể lưu giữ rất lâu và sản xuất được một lượng vaccin không hề là không sợ virus bị biến đổi di truyền, thay đổi tính kháng nguyên hay trở lại thành virus độc.

Như vậy, rõ ràng với cách sản xuất áp dụng công nghệ MS đảm bảo vaccin được sản xuất ra có chất lượng đồng đều giữa các lô và người chế tạo cũng như người sử dụng có thể yên tâm về sản phẩm. Mặt khác, cách làm như vậy có thể làm giảm việc kiểm nghiệm vaccin do sản xuất vaccin với chế độ giống gốc chỉ còn là quá trình lặp lại những gì đã biết trước và kiểm nghiệm trước về chất lượng sản phẩm. /.